



Universidad Nacional del Comahue
Centro Regional Universitario Bariloche

**PROCESOS DE ADSORCIÓN – DESORCIÓN ASOCIADOS A METALES
PESADOS EN UN SISTEMA MACROMAREAL PATAGÓNICO**



Trabajo de Tesis para optar al Título de Doctor en Biología

Autor: Lic. Carmen Haydee Marinho

Directora: Dra. Mónica Noemí Gil

Codirectores: Dr. José Luis Esteves - Dra. Maite Andrea Narvarte

2017

*Dedicado a mi madre
por ser la madre más valiente y decidida del mundo,
luchadora e invencible ante la vida.
Gracias por hacerme crecer, por defenderme,
por darme tu apoyo y tu amor infinito*

Agradecimientos

A mi familia y amigos por brindarme su apoyo y cariño y formar parte de mi vida.

A mi directora Mónica Gil, quien me ha acompañado desde el principio y siempre me alienta a superarme.

A mis co-directores Maite Narvarte y José Luis Esteves por confiar en mí para la realización del doctorado.

A Erica Giarratano, la cual forma parte de este equipo, aunque no figure en papeles. Por acompañarme y enseñarme en todo este camino.

A Claudia Dominici y Mariano Garrido, del Instituto de Química del Sur, INQUISUR (UNS-CONICET), por su colaboración en los análisis estadísticos.

Al CONICET por la beca Doctoral que me permitió realizar este trabajo.

Al CENPAT por brindar el espacio y el equipamiento y a todo su personal que hace posible que desarrollemos nuestros proyectos.

En especial al Laboratorio de Oceanografía Química y Contaminación de Aguas (LOQYCA) y al Laboratorio de Química General y Análisis de Elementos (LAQUIAE), donde realicé los análisis de laboratorio. A todos y cada uno sus integrantes.

De todos se aprende algo y enriquece nuestro camino...

ÍNDICE

Lista de Figuras.....	ii
Lista de Tablas.....	iv
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	viii
CAPÍTULO I: Introducción general	
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. OBJETIVOS.....	15
3. METODOLOGÍA.....	16
CAPÍTULO II: Evaluación de los niveles y distribución espacial de las concentraciones de metales traza y/o pesados en sedimentos de la Bahía San Antonio.	
1. INTRODUCCIÓN.....	26
2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
3. CONCLUSIONES.....	39
CAPÍTULO III: Evaluación de la movilidad potencial de Cd, Pb, Cu, Zn y Fe a través del análisis de su partición geoquímica en sedimentos de marisma.	
1. INTRODUCCIÓN.....	42
2. RESULTADOS.....	44
3. DISCUSIÓN.....	57
4. CONCLUSIONES.....	61
CAPÍTULO IV: Influencia de la vegetación de marisma en la captación de metales. Análisis de su posible rol como filtro o redistribuidor de metales.	
1. INTRODUCCIÓN.....	63
2. RESULTADOS.....	66
3. DISCUSIÓN.....	71
4. CONCLUSIONES.....	77
CAPÍTULO V: Evaluación de la bioacumulación de los metales sobre especies detritívoras y carroñeras asociadas a los sedimentos.	
1. INTRODUCCIÓN.....	79
2. RESULTADOS.....	83
3. DISCUSIÓN.....	89
4. CONCLUSIONES.....	94
CONCLUSIONES GENERALES.....	97
ANEXO A.....	100
ANEXO B.....	103
ANEXO C.....	111
ANEXO D.....	114
BIBLIOGRAFÍA.....	115
ARTÍCULO DE RESPALDO.....	129

Lista de figuras

Figura 1.1: Clasificación de metales según su reactividad (modificado de Nieboer y Richardson, 1980). ...3	
Figura 1.2: Bahía San Antonio, se detalla el Área Natural Protegida Bahía San Antonio (Ley Provincial N° 2.670). 1. Canal Principal, 2. Canal Encerrado, 3. Canal del Indio y 4. Canal Escondido. 10	
Figura 1.3: Detalle de la ubicación de los depósitos de escoria de fundición en San Antonio Oeste (Áreas remarcadas en rojo). 12	
Figura 1.4: Sitios de muestreo: 0. Pila, 1. Fondo del canal, 2. canal Medio, 3. canal Pesquera, 4. Puerto SAO, 5. Punta Verde, 6. canal del Indio, 7. Puerto SAE y 8. Punta Perdices. 16	
Figura 1.5: A. <i>Spartina densiflora</i> , B. <i>Spartina alterniflora</i> , C. Tejido aéreo (hojas + tallos verdes) y tejido subterráneo (raíces + rizomas)..... 21	
Figura 1.6: A. <i>Neohelice granulata</i> y B. <i>Buccinanops deformis</i> 23	
Figura 2.1: Concentración pseudototal de metales en sedimentos de la BSA. Valores ISQGs en línea punteada (PM N=1 y MA N=3). Cd <LD en todos los sitios. 33	
Figura 2.2: A. Factor de enriquecimiento (EF), B. Factor de contaminación (CF) y C. Índice de geoacumulación (Igeo) en sedimentos de la BSA. 34	
Figura 2.3: Concentración biodisponible de metales en sedimentos de la BSA, en la fracción <2mm (negro) y <63 µm (gris). Valores ISQGs en línea punteada (PM N=1 y MA N=3). Cd <LD en todos los sitios. 35	
Figura 2.4: A. Análisis de componentes principales: PC1 asociado a la concentración de metales (contaminación por metales) y PC2 asociado al contenido de MO, LA y Fe. B. Análisis de conglomerados, usando encadenamiento completo y la distancia euclídea..... 37	
Figura 2.5: Concentración biodisponible de metales en sedimentos de la BSA (<63 µm). Valores máximos corresponden a suelos de la Pila. Fe no fue medido por estos autores. Línea punteada corresponde al LD del Cd. 39	
Figura 3.1: Porcentajes promedios de fracciones granulométricas en sedimentos de la BSA (N=12)..... 44	
Figura 3.2: Variación estacional de la MO (%), el pH y el Eh (mV) en sedimentos (media±DE, N=3). Barras llenas: RIZO, barras rayadas: SED. Letras diferentes indican diferencias significativas entre estaciones para cada parche (KW p<0,05). *indica diferencias significativas entre parches (MW p<0,05).46	
Figura 3.3: Variación estacional de las concentraciones pseudototales de metales en sedimentos (media±DE, N=3). Barras llenas: RIZO, barras rayadas: SED. Letras diferentes indican diferencias significativas entre estaciones para cada parche (KW p<0,05). *indica diferencias significativas entre parches para cada sitio (MW p<0,05). 49	
Figura 3.4: Porcentajes promedio de metales en las fracciones geoquímicas para cada metal (N=12), sin considerar los valores <LD. 51	
Figura 3.5: ACP y AC para las concentraciones de metales en sedimentos A. fracción intercambiable, B. fracción reducible, C. fracción oxidable y D. fracción residual..... 53	
Figura 3.6: ACP para las concentraciones de metales en sedimentos de la fracción NO residual y AC por parche. 54	

Figura 3.7: Cargas para cada modo: A. Muestras, B. Metales y C. Fracciones. El factor C3 del modo C no se muestra dado que en las interacciones seleccionadas no interviene. El modo D (estaciones) no se muestra, dado que solo presentó un factor.	56
Figura 4.1: A. Biomasa promedio de tejido aéreo (TA) y tejido subterráneo (TS) de <i>S. densiflora</i> y <i>S. alterniflora</i> para cada estación (media±DE, N=6). B. Biomasa promedio para cada especie y C. Contenido de cenizas promedio (media±DE, N=24) * indica diferencias significativas (T-test, p<0,05)..	67
Figura 4.2: Concentraciones promedio de metales en tejido de <i>S. densiflora</i> y <i>S. alterniflora</i> (mg/kg, excepto en Fe mg/g, N=6). * <LD.....	68
Figura 4.3: Concentraciones de metales en tejido de <i>Spartina</i> (media±DE, en mg/kg excepto Fe en mg/g, N=24). *indica diferencias significativas entre tejidos para un mismo sitio (MW p<0,05). Las letras indican diferencias significativas entre sitios, sin considerar las especies (KW p<0,05).....	69
Figura 4.4: A. Factor de bioacumulación (FBA) y B. Factor de translocación (FT) para <i>Spartina</i> por sitio (N=24).	73
Figura 5.1: Concentraciones de metales en tejido blando de <i>N. granulata</i> (media±DE en mg/kg, N=6-8). Letras diferentes indican diferencias significativas (KW p<0,05), minúsculas entre estaciones y mayúsculas entre sitios.	85
Figura 5.2: Concentraciones de metales en tejido blando de <i>B. deformis</i> (media±DE, en mg/kg, N=6). Barras sin relleno indican valores <LD. Letras diferentes indican diferencias significativas entre estaciones (KW p<0,05) y entre sitios (MW p<0,05).	88
Figura A.1: Espectrofotómetro de absorción atómica IL457	100
Figura A.2: Espectrofotómetro de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES), Modelo Agilent 720.	101
Figura B.1: Gráfico de la <i>deviance</i> versus grados de libertad para cada modelo Tucker4.	108
Figura B.2: Cargas de factores A, B, C y D.	110
Figura C.1: Concentraciones de nutrientes y fitopigmentos en agua de mar de la BSA.	111
Figura C.2: Concentraciones de metales en agua de mar, línea continua concentraciones totales y línea punteada concentraciones lábiles, expresadas en µg/L.	113

Lista de Tablas

Tabla 1.1: Extracción secuencial método BCR.	20
Tabla 2.1: Concentraciones de metales en la Pila y niveles guía de calidad de suelos en Argentina y otros países (mg/kg).	30
Tabla 2.2: Índices de riesgo Hazard Quotient (HQ) y Hazard Index (HI) determinados para la Pila.	31
Tabla 2.3: Características generales de los sedimentos de la BSA (media±DE, N=3 [#]).	32
Tabla 2.4: Coeficientes de correlación de Spearman entre MO, LA y las concentraciones de metales en sedimentos (*indica p<0,05).	33
Tabla 2.5: Concentraciones de metales en sedimentos en la costa Patagónica.	38
Tabla 3.1: Porcentajes de MO [#] , Eh y pH en sedimentos (media±DE, N=12). *indica diferencia significativa entre parches para un mismo sitio (MW p<0,05.)	47
Tabla 3.2: Concentraciones pseudototales de metales en sedimentos [#] (media±DE en mg/kg, N=12). *indica diferencia significativa entre parches para un mismo sitio (MW p<0,05).	48
Tabla 3.3: Elemento del hipercubo G.	55
Tabla 4.1: Coeficientes de correlación de Spearman para el contenido de metales en tejidos de <i>Spartina</i> y las concentraciones de las fracciones geoquímicas y pseudototal en rizosedimento (* p<0,05).	71
Tabla 4.2: Concentraciones de metales en tejido de diferentes especies de <i>Spartina</i> (mg/kg)	75
Tabla 5.1: Medidas morfológicas, pesos, porcentajes de humedad y cenizas de <i>N. granulata</i> (media±DE, N=270-300).	84
Tabla 5.2: FBA para <i>N. granulata</i> (media±DE, N=4).	86
Tabla 5.3: Medidas morfológicas, pesos, porcentajes de humedad y cenizas de <i>B. deformis</i> (media±DE, N=270-300).	87
Tabla 5.4: FBA y FBC para <i>B. deformis</i> (media±DE, N=4)	89
Tabla 5.5: Concentraciones de metales en especies de cangrejos en diferentes regiones del mundo (mg/kg).	91
Tabla 5.6: Concentraciones de metales en tejido blando de gasterópodos en diferentes regiones del mundo (mg/kg).	94
Tabla A.1: Condiciones del equipo de EAA IL 457 y límites de detección del instrumento (LDI) para cada elemento.	100
Tabla A.2: Concentraciones de los estándares para las curvas de calibración (expresadas en mg/L).	100
Tabla A.3: Condiciones de operación de ICP-OES.	101
Tabla A.4: Longitudes de onda y límites de detección del instrumento (LDI) para cada elemento.	101
Tabla A.5: Concentraciones de los estándares para las curvas de calibración (expresadas en mg/L).	102
Tabla A.6: Concentraciones de metales y porcentajes de recuperación en material de referencia para sedimento PACS-2 (media±DE, mg/kg, N=5).	102
Tabla A.7: Concentraciones de metales y porcentajes de recuperación en material de referencia: tejido vegetal (BCR-060) y tejido de ostras (SRM-1566b) (media±DE, mg/kg, N=5).	102
Tabla A.8: Concentraciones de metales y porcentajes de recuperación en material de referencia para sedimento PACS-2 por el método BCR (media±DE, mg/kg, N=5).	102

Tabla B.1: Concentraciones de Cd en cada fracción geoquímica del método BCR (N=12, mg/kg).....	103
Tabla B.2: Concentraciones de Pb en cada fracción geoquímica del método BCR (N=12, mg/kg).	103
Tabla B.3: Concentraciones de Cu en cada fracción geoquímica del método BCR (N=12, mg/kg).....	104
Tabla B.4: Concentraciones de Zn en cada fracción geoquímica del método BCR (N=12, mg/kg).....	104
Tabla B.5: Concentraciones de Fe en cada fracción geoquímica del método BCR (N=12, mg/kg).....	105
Tabla B.6: Modelos seleccionados y st-criterio.....	108
Tabla B.7: Elementos del hipercubo G	109
Tabla C.1: Parámetros medidos en agua de mar de la BSA (media±DE, N=8).....	112
Tabla C.2: Concentraciones de metales en agua de mar de la BSA (media±DE, µg/L, N=8).....	112
Tabla C.3: Concentraciones pseudototales de metales en sedimentos de planicie de marea (fracción <63 µm) (media±DE, N=3).....	112

RESUMEN

La Bahía de San Antonio (Provincia de Río Negro) se caracteriza por una amplia planicie de marea, una extensa marisma y el desarrollo de cangrejales en ambos ambientes. Recibe desde hace décadas el aporte de metales derivados de antiguos depósitos mineros (Pila). Diversos estudios registraron la presencia de sedimentos contaminados principalmente con Pb además de Zn, Cu y Cd y elevadas concentraciones en organismos.

En la presente tesis doctoral se evaluó la distribución y biodisponibilidad de metales desde las diferentes fases geoquímicas de los sedimentos de la Bahía. Se estimó el grado de contaminación actual y su evolución de acuerdo a estudios previos; el riesgo asociado a los suelos de la Pila y a los sedimentos de la Bahía en relación al hombre y a la biota respectivamente; la influencia de vegetación de marisma y la acumulación por parte de la fauna que vive relacionada a los sedimentos.

Los resultados obtenidos mostraron la presencia de altas concentraciones de metales ($Fe > Pb > Zn > Cu > Cd$) en los suelos de la Pila. Todos los elementos presentaron riesgo individual (HQ) para la salud de niños y adultos, con excepción del Cd en estos últimos. El riesgo integrado al considerar todos los elementos (HI) resultó moderado en la situación más favorable (adultos/recreacional) y muy elevado en las restantes (niños/residencial, niños/recreacional y adultos/residencial).

La aplicación de distintos índices de contaminación (EF, CF e Igeo) demostró que los sedimentos enriquecidos por estos metales se restringen al canal Encerrado. Únicamente el sitio más interno a este Canal presentó niveles de algunos metales (Pb, Cu y Zn) superiores a los recomendados para la protección de la vida acuática.

El análisis de la distribución de metales entre las distintas fases geoquímicas, demostró que la mayor parte del componente no residual se encuentra asociado a los oxi-hidróxidos de Fe y Mn. Esta fracción corresponde a formas reducibles que, si bien su biodisponibilidad no es directa, podrían ser liberadas frente a cambios en las condiciones ambientales, como Eh, pH y/o salinidad. El elemento con mayor predominio en esta fracción fue el Pb. Los restantes se encontraron asociados principalmente a la fracción residual, siguiendo en orden la fracción reducible.

En términos generales, la fitoestabilización en los sedimentos fue significativa sólo en el sitio más interno del Canal así como en el sitio control. En dichos casos, el

rizosedimento presentó mayores niveles de metales respecto del sedimento adyacente, marcando una influencia positiva en su capacidad de retención.

Los niveles de metales alcanzados en las plantas de marisma, *Spartina densiflora* y *Spartina alterniflora*, fueron similares a las reportadas para sitios con baja o nula contaminación. La elevada salinidad característica del agua de esta Bahía podría ser un factor determinante, que favorece la baja incorporación de metales traza. Las concentraciones en las plantas internas al Canal fueron más altas que en las externas, especialmente en tejidos subterráneos. En todos los sitios, las concentraciones en estos tejidos fueron más elevadas que en la parte aérea, evidenciando una reducida translocación para los elementos estudiados.

La influencia de las plantas de marisma en el reciclado y la retención de metales antropogénicos dentro de la Bahía sería de escasa influencia dada la morfología de la marisma. En el área más impactada (canal Encerrado) se presentan parches de marisma media-alta, cuya capacidad de retención de metales es reducida, en comparación con la marisma baja. Esta última, es de mayor cobertura en la Bahía, pero se desarrolla fuera del Canal, donde la influencia de la contaminación por la Pila, ya no es apreciable.

La incorporación de metales por organismos biomonitores como el cangrejo *Neohelice granulata* y el caracol *Buccinanops deformis* estuvo determinada por su modo de alimentación. Los niveles de Cu fueron similares en ambas especies, los de Fe y Pb fueron mayores en *N. granulata* y los de Zn y Cd en *B. deformis*. El cangrejo es detritívoro favoreciendo el ingreso de partículas de sedimento y con ellas un mayor ingreso de Pb y Fe. Por otro lado, Cd y Zn pueden ser incorporados por el caracol no sólo a través del alimento sino también desde el agua como consecuencia del mayor tiempo de contacto de esta especie con la fase acuosa y de la mayor movilidad que presentan estos elementos. Los mayores niveles de acumulación se observaron en organismos de sitios dentro del canal Encerrado. Si bien dichas especies no son consumidas por el hombre, son importantes en la dieta de numerosas especies de aves que se alimentan en esta zona y pueden ser importantes en la transferencia de metales en la cadena trófica, principalmente para elementos como Cd y Pb.

Finalmente, estos resultados ponen de manifiesto la importancia de llevar a cabo el plan de remediación sobre los residuos mineros. En particular, se resalta la necesidad de evitar la dispersión del material durante su manipulación, a los efectos de no incrementar el riesgo en el ecosistema.

ABSTRACT

San Antonio Bay (Río Negro Province) is an area with extensive mudflats and saltmarshes where the crab *Neohelice granulata* lives in burrows named “cangrejales”. This bay has received the burden of metals from mining wastes (Pile) for decades. Several research showed contaminated sediments with Pb, Zn, Cu y Cd and elevated concentrations in the organisms from the bay.

In this work, it was evaluated the distribution and bioavailability of metals from different geochemical fractions in the sediments of the bay. We estimated the current pollution and its evolution in comparison with previous studies; the risk associated with the soils from the Pile and with sediments from the bay in relation to humans and biota; the influence of saltmarsh plants and the accumulation on invertebrates associated with sediments.

The results showed high metal concentrations in the soil from the Pile ($Fe > Pb > Zn > Cu > Cd$). All the elements presented individual health risk (HQ) for children and adults, with exception of Cd in these last. When considering the integrated risk (HI), it resulted moderate in the most favorable situation (adults/recreational) and very high in the rest (children/residential, children/recreational, adults/residential).

The application of several pollution indices (EF, CF e Igeo) showed that the sediments enriched by metals were limited to the Encerrado channel; the levels of several metals (Pb, Cu y Zn) exceeded the guidelines for the protection of aquatic life (ISQGs) only inside the Channel.

The analysis of metal distributions among the geochemical fractions showed that most of the “non-residual” component was associated with Fe and Mn oxides. This fraction corresponds to reducible forms that, although their bioavailability is not direct, could be released due to changes in environmental conditions, such as Eh, pH and / or salinity. Pb was predominant in this fraction. The other elements were associated with residual fractions, following in order the reducible fraction.

Only at the innermost site of the Channel and at the control site, the patch with vegetation presented higher levels of pseudototal metals, showing a positive influence on the retention by the sediment. Levels in *Spartina densiflora* and *Spartina alterniflora* tissues were comparable with those informed from non-impacted or low-polluted sites. The high salinity of the water could be a determinant factor which contributes to the low uptake of trace metals. Concentrations in plants from inside the Channel were higher

than those in plants from the outside, mainly in belowground tissues. In all the sites belowground tissues concentrations were higher than aboveground, highlighting a low translocation.

The influence of the salt marsh plants in the recycling and retention of anthropogenic metals in the bay could not be important. In the most impacted area (Encerrado channel), there are patches of medium-high marshes whose retention capacity of metals is reduced in comparison with that of the low marshes. The latter is of greater coverage in the bay but develops outside the canal, where the influence of pollution by the Pile is negligible.

The metals uptake by biomonitor organisms as the crab *Neohelice granulata* and the snail *Buccinanops deformis* were determined from the feeding mode. Both species presented comparable Cu levels while Pb and Fe levels were highest in the crabs and Cd and Zn in the snail. The crab is detritivore/herbivore, facilitating the intake of the sediment particles and a major Pb and Fe uptake. On the other hand, Cd and Zn can be incorporated from the water and feed by the snail as a result of its major contact time with the water and the solubility/mobility that this element presents.

For both species, organisms living in the inner Encerrado channel presented higher metal levels. Although any of these species is consumed by humans, they are prey for many birds and fish in the bay so they could be important in the transfer of metals into the food web, mainly for Cd and Pb.

Finally, these results show the importance of carrying out the mining wastes remediation plan. Particularly, they highlight the need to avoid the dispersal of material particles during the removal in order to not increase the risk in the ecosystem.

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN GENERAL

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Metales en el ambiente

Los metales tienen particular interés dada su significancia geoquímica, nutricional y/o toxicológica. Si bien los metales existen en la naturaleza, su extracción y removilización, mediadas por el hombre, generan un marcado aumento en el ambiente, que puede alterar el equilibrio ecológico y biogeoquímico del ecosistema (Sadiq 1992). Los metales son considerados contaminantes conservativos (Clark 1992), no son degradables ni biológica ni químicamente en la naturaleza. Por tal motivo una vez liberados al ambiente, sólo pueden distribuirse entre las diferentes matrices: aire, agua y suelo. Pueden cambiar su estado de oxidación por procesos redox y alterar su toxicidad (ej. Hg^0 vs HgS , Cr III vs Cr VI).

La liberación de metales en el ambiente puede ser el resultado de las actividades antropogénica, así como de procesos geológicos naturales. Por ello resulta importante conocer la línea de base de su concentración en un ecosistema dado, ya que puede ser naturalmente elevada en algunas zonas particulares. Las concentraciones basales de los elementos son importantes para la evaluación del riesgo y además se debe tener en cuenta que los organismos pueden adaptarse a concentraciones elevadas en el ambiente (Chapman et al. 1998).

La definición de *metales pesados* es ambigua, ya que agrupa elementos metálicos y metaloides asociados con efectos de contaminación ambiental, toxicidad y/o ecotoxicidad. Aunque ha sido ampliamente discutido en el ámbito académico, no se dispone aún de una definición oficial o, al menos, de una definición unívocamente aceptada. El término *metales pesados* hace referencia a su alta densidad ($>4\text{-}5 \text{ g/cm}^3$). Otro término utilizado es el de *metales traza* debido a su baja abundancia en la corteza terrestre. Sin embargo, ninguno de estos términos engloba a todos los elementos mencionados en los estudios de contaminación. Una clasificación más reciente los agrupa de acuerdo a su reactividad (Nieboer y Richardson 1980; Smith 2007; Appenroth 2010):

1. Metales clase A (*hard*), son aquellos que tienden a buscar ligandos que contienen oxígeno, comprende macronutrientes como K y Ca.
2. Metales clase B (*soft*), tienden a unirse a ligandos que contienen grupos nitrogenados o sulfuros, comprende la mayoría de los metales tóxicos.

3. Metales de borde (*borderline*), que poseen propiedades intermedias.

La toxicidad de un metal de borde depende de su carácter de clase B y de su capacidad de desplazar metales de clase A y otros metales de borde en función de sus afinidades relativas (Figura 1.1). Cuando existen en más de un estado de oxidación, el ion con la carga más elevada posee más características de la clase A que de la B (Nieboer y Richardson 1980; Ansari et al. 2004; Smith 2007).

En este trabajo se hará referencia a los metales en general como metales traza y/o pesados sin hacer distinción entre metales y metaloides, tóxicos y no tóxicos, incluyendo elementos como As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn.

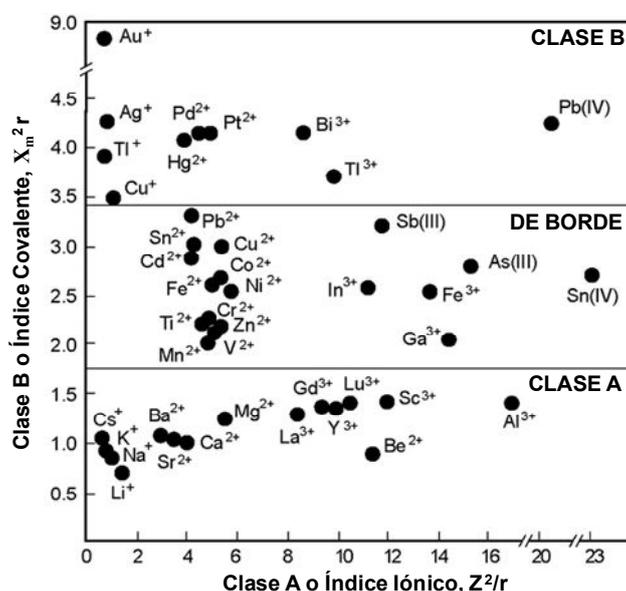


Figura 1.1: Clasificación de metales según su reactividad (modificado de Nieboer y Richardson, 1980).

Los metales pueden ser tanto esenciales como tóxicos y sus efectos sobre los organismos dependen, entre otros factores, de la concentración, la especiación y la biodisponibilidad. Algunos metales esenciales incluyen Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni y Zn. Estos pueden ejercer efectos negativos por exceso en su concentración o por ser deficientes. Otros metales como por ejemplo As, Cd, Hg y Pb no poseen rol biológico conocido y además resultan tóxicos a concentraciones relativamente bajas (Smith 2007).

La biodisponibilidad de una sustancia química se refiere a la proporción de esa sustancia susceptible de liberarse al ambiente y quedar accesible por absorción a los organismos vivos. La biodisponibilidad y toxicidad potencial de los metales dependen de factores bióticos y abióticos que interactúan entre sí. Entre los factores que controlan la movilidad de los metales en el suelo y/o sedimento podemos mencionar el pH, el potencial redox, la salinidad, la distribución y tamaño de partículas, las fases de unión a

metales como los AVS (ácidos sulfúricos volátiles), la materia orgánica y los oxihidróxidos de Fe y Mn (Chapman et al. 1999; Smith 2007; Du Laing et al. 2009; Zhang et al. 2014).

Valores altos de pH promueven la adsorción y precipitación de metales. Valores bajos de pH disuelve los ligandos de metales (OH^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , Cl^- , S^{2-} y fosfatos) y aumenta la competencia entre metales y H^+ , disminuyendo la capacidad la retención de metales en el suelo y/o sedimento (Peng et al. 2009). Bajos valores de pH pueden reducir la carga negativa superficial de la materia orgánica, partículas de arcilla y óxidos de Fe, Mn y Al, y solubilizar sulfuros (Du Laing et al. 2009; Zhang et al. 2014).

El potencial redox (Eh) es una medida de la disponibilidad de electrones. Sobre la base del contenido de oxígeno, se pueden diferenciar zonas redox en suelos y/o sedimentos estratificados: zona óxica (donde ocurre oxígeno-reducción), zona subóxica (donde predomina la reducción de nitrato, hierro y manganeso) y zona anóxica (donde ocurre la sulfato-reducción y metanogénesis) (Di Toro et al. 2005). Los elementos sensibles a cambios en el Eh generalmente están sometidos a cambios de movilidad bajo condiciones diferentes de óxido-reducción. Por ejemplo, el Cr disuelto es oxidado a Cr VI y precipitado a Cr III en condiciones reductoras. Ocurre lo contrario con Fe y Mn, los cuales son solubles en condiciones reductoras, por lo que metales sorbidos sobre óxidos de Fe y Mn pueden ser liberados en estas condiciones (Smith 2007).

La salinidad influye en la especiación de metales, puede aumentar su movilidad por complejación con los aniones derivados de las sales y por competencia con los cationes por los sitios de sorción en la fase sólida (Du Laing et al. 2009; Acosta et al. 2011; Zhao et al. 2013). Por otro lado, la salinidad produce procesos de coagulación, precipitación y floculación (Chapman y Wang 2001; Riba et al. 2003).

La materia orgánica (MO) es un importante componente para la retención de metales en suelos y/o sedimentos. Los metales pueden ser complejados o bioacumulados por MO como organismos vivos, detritos o sobre la capa superficial de partículas minerales (Rao et al. 2008). La solubilidad de la MO determina la movilidad de los metales unidos; iones complejados con compuestos orgánicos insolubles disminuye su movilidad, mientras que la formación de complejos con compuestos orgánicos disueltos aumenta su movilidad (Peng et al. 2009). La degradación de la MO bajo condiciones oxidantes puede liberar metales unidos a este componente.

La fracción limo-arcillosa (LA, <63 μm) del suelo y/o sedimento generalmente presenta mayor contenido de metales con respecto a la fracción arenosa debido a su mayor área superficial y capacidad de intercambio catiónico. Esta fracción tiene una influencia importante en el transporte y almacenamiento de metales ya que posee sitios activos y de intercambio iónico para actuar como adsorbente de metales (Sutherland et al. 2007; Zhang et al. 2014).

1.2. Especiación geoquímica

El uso de la concentración total como criterio para establecer el efecto potencial de la contaminación en los suelos y/o sedimentos o discutir su movilidad, supone que todas las formas del metal tienen el mismo impacto en el ambiente, lo cual no resulta cierto (Tessier et al. 1979). Las condiciones físicas y químicas que predominen en el ambiente determinarán la distribución de los metales en las diferentes fracciones geoquímicas, la que a su vez afectará su disponibilidad. Las especies químicas son formas específicas de un elemento definido en cuanto a la composición isotópica, estado de oxidación, complejos o la estructura molecular. La especiación es la distribución de un elemento entre las especies químicas que se definen en un sistema (Templeton et al. 2000).

Las técnicas de extracción secuencial han sido aplicadas extensamente en estudios ambientales y son útiles para entender el comportamiento químico y la disponibilidad biológica de los metales en los suelos y sedimentos (Davidson et al. 1998). Dichas técnicas se basan en el ataque químico de un solvente de extracción particular, específico de la fase o del modo de retención, contra una mezcla de formas de retención. Estos métodos aportan información de las principales fases acumulativas de metales en suelos y sedimentos (Baeyens et al. 2003). La mayoría de estos esquemas de extracción secuencial diferencian cinco fracciones (Tessier et al. 1979; Salomons y Förstner 1984; Filgueiras y Bendicho 2002):

1- Metales en forma de iones intercambiables: Incluye los metales débilmente retenidos sobre superficies sólidas por fuerzas electrostáticas débiles y la fracción soluble en agua que contiene los iones metálicos libres y los iones complejados con materia orgánica soluble y otros constituyentes. Generalmente, la fracción intercambiable y la fracción soluble en agua son extraídas en conjunto por las técnicas

de extracción secuencial. Estos metales pueden ser fácilmente liberados por pequeños cambios ambientales.

2- Metales ligados a carbonatos: Incluye los metales precipitados en forma de carbonatos o adsorbidos sobre ellos, los cuales se liberan al descender el pH.

3- Metales ligados a oxi-hidróxidos de Fe y Mn: Los oxi-hidróxidos de Fe y Mn existen como nódulos, concreciones, cemento entre partículas o recubriéndolas. Éstos son compuestos de alto poder de adsorción y son termodinámicamente inestables en condiciones anóxicas (bajo Eh).

4- Metales ligados a materia orgánica: Los metales pueden estar unidos a varias formas de MO, como organismos, detritus, o en la capa orgánica sobre partículas minerales. La degradación de la MO bajo condiciones oxidantes puede liberar los metales retenidos.

5- Fase residual o litogénica: Los metales ligados a los minerales, formando parte de su estructura cristalina. La liberación de los metales en esta fase en un período razonable de tiempo es improbable.

Los protocolos de extracción secuencial presentan una serie de problemas metodológicos, entre ellos la selectividad de los reactivos empleados, la propia definición operativa de estos métodos y la redistribución (o readsorción) elemental. A pesar de ello, los procedimientos de extracción secuencial constituyen en la actualidad la mejor aproximación para describir la asociación geoquímica de los metales con las diferentes fracciones de los suelos y sedimentos.

Las fracciones intercambiable y unida a carbonatos incluyen a los metales más móviles y potencialmente biodisponibles, mientras que las fracciones reducibles y oxidables son relativamente más estables bajo condiciones normales del sedimento (Filguieras et al. 2002), y no se encuentran biodisponibles de forma directa. La mayoría de los cationes metálicos son adsorbidos por cargas superficiales por quimisorción y sólo una pequeña cantidad es fácilmente intercambiable. Los minerales arcillosos, la materia orgánica y los oxi-hidróxidos de Fe y Mn son los grupos que participan en varias reacciones de sorción de cationes metálicos. Así en un suelo y/o sedimento no contaminado, las concentraciones de metales en el agua intersticial son muy bajas. Cuando las concentraciones de metales aumentan notablemente sobre los niveles de fondo (*background*), los sitios específicos de adsorción se saturan, los cationes

metálicos excedentes no son adsorbidos y las concentraciones en el medio acuoso aumentan (Rule 1998).

1.3. Biomonitores: Organismos y medio ambiente

La biodisponibilidad de un metal en el sedimento, no implica necesariamente que éste llegue a los organismos, lo que dependerá de las características intrínsecas del propio organismo (especie, edad, susceptibilidad, etc.). En ese sentido, además del componente abiótico de un ecosistema, es interesante evaluar el comportamiento y distribución de los metales en el componente biótico.

La bioacumulación hace referencia al balance entre la cantidad de metal incorporado a los seres vivos (a través de todas las vías posibles) y la cantidad que éstos son capaces de eliminar de su propio organismo. La bioacumulación involucra varios procesos como la absorción, el almacenamiento y la excreción en un organismo. Como resultado puede producir un aumento o una disminución neta del contenido metálico en el organismo (Barron 2002; Zhou et al. 2008). Por otro lado, los términos bioconcentración y bioacumulación suelen usarse para hacer referencia a la relación entre la concentración de metales en el organismo respecto de la concentración de metales en el agua o en el sedimento, respectivamente (Barron 2002).

El término bioindicador/biomonitor es usado para referirse a un organismo (o una parte de un organismo o una comunidad de organismos) que representa la ocurrencia de contaminantes sobre la base de síntomas específicos, reacciones, cambios morfológicos o concentraciones (Phillips y Rainbow 1993; MacFarlane et al. 2000). Cuando brinda información cualitativa de la calidad ambiental se lo denomina bioindicador y cuando contiene información cuantitativa se lo denomina biomonitor (Bargagli 1998; Mertens et al. 2005; Markert 2007). Los biomonitores pueden proporcionar una evaluación mucho más cuantitativa de la contaminación por metales, debido al hecho de que los metales acumulados en sus tejidos se integran en el tiempo. Un biomonitor debe reunir ciertas características como ser residente del área de interés o sedentario, fácil de identificar, abundante, longevo, estar disponible para muestrear todo el año y tener una amplia distribución. Además, debe ser tolerante a estresores ambientales, ser acumulador del contaminante y proveer suficiente tejido para su análisis (Rainbow 1995; Zhou et al. 2008).

En ambientes acuáticos tanto plantas como animales han sido ampliamente usados como biomonitores. Las macrófitas son particularmente útiles para el monitoreo de metales, ya que pueden tener una gran capacidad para acumularlos y tolerar grandes concentraciones. Sin embargo, la selección de especies vegetales depende de las condiciones locales y de la disponibilidad de macrófitas (Bonanno y Lo Giudice 2010). Por otro lado, los invertebrados de la cadena trófica estuarial también resultan útiles como organismos biomonitores de contaminación por metales. Entre ellos, se destacan los gasterópodos, debido a que presentan una alta eficiencia de asimilación de los metales contenidos en su dieta y baja velocidad de excreción en relación a otros invertebrados. Los gasterópodos son a menudo los predadores superiores en las cadenas tróficas bentónicas, ya que se alimentan de bivalvos, cirrípedos o sobre tejidos muertos de organismos (Wang 2002). Diferentes especies de gasterópodos pueden, sin embargo, exhibir capacidades acumulativas diferentes para diversos metales, y ofrecer diversos potenciales para el monitoreo ambiental (Zhou et al. 2008).

1.4. Importancia de los humedales y zonas costeras

Los humedales son zonas en las que el agua es el principal factor que controla el medio y la vida relacionada con él. La Convención de Ramsar define a los humedales como: "Extensiones de marismas, pantanos y turberas, o superficies cubiertas de agua, sean éstas de régimen natural o artificial, permanentes o temporales, estancadas o corrientes, dulces, salobres o saladas, incluidas las extensiones de agua marina cuya profundidad en marea baja no exceda de seis metros" y que además "podrán comprender sus zonas ribereñas o costeras adyacentes, así como las islas o extensiones de agua marina de una profundidad superior a los seis metros en marea baja, cuando se encuentren dentro del humedal" (Ramsar 2013).

Las interacciones de los componentes físicos, químicos y biológicos de un humedal, como los sedimentos, el agua, las plantas y los animales, hacen posible que el humedal desempeñe muchas funciones vitales, como por ejemplo: almacenamiento de agua; protección contra tormentas y mitigación de inundaciones; estabilización del litoral y control de la erosión; recarga y descarga de acuíferos; purificación de las aguas mediante la retención de nutrientes, sedimentos y contaminantes; y estabilización de las condiciones climáticas locales, particularmente la precipitación y la temperatura.

Las planicies de marea son un ejemplo de humedal dominados por el movimiento de las mareas; su morfología se caracteriza por una geometría con forma de embudo y una relación ancho-profundidad alta (Perillo 1995). Las planicies de marea son ambientes estuariales de relieve bajo con superficies de depósitos sedimentarios no consolidados y no vegetados, en el rango intermareal y supramareal, donde las marismas están ausentes. Aunque las planicies de marea y las marismas son ambientes costeros morfológicamente relacionados, la diferencia más notable es la presencia de vegetación halófila en la segunda. Topográficamente, las planicies de marea normalmente ocupan la posición más baja hacia el mar, mientras que las marismas ocupan la posición más alta hacia la costa (Perillo e Iribarne 2003).

Las marismas no solo son importantes por su alta productividad primaria sino también por que provee hábitat para muchas especies de organismos y constituye un eslabón clave en las cadenas tróficas costeras (Vernberg 1993; González Trilla 2010). En sistemas de marismas, el flujo del agua influye sobre la sedimentación, la distribución de material suspendido (incluyendo contaminantes), las tasas de flujo de materiales entre la marisma y el mar, el movimiento de la biota y los procesos de erosión (Vernberg 1993). El transporte de sedimentos es un proceso muy importante en estos sistemas. El sedimento suspendido influye en el destino y el transporte de los contaminantes, ya que estos pueden ser absorbidos por los sedimentos. Los metales ligados a este sustrato pueden ser enterrados por deposición y pueden ser liberados de nuevo a la columna de agua por resuspensión. El destino y el transporte de metales en un humedal se ven afectados por la sorción, la complejación orgánica e inorgánica y las reacciones de precipitación (Yang et al. 2012).

1.5. Sitio de estudio: Bahía San Antonio

La Bahía San Antonio (BSA) está ubicada en el extremo noroeste del Golfo San Matías (40° 45' S, 64° 55' W), en jurisdicción de la provincia de Río Negro, Argentina (Figura 1.2). La Bahía posee una superficie total aproximada de 12.772 ha y una boca de aproximadamente 5 km de ancho que la conecta con el Golfo San Matías. Presenta un régimen de circulación de agua caracterizado por una baja tasa de renovación contribuyendo al incremento de la temperatura de las masas de agua del sector norte. Las escasas lluvias, la ausencia de aportes de agua dulce y elevada tasa de evaporación en la zona norte del Golfo, determinan mayores salinidades, que contrastan con las

aguas más frías y menos salinas del sector sur del Golfo (Fucks et al. 2011). La característica dominante de estas costas es su gran amplitud de mareas (7 m en promedio anual) con pleamares de sicigia de más de 9 m de altura.

La dinámica de sus aguas marinas está dominada por el canal Principal al que confluyen una serie de canales de marea secundarios. Los canales más importantes dentro de la Bahía son el canal Encerrado (que bordea por el norte a San Antonio Oeste, posee una extensión de 4 km y una profundidad aproximada de 0,9 m), el canal del Indio (con 2 km de largo y una profundidad de 0,80 m, que bordea por el sur a dicha localidad) y el canal Escondido (con una orientación N-S, que posee una extensión de 7 km y una profundidad 1,2 m) (Carbone et al. 2014) (Figura 1.2).

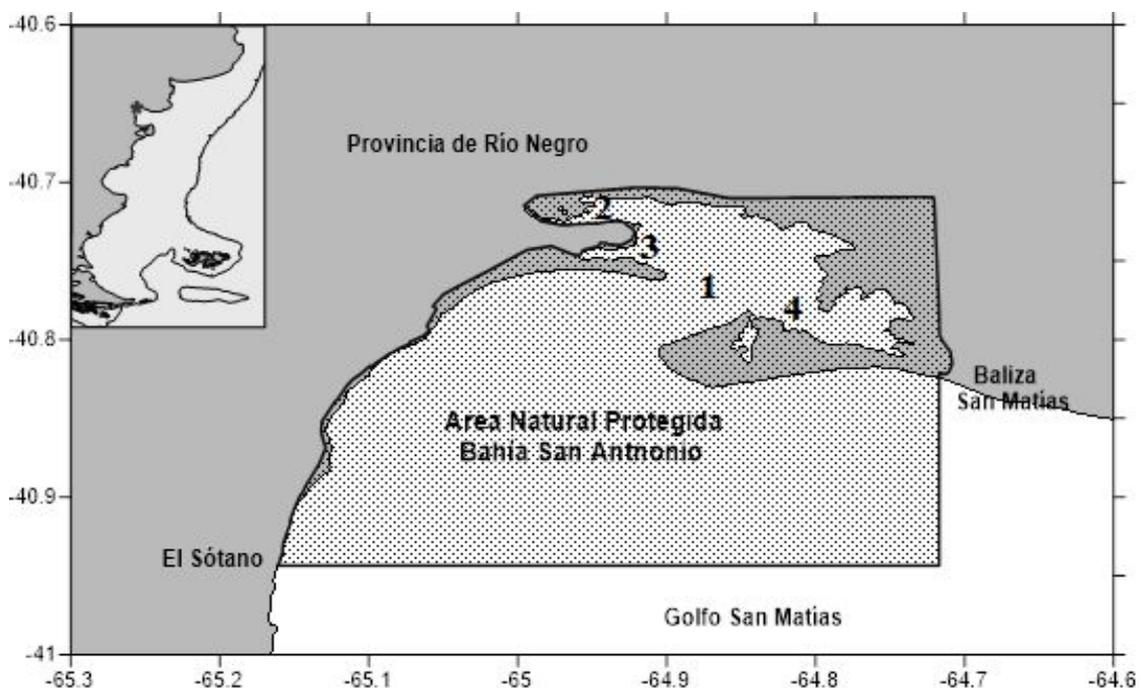


Figura 1.2: Bahía San Antonio, se detalla el Área Natural Protegida Bahía San Antonio (Ley Provincial N° 2.670). 1. Canal Principal, 2. Canal Encerrado, 3. Canal del Indio y 4. Canal Escondido.

La BSA no presenta una red de drenaje integrada, no posee sistemas fluviales permanentes, y algunos canales de marea que penetran en el continente, drenan eventualmente agua de lluvia hacia la Bahía. Las precipitaciones en la zona son muy escasas, típicas de zonas semidesérticas (no superan los 250 mm al año) y por lo tanto no constituyen un aporte significativo al sistema fluvial.

En la zona intermareal, presenta unidades fisiográficas bien diferenciadas con biocenosis particulares (Escofet et al. 1977): planicies arenosas o limo-fangosas, marismas (*Spartina* o *Sarcocornia*), mejillines (*Brachydontes rodriguezii*), cangrejales (*Neohelice granulata*). Las especies halófitas dominantes en marismas son *Spartina*

alterniflora y *Sarcocornia perennis* con porcentajes de cobertura de 2068 ha y 2124 ha, respectivamente. También se encuentran parches de *Spartina densiflora* con menor cobertura, frente a una extensión de planicie de marea de 10111 ha (Isacch et al. 2006). Existen islotes con vegetación halófila dominada por jume (*Suaeda divaricata*) y zampa crespa (*Atriplex undulata*) (Yorio 1998).

El litoral es utilizado como lugar de descanso, alimentación y nidificación por numerosas aves residentes y migratorias y ha sido declarado Sitio Internacional por la Red Hemisférica de Reservas de Aves Playeras (RHRAP) (González 1996; González 2007). Presenta alta productividad primaria, es de importancia regional en cuanto al desove de peces y moluscos y aloja una rica diversidad de especies de invertebrados y peces, algunos de alto valor comercial (Vinci 2004).

1.6. Antecedentes: Problemática en San Antonio Oeste

La localidad de San Antonio Oeste (SAO) está ubicada sobre la costa atlántica de la provincia de Río Negro. El Municipio de San Antonio Oeste abarca tres núcleos: San Antonio Oeste, Puerto de San Antonio Este (a 60 Km) y Las Grutas (a 15 Km). Actualmente cuenta con una población de 16966 habitantes (último censo 2010, INDEC 2014). Esta ciudad tomó importancia a partir de la habilitación del puerto de aguas profundas San Antonio Este. Su actividad económica se centra en la pesca y el turismo. Su principal actividad es la extracción de recursos marinos y su posterior comercialización, por lo que cuenta con un pequeño puerto dedicado a esta actividad. Las Grutas es uno de los centros turísticos más concurridos de la Patagonia.

Si bien en la zona costera patagónica prácticamente no existen actividades mineras que liberen metales hacia el ambiente, una excepción la constituye SAO. En el año 1951 la empresa Geotécnia SA inició la construcción de una planta de fundición en la localidad para la obtención de mineral de Pb, Zn y Ag. El material se extraía a unos 106 km de la ciudad, en la denominada Mina Gonzalito, que fue explotada desde la década del 50' hasta los 80's. Los concentrados de metales obtenidos en la mina, se fundían en la planta de SAO. Desde 1953 a 1979 se produjeron 61.807 toneladas de concentrado de Pb y 12.725 toneladas de concentrado de Zn (Angelelli 1984; Comisión Multisectorial, 2017). La escoria proveniente del proceso, era depositada a cielo abierto en diferentes sectores de los alrededores de la ciudad, muy próximos a la Bahía. Algunos de estos depósitos se encuentran en la actualidad dentro del ejido urbano,

existiendo viviendas construidas sobre ellas (Figura 1.3). Estos depósitos cubren una superficie total de 95000 m² y un volumen total de 22500 m³, siendo el de mayor dimensión el que se encuentra al ingreso de la ciudad (Bonuccelli et al. 2004). Con el tiempo se ha producido una dispersión del material de estos depósitos enriquecidos particularmente en Cd, Cu, Pb y Zn. La zona de mayor riesgo de afectación por ingreso de las mareas corresponde a La Estanciera (Pilas 1, 2 y 3, Figura 1.3). También el depósito denominado Autódromo, es alcanzado por el agua en mareas extraordinarias.



Figura 1.3: Detalle de la ubicación de los depósitos de escoria de fundición en San Antonio Oeste (Áreas remarcadas en rojo).

A mediados de los 90's se realizó un estudio de metales traza y/o pesados en sedimentos de la costa patagónica, que detectó valores importantes de Cd, Cu, Pb y Zn, significativamente más elevados que en el resto de la costa patagónica (Gil et al. 1999). Las concentraciones medidas en estaciones del canal del Puerto de SAO (canal Encerrado) fueron de hasta tres órdenes de magnitud superiores a las del resto de la costa. Se determinó su origen en los depósitos de residuos mineros, donde los valores fueron entre 50 y 100 veces mayores. En el año 2004, un estudio geológico en la zona comprobó la existencia de un importante proceso de transporte tanto por el agua de lluvia como por la acción combinada de la intensa hidrodinámica mareal y de la muy baja pendiente del sector. Las mareas provocan una redistribución de los sedimentos limo-arcillosos con iones de metales hacia el continente en altamar y hacia la bahía en bajamar. También se demostró que los metales provenientes de las escombreras fueron dispersados por acción del viento y las lluvias (Bonuccelli et al. 2004). Estudios posteriores en organismos de la Bahía evidenciaron la incorporación de metales a la biota, como es el caso de cangrejos (*N. granulata*) (Gil et al. 2006) y mejillines (*B. rodriguezii*) (Vázquez et al. 2007).

Esta preocupante realidad llevó a realizar estudios de plombemias en los niños de SAO, por ser la fracción de la población con mayor vulnerabilidad. De un total de 200 niños entre 6 y 8 años de edad analizados, el 20% presentó valores por encima de 10 µg/dl de Pb en sangre y el 80% restante valores <10 µg/dl (Alderete et al. 2009). Debe aclararse que incluso concentraciones de <5 µg/dl de Pb en sangre tiene efectos negativos sobre la salud (Prüss-Üstün et al. 2004). Esto deja de manifiesto el grado de exposición de los niños de SAO al material enriquecido en metales. Actualmente no existe un nivel de exposición al plomo que pueda considerarse seguro.

En el año 2009 se firmó un convenio de saneamiento ambiental de los residuos mineros en el marco del Proyecto GEAMIN (Gestión Ambiental de Minería, de la Secretaría de Minería de la Nación), donde participaron Nación, Provincia y Municipio. En el convenio se formalizaron los compromisos de remediar dichos depósitos mediante un crédito del Banco Interamericano de Desarrollo (BID). El programa abarca la remoción de las escorias, la remediación ambiental, la limpieza total de la zona y la recomposición de los terrenos afectados. También consta el compromiso de continuar con las operaciones de control y monitoreo ambiental en el área remediada una vez concluidas las obras de saneamiento.

1.7. Justificación del estudio y propuesta

Actualmente se encuentra en marcha el plan de remediación, que incluye la construcción de una celda de disposición del material contaminado a unos 60 km de SAO. Aún cuando los depósitos adyacentes a la bahía sean remediados, los metales introducidos a la misma a lo largo de los años podrían permanecer retenidos en los sedimentos. Dada la importancia de la bahía de San Antonio desde el punto de vista ecológico y teniendo en cuenta su uso por la población de SAO para recreación y para la pesca comercial y artesanal, es importante conocer el alcance de la distribución actual de los metales dentro de este ecosistema.

La BSA está sometida a un ingreso de metales provenientes de los depósitos de residuos metálicos, que aún hoy permanece sin remediar. Estos depósitos representan un peligro⁽¹⁾ para la salud del ecosistema en general, incluyendo flora, fauna y la población de San Antonio Oeste.

En este plan de tesis se propone realizar una evaluación del estado actual de la contaminación de la BSA en cuanto a la presencia de metales traza y/o pesados, en

particular Cd, Pb, Cu, Zn y Fe en sedimentos, plantas halófitas e invertebrados. Se realizó un análisis de riesgo⁽²⁾ que presentan los suelos de la Pila para la población de SAO y los sedimentos de la BSA para la vida acuática. Se efectuó un estudio de la partición geoquímica de dichos elementos en el sedimento y se evaluó su asociación con los niveles acumulados por diferentes componentes de la biota. Se investigó la posible influencia de la vegetación de marisma en procesos de mitigación de la contaminación en este ecosistema macromareal. Finalmente, se evaluó el grado de bioacumulación por parte de invertebrados relacionados con sedimentos y vegetación de la marisma.

⁽¹⁾ Peligro: Conjunto de propiedades inherentes de una sustancia, una mezcla de sustancias o un proceso que entraña sustancias que, en condiciones de producción, uso o eliminación, la hacen capaz de causar efectos adversos para los organismos o el medio ambiente, en función del grado de exposición.

⁽²⁾ Riesgo: 1. Probabilidad de efectos adversos causados bajo circunstancias específicas por un agente (sustancia, organismo) en un organismo, una población, o un sistema ecológico. 2. Probabilidad de un peligro que cause un efecto adverso. 3. Frecuencia prevista de ocurrencia de un suceso perjudicial derivado de dicha exposición.

Definiciones IUPAC (Duffus et al. 2007).

OBJETIVOS

1.8. Objetivo general

Evaluar la distribución, movilidad y biodisponibilidad de metales traza y/o pesados en sedimentos del sistema macromareal de la Bahía San Antonio.

1.9. Objetivos específicos

- Evaluar los niveles y distribución espacial actual de las concentraciones de metales traza y/o pesados (Cd, Pb, Cu, Zn y Fe) en los sedimentos superficiales de la Bahía San Antonio desde el canal Encerrado (sitio cercano a la fuente de contaminantes) hasta la boca (sitio control).
- Evaluar la movilidad potencial de cada metal a través del análisis de su partición geoquímica.
- Evaluar la influencia de la vegetación de marisma sobre la partición geoquímica de los metales y su posible rol como filtros o redistribuidores de metales.
- Evaluar la bioacumulación de los metales sobre especies detritívoras y carroñeras asociadas a los sedimentos.

1.10. Hipótesis de trabajo

- Existe un gradiente horizontal de concentración de metales en los sedimentos superficiales dentro de la Bahía, con un decrecimiento desde la fuente hacia la boca de la Bahía.
- En las zonas de marisma asociadas al canal Encerrado, las concentraciones de metales son mayores en sedimentos que presentan vegetación.
- La partición geoquímica de los metales en el rizosedimento es diferente a la que presenta el sedimento sin vegetación.
- *S. alterniflora* transloca metales desde la raíz hacia las partes aéreas.
- El nivel de acumulación de metales de la fauna asociada a los sedimentos del canal Encerrado es mayor que en el sitio control.

2. METODOLOGÍA

2.1. Sitios de muestreo

Se seleccionaron 8 sitios de muestreo distribuidos en la BSA, 4 a lo largo del canal Encerrado, y 4 externos al Canal, más el sitio 0 correspondiente a la Pila (residuos mineros) (Figura 1.4). Según el objetivo se tomaron diferentes muestras de sedimentos.

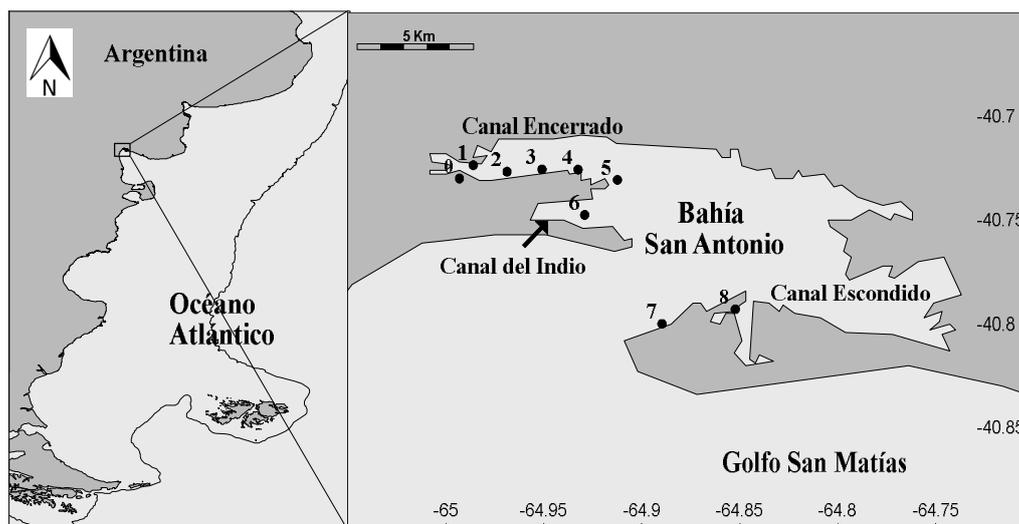


Figura 1.4: Sitios de muestreo: 0. Pila, 1. Fondo del canal, 2. canal Medio, 3. canal Pesquera, 4. Puerto SAO, 5. Punta Verde, 6. canal del Indio, 7. Puerto SAE y 8. Punta Perdices.

2.2. Muestreo y caracterización de sedimentos (Noviembre 2012)

Se realizó una campaña en Noviembre de 2012 para el muestreo de sedimentos. En cada sitio de muestreo se colectaron manualmente durante la marea baja muestras compuestas de sedimentos superficiales (cinco alícuotas de los primeros 10 cm de profundidad a 1 m de distancia uno de otro) en la planicie de marea (PM, sitios 1 a 8) y en la Pila. Sobre la marisma se tomaron tres muestras de sedimento asociado a la vegetación en cada uno de los sitios 1, 3, 5 y 8 (MA). En todos los casos se colocaron en bolsas tipo ziploc y se transportaron a 4 °C al laboratorio, donde se mantuvieron a -20 °C hasta su análisis. *In situ*, se midieron el Eh y el pH mediante potenciómetro Altronix.

El sedimento se secó en estufa a 60 °C hasta peso constante. La granulometría se obtuvo utilizando tamices de malla plástica de 63 μm y 2 mm de tamaño de poro, diferenciándose las fracciones: grava (>2 mm), arena (entre 2 mm y 63 μm) y limo-arcillosa (<63 μm). El porcentaje de materia orgánica (MO) se determinó por

calcinación en mufla a 450 °C durante 4 horas en la fracción <2mm (Davies 1974; Byers et al. 1978).

Nota: En los resultados y análisis estadísticos se informaron los porcentajes de arena y limo-arcilla en la fracción <2mm.

2.2.1. Determinación de la concentración pseudototal de metales

Para determinar el contenido pseudototal de metales en el sedimento se realizó una extracción con agua regia (MacGrath y Cunliffe 1985; ISO 1995). Con este método se logra extraer todos los metales contenidos en las fases geoquímicas no residuales y parcialmente los incluidos en la matriz silícea (fase residual), por lo que su extracción no resulta total y se define como *pseudototal*. (Hung y Chmura 2007). Este tipo de extracción es adecuada para sedimentos o matrices con un contenido de MO <20% (ISO 1995) y se la utiliza en la evaluación del potencial que poseen los suelos y sedimentos para ejercer efectos negativos sobre la biota (CCME 2001a).

Un gramo de sedimento seco (fracción <2mm) se digirió con 10 ml de agua regia. El agua regia se preparó en proporción 3:1 de HCl, grado analítico para análisis (PA) Baker y HNO₃ PA Merck. Se evaporó en plancha calefactora a 85 °C por 2 h a ebullición suave. Se recuperó el residuo con 10 ml de HNO₃ 5% y se centrifugó a 8000 rpm por 20 min a temperatura ambiente. El sobrenadante se llevó a volumen final de 25 ml con HNO₃ 5%. La lectura de los extractos se realizó mediante Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA), según se indica en el inciso 3.4. Los resultados son expresados en mg/kg en peso seco.

2.2.2. Determinación de la concentración de metales biodisponibles

Para determinar la fracción biodisponible de metales en el sedimento se utilizó una técnica de digestión suave que permite evaluar rápidamente el aporte antropogénico y/o potencialmente disponible en el ambiente. Se analizó el contenido de metales biodisponibles en la fracción <2 mm y en la fracción limo-arcillosa (<63 µm) del sedimento.

Sobre un gramo de sedimento seco se realizó una extracción con 25 ml de ácido clorhídrico 0,5 N y agitación a 200 rpm por 12 h a temperatura ambiente (Agemian y Chau 1976; Sutherland et al. 2004). Se centrifugó a 8000 rpm por 20 min a temperatura

ambiente. La lectura de los extractos se realizó mediante EAA, según se indica en el inciso 3.4. Los resultados son expresados en mg/kg en peso seco.

2.3. Muestreos estacionales. Variación espacio-temporal de niveles de metales en sedimentos y otras matrices de la BSA.

Se realizaron campañas estacionales (verano, otoño, invierno y primavera) en 2013 y en 2014 (N=8). En marea baja, se tomaron muestras de sedimento y organismos en 4 de los 8 sitios muestreados en la primera campaña. La selección de dichos sitios se realizó de acuerdo a dónde habitan los organismos objeto de estudio (plantas e invertebrados) (Figura 1.4). Adicionalmente, se recolectaron muestras de agua en los únicos dos sitios con presencia de este sustrato durante la marea baja: en PM3 (canal Pesquera) y PM8 (Punta Perdices).

2.3.1. Agua de mar

2.3.1.1. Muestreo y caracterización

En cada sitio, se llenaron 2 botellas de 1,5 L, una para la determinación de fitopigmentos (clorofila *a* y feofitina) y nutrientes (amonio, nitrito+nitrato, PRS: fósforo reactivo soluble - el cual incluye los fosfatos más el fósforo vinculado a la materia orgánica disuelta - y silicato); la segunda para la determinación de metales trazas y/o pesados. Se determinaron *in situ*: Temperatura (°C), Salinidad (ups), Conductividad (mS/cm), Oxígeno Disuelto (%), pH y Eh (mV) con sonda multiparamétrica YSI modelo 556 MPS.

Las muestras destinadas a la determinación de metales trazas y/o pesados se ajustaron a pH <2 con HNO₃ concentrado PA Merck y se almacenaron en heladera hasta su procesamiento. Las muestras de agua para fitopigmentos y nutrientes se filtraron por membranas de fibra de vidrio GF/C Whatman (0,47 mm de diámetro, 1,2 µm de tamaño de poro). Del filtrado se separaron 50 ml para la determinación de amonio y el resto se almacenó en freezer para la determinación de los demás nutrientes. El material retenido en el filtro se conservó mediante solución saturada de MgCO₃ y se almacenó en freezer.

El amonio se determinó manualmente mediante técnica colorimétrica descrita por Strickland y Parsons (1972). Los demás nutrientes (nitrato+nitrito, fosfato y silicato)

fueron determinados mediante equipo Autoanalizador (Skalar 2005a, b, c). Para la medición de clorofila *a* y feofitina se realizaron extractos sobre los filtros, utilizando acetona al 90%. Se midió la fluorescencia con equipo Turner 111 (Strickland y Parsons 1972).

2.3.1.2. Determinación de la concentración metales en agua de mar

Se realizaron dos determinaciones, metales extractables sobre la muestra sin digerir conservada con HNO₃ a pH <2 (Van Loon 1980) y metales totales sobre la muestra digerida con HNO₃ según Método 3030 E (APHA 2012). Para esto último se añadieron 5 ml de HNO₃ a 100 ml de muestra, se colocaron en plancha calefactora a 95 °C y se evaporó hasta unos 10-20 ml. Se dejó enfriar y se llevó a volumen de 100 ml con agua tridestilada. Las mediciones se realizaron en un espectrómetro de emisión atómica por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES, Shimadzu 9000 Simultáneo de Alta Resolución) previo pasaje por columna Chelex, en el Laboratorio de Análisis Químicos (LANAQUI - Bahía Blanca), bajo la modalidad de servicios a terceros. Los resultados se expresan en µg/L.

2.3.2. Sedimentos y plantas de marisma

2.3.2.1. Muestreo

Se seleccionaron 4 sitios en la marisma: MA1, MA3, MA5 y MA8. En el sitio MA5 se tomaron muestras de marisma alta (MA5) y marisma baja (MA5*). En cada caso se colectaron muestras de aproximadamente 20x20 cm² de superficie x15 cm de profundidad mediante pala y por triplicado, diferenciando sedimento con vegetación (MA-RIZO) y sin vegetación (MA-SED), estas últimas áreas donde la vegetación estaba ausente (aproximadamente 0,5 m de espacio entre las plantas más próximas). Se colocaron en bolsas tipo ziploc y se conservaron a -20 °C hasta el momento de su análisis. *In situ*, se midieron el Eh y el pH mediante potenciómetro Altronix. Las muestras de sedimentos fueron caracterizadas como se detalla en el inciso 3.2, la MO se determinó en la fracción <63 µm.

Las plantas asociadas a los rizosedimentos colectados, también fueron extraídas y conservadas en bolsas plásticas tipo ziploc. En los sitios MA1, MA3 y MA5 se

muestreo *S. densiflora*, mientras que en sitios MA5* y MA8 se muestreo *S. alterniflora*, de acuerdo a su distribución en la BSA.

2.3.2.2. Extracción secuencial de metales en sedimento

Para obtener mayor información sobre la distribución de la concentración de metales en las diferentes fases geoquímicas se utilizó el método de extracción secuencial BCR (*Community Bureau of Reference*), recomendado por el Programa de Normas, Medidas y Pruebas de la Comisión Europea (Ure et al. 1993; Rauret et al. 1999; Mossop y Davidson 2003; Wuana et al. 2010).

La extracción se realizó en 0,5 g del sedimento seco (<63 μm). En cada etapa del procedimiento se trató con 20 ml del extractante correspondiente y se dejó en agitación por 16 h a 300 rpm y temperatura ambiente (Tabla 1.1). Posteriormente se centrifugó a 4600 rpm por 20 minutos y el sobrenadante se guardó en botellas plásticas (previamente acondicionadas) en heladera hasta su lectura. El residuo se lavó con 15 ml de agua tridestilada, se agitó en vortex por 5 min y se centrifugó a 4600 rpm por 10 min. Se descartó el sobrenadante, cuidando de no perder sedimento. Con el residuo se continuó con el siguiente paso hasta completar la fracción 3. Además de aplicar el método BCR, se cuantificó el contenido pseudototal de metales en cada muestra (<63 μm). La diferencia entre el contenido pseudototal y la sumatoria de las fracciones F1, F2 y F3 se utilizó para estimar el contenido residual (fracción F4) (Tabla 1.1). La lectura de cada extracto se realizó mediante ICP-OES según se indica en el inciso 3.4. Los resultados son expresados en mg/kg en peso seco.

Tabla 1.1: Extracción secuencial método BCR.

Fracción	Extractante	Condiciones	Volumen
F1: Intercambiable	Ácido acético 0,11 M (PA Riedel de Haën)	Se agitó por 16 h a temperatura ambiente.	20 ml
F2: Reducible	Cloruro de hidroxilamina 0,1 M (PA PanReac)	Se agitó por 16 h a temperatura ambiente.	20 ml
F3: Oxidable	Peróxido de hidrógeno 30 % 8,8 M (PA Merck)	Se digirió 1 h a temperatura ambiente, se agitó 1 h a 85 °C, hasta reducir volumen a unos pocos ml. Se evaporó hasta sequedad.	10 ml
	Acetato de amonio 1 M (PA Baker)	Se agitó por 16 h a temperatura ambiente.	20 ml
F4: Residual	Ácido clorhídrico (PA Baker) / Ácido nítrico (PA Merck) proporción 3:1	Se calculó por diferencia con el contenido pseudototal.	5 ml

Para controlar el procedimiento, el material de referencia se sometió a ambos métodos de extracción: BCR y pseudototal. Adicionalmente el residuo de la fracción 3 también se digirió con agua regia para cuantificar la fracción 4. La suma de las fracciones F1+F2+F3+F4 se comparó con la concentración pseudototal (ANEXO A).

2.3.2.3. Caracterización y determinación de la concentración de metales en plantas

Para la determinación de la biomasa de las plantas (*Spartina densiflora* y *Spartina alterniflora*), cada una de ellas fue separada en tejido aéreo (TA: hojas + tallos verdes) y tejido subterráneo (TS: raíces + rizomas) (Figura 1.5). Se lavaron con agua corriente, se enjuagaron con agua destilada en baño ultrasónico por 2 min (para favorecer el desprendimiento de sedimento adherido al tejido). Se secaron en estufa a 80 °C por 48 h y se pesaron. La biomasa se expresó como kg/m² de peso seco (Reboreda y Caçador 2007a).



Figura 1.5: A. *Spartina densiflora*, B. *Spartina alterniflora*, C. Tejado aéreo (hojas + tallos verdes) y tejido subterráneo (raíces + rizomas).

Para la determinación de la concentración de metales en tejidos vegetales, una vez secos, éstos fueron triturados y homogeneizados con un molinillo tipo Butt. Sobre una alícuota se determinó el porcentaje de cenizas por calcinación en mufla a 550 °C durante 12 horas (AOAC 1995). De cada muestra se tomó 1 g de tejido seco, se calcinó a 400 °C por 6 h y se digirió con 3 ml de HNO₃ concentrado (PA Merck) a 80 °C. Este proceso se repitió entre 3 y 4 veces hasta la digestión completa. El residuo se resuspendió con solución de HNO₃ 3% (PA Merck) y HCl 6% (PA Baker). Se centrifugó a 8000 rpm por 20 min y se llevó a volumen final de 10 ml de solución de HNO₃ 3% y HCl 6% (BOE 1991; Yoong 1998). Las lecturas se realizaron por EAA según se indica en el inciso 3.4. Los resultados son expresados en mg/kg en peso seco.

2.3.3. Invertebrados

2.3.3.1. Muestreo

Se recolectaron manualmente individuos del cangrejo cavador *Neohelice granulata* y del gasterópodo *Buccinanops deformis* en el intermareal durante marea baja. Los cangrejos fueron capturados en los sitios de marisma MA1, MA3, MA5 y MA8. Los caracoles se recolectaron en la planicie de marea correspondiente a los sitios PM3 y PM8. En cada campaña se colectaron 40 individuos machos de cangrejo y 30 individuos de caracol (Figura 1.6), los que fueron colocados en bolsas tipo ziploc y conservados a -20 °C hasta su procesamiento.

2.3.3.2. Caracterización y determinación de metales en invertebrados

En el laboratorio, los individuos fueron lavados con agua corriente y enjuagados con agua destilada. Se registraron las medidas morfométricas: ancho (AC) y largo (LC) del caparazón para los cangrejos y largo total (LT) y ancho total (AT) de la concha para los caracoles. Para cada individuo se registró el peso total (PT) y el peso del tejido blando (PH), respectivamente.

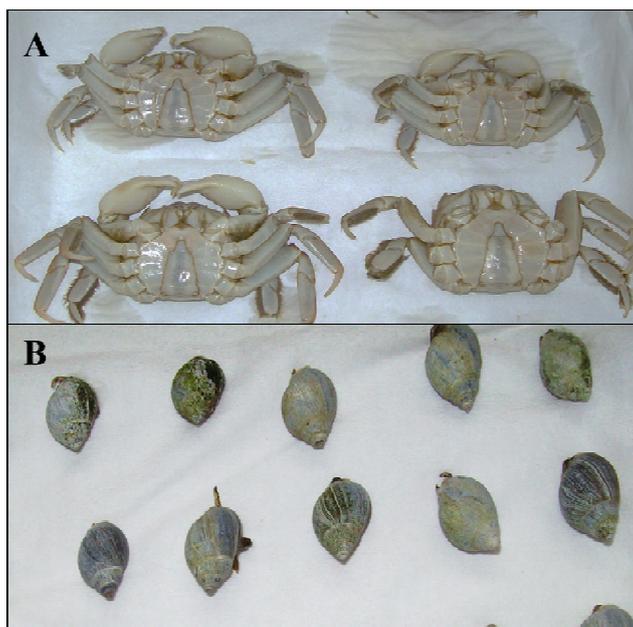


Figura 1.6: A. *Neohelice granulata* y B. *Buccinanops deformis*

Para cada sitio, se formaron grupos de muestras con 10 individuos cada una. Se secaron en estufa a 80 °C hasta peso constante y se homogeneizaron en mortero de ágata. Sobre cada uno se determinó el porcentaje de humedad y de cenizas por calcinación en mufla a 550 °C durante 12 horas (AOAC 1995).

Se tomó 1 g de tejido seco para la determinación de metales. La extracción se realizó como se indicó en el inciso 3.3.2.3. Las lecturas se realizaron por EAA según se indica en el inciso 3.4. Los resultados son expresados en mg/kg en peso seco.

2.4. Lectura de metales en extractos

La determinación de metales (Cd, Pb, Cu, Zn y Fe) en los extractos de sedimentos (pseudototal y biodisponibles), vegetación e invertebrados se realizó mediante espectrofotómetro de absorción atómica (EAA) Modelo IL 457, utilizando llama de aire/acetileno y corrección de fondo con lámpara de deuterio. Las curvas de calibración y condiciones de lectura se detallan en el ANEXO A.

La determinación de metales (Cd, Pb, Cu, Zn y Fe) en las fracciones correspondientes a la extracción secuencial se realizó en un espectrómetro de emisión por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES, Modelo Agilent 720). Las curvas de calibración y condiciones de lectura se detallan en el ANEXO A.

2.5. Calidad de los datos analíticos

Los límites de detección de los equipos (AAS y ICP-OES) fueron determinados para cada elemento y se calcularon como la concentración promedio de 10 blancos más 3 veces el desvío estándar (DS).

Para asegurar la calidad de los datos se utilizó material de referencia certificado para cada matriz:

1. Sedimentos marinos: PACS-2. National Research Council Canada (NRC).
2. Plantas acuáticas: BCR-060 *Lagarosiphon major*. Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM).
3. Invertebrados (tejido de ostra): SRM-1566b. National Institute of Standards and Technology (NIST).

Los porcentajes de recuperación para PACS-2 (extracción pseudototal), BCR-060 y SRM-1566b estuvieron entre 78-129% para todos los elementos. Para biodisponibles y extracción secuencial no se cuenta con material de referencia certificado. De manera estimativa se calculó usando PACS-2. En la extracción de metales biodisponibles la recuperación fue del 72-96%, excepto el Fe (30%). En la extracción secuencial en PACS-2 se obtuvieron porcentajes de recuperación entre 92-117%.

2.6. Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos fueron realizados con el paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo et al. 2008). Se aplicaron análisis estadísticos paramétricos, cuando los datos cumplían con los supuestos de normalidad (Saphiro Wilk) y homocedacia (Levene). Cuando esto no fue posible, se aplicaron los análisis no paramétricos alternativos a cada método. Se detallan en cada capítulo. Se aplicaron además análisis multivariados: Análisis de Componentes Principales (ACP), Análisis de Conglomerados (AC) y Tucker.

Para poder incluir en la matriz de datos la mayor cantidad de información, en muestras con valores <LD se reemplazó con el valor de la mitad del LD correspondiente para realizar el análisis estadístico (Gibbons et al 2001; Tsakovski et al. 2009).

CAPÍTULO II

**Evaluación de los niveles y distribución espacial
de las concentraciones de metales traza y/o
pesados en sedimentos de la Bahía San Antonio.**

1. INTRODUCCIÓN

El aumento de la urbanización y la industrialización ha dado como resultado un aumento en los niveles de contaminantes en suelos y aguas. El grado de impacto antropogénico en el ambiente puede ser evaluado en términos de concentración de metales en sedimentos, para lo cual es necesario conocer las concentraciones totales y biodisponibles. El contenido total incluye la composición litogénica, más el enriquecimiento asociado a aportes exógenos, en particular los antropogénicos. Por lo tanto, con el análisis del contenido total, esta diferencia sería imposible de evaluar. La cuantificación de los metales biodisponibles o lábiles en el sedimento proporciona un mejor indicador de su potencial toxicidad (Larner et al. 2008; Passos et al. 2011). Se han propuesto diferentes métodos para diferenciar el enriquecimiento antrópico. Un método práctico y económico es una extracción con ácido clorhídrico diluido (Sutherland et al. 2002; Larner et al. 2006), que extrae en un solo paso las fracciones no residuales, incluyendo las lábiles y las que son potencialmente biodisponibles por cambios en las condiciones ambientales del sedimento.

En este capítulo se exponen los resultados de las características fisicoquímicas y contenido de metales pseudototales y biodisponibles en sedimentos en la BSA, correspondientes al muestreo de Noviembre 2012. El análisis incluye suelo de la Pila (escoria de la fundición), sedimentos de la planicie de marea (PM), de la marisma (MA), internos al canal Encerrado (sitios 1-4) y externos al Canal (sitios 5-8).

Se realiza una evaluación del estado de la contaminación por estos elementos al momento del muestreo, en comparación con datos de estudios previos y con valores recomendados por diferentes legislaciones para la protección de la vida y el medio ambiente. Se evaluó además el riesgo para la salud humana de los suelos de la Pila y el grado de contaminación de los sedimentos de la BSA, utilizando los índices que se detallan más adelante. Para el cálculo de los índices se utilizaron las concentraciones pseudototales y se tomó como línea de base (*background*) al sitio PM8, por ser el sitio más alejado de la fuente de contaminación.

Además, se realizaron análisis de correlación mediante el coeficiente de Spearman. Se tomó como significativo un $p < 0,05$. Posteriormente los parámetros ambientales se analizaron con ACP y AC. Para este fin se construyó una nueva matriz con los parámetros como variables y todas las muestras, la cual fue transformada ($\log(x+1)$) para compensar la influencia de altas concentraciones.

1.1. Índices

Además de valores establecidos por legislaciones, es común el análisis de la contaminación de sedimentos de un sitio mediante diferentes índices que dan una idea del potencial peligro que representan estos sedimentos de acuerdo a su contenido metálico.

1.1.1. Evaluación del riesgo para la salud humana

Los índices *Hazard Quotient* (HQ) y *Hazard Index* (HI) se emplean para evaluar el riesgo para la salud humana, en relación a los efectos no cancerígenos que puede producir la exposición a un tóxico, en este caso los metales. HQ evalúa el riesgo individual de cada metal y HI el riesgo global de todos los metales, asumiendo que el efecto es aditivo (ACS y RFF 1998; Zabin y Howladar 2015). Valores de HQ <1, sugieren que el material es seguro para la exposición durante la vida de la persona. Si HI <1, el riesgo de efecto crónico es nulo; si $1 < HI < 10$ el riesgo es moderado y si $HI > 10$ el riesgo es alto (Ogunkunle et al. 2013, Zabin y Howladar 2015). Los índices se calcularon usando las siguientes ecuaciones:

$$HQ = CDI / RfD$$

$$CDI = (Cs * IR * ED * EF) / (BW * AT)$$

$$HI = \sum HQ$$

Donde CDI (*chronic daily intake*) es la ingesta diaria crónica, RfD (*chronic reference dose*) es la dosis de referencia (mg/kg día), Cs es la concentración del metal en el sedimento (mg/kg), IR (*intake rate*) es la tasa de ingestión (200 y 100 mg/día), ED (*exposure duration*) es la duración de la exposición (6 y 26 años), BW (*body weight*) es el peso corporal (15 y 80 kg), EF (*exposure frequency*) es la frecuencia de exposición (350 y 75 días/año) y AT (*average time*) es el tiempo medio (365 días/año x ED). Para calcular los valores de referencia, considerando las siguientes situaciones: niños/residencial, niños/recreacional, adultos/residencial y adultos/recreacional, se usó el Sistema de Información de Evaluación de Riesgos (RAIS 2008).

1.1.2. Índices de contaminación

1.1.2.1. Factor de enriquecimiento (EF)

El factor de enriquecimiento (EF) se calculó según la siguiente ecuación (Nikolaidis et al. 2010; Kalender y Uçar 2013):

$$EF = (C_{\text{metal}} / C_{\text{Fe}})_{\text{muestra}} / (C_{\text{metal}} / C_{\text{Fe}})_{\text{background}}$$

Los elementos que más comúnmente se utilizan como metales de referencia son Fe y/o Al. En este caso se eligió al Fe dado que el agua regia (utilizada en este trabajo para la cuantificación de metales pseudototales) no resulta un buen extractante para el Al. Por otro lado, el Fe es una fase de sorción importante para metales y es un trazador cuasi-conservativo de las fases naturales que contienen metal en los sedimentos fluviales y costeros (Schiff y Weisberg 1999; Turner y Millward 2000; Aprile y Bouvy 2008). Se utilizaron valores de un sitio no contaminado como línea de base (*background*). Valores de EF menores a la unidad se consideran de origen natural, mientras que valores de EF superiores a la unidad se consideran de origen antropogénico. Se definieron 5 categorías: EF <2 mínimo enriquecimiento, 2-5 enriquecimiento moderado, 5-20 enriquecimiento significativo, 20-40 enriquecimiento elevado y >40 enriquecimiento extremo (Nikolaidis et al. 2010; Kalender y Uçar 2013).

1.1.2.2. Factor de contaminación (CF)

El factor de contaminación (CF) se calculó según la siguiente ecuación (Hakanson 1980; Kalender y Uçar 2013):

$$CF = C_m / Bkg_m$$

Donde C_m es la concentración del metal en el sedimento y Bkg_m es la concentración del metal en el sedimento tomado como línea de base (*background*). Valores de CF <1 indican baja contaminación, 1-3 moderada contaminación, 3-6 considerable contaminación y >6 muy alta contaminación (Hakanson 1980; Kalender y Uçar 2013).

1.1.2.3. Índice de geoacumulación (Igeo)

El índice de geoacumulación (Igeo) se calculó según la siguiente ecuación (Müller 1969; Kalender y Uçar 2013):

$$I_{\text{geo}} = \log_2 (C_m / 1,5 * Bkg_m)$$

Donde C_m es la concentración del metal en el sedimento y Bkg_m es la concentración del metal en el sedimento tomado como línea de base (*background*). Valores de $I_{geo} < 1$ indican baja o nula contaminación, 1-3 moderada contaminación, 3-5 alta contaminación y > 5 contaminación extrema (Müller 1969; Kalender y Uçar 2013).

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1. Caracterización del suelo de la Pila

El suelo de la Pila (escoria de la fundición) presentó granulometría principalmente arenosa con un 11.3% de grano fino ($< 63\mu m$), producto del proceso propio de la fundición a la cual fue sometido. Las concentraciones pseudototales de metales en este sustrato fueron 45 mg/kg de Cd, 42853 mg/kg de Pb, 24505 mg/kg de Cu, 28686 mg/kg de Zn y 340485 mg/kg de Fe. Estos valores superaron los niveles máximos de Cd, Pb, Cu y Zn en relación a la calidad de suelo establecidos para uso industrial (Ley Nacional N° 24.051/91) en 2, 45, 50 y 20 veces respectivamente (Tabla 2.1). También exceden los niveles más conservadores establecidos por la legislación de países como Canadá (CCME 2007), una de las más referenciadas a nivel internacional. Las legislaciones de Brasil (CONAMA 2009) y Estados Unidos (US EPA 2016) son menos estrictas que la canadiense, aun así los niveles de la Pila los exceden.

Las concentraciones biodisponibles en suelo de la Pila presentaron el siguiente orden $Cd < Pb < Cu < Zn < Fe$. Los porcentajes de estas concentraciones respecto de las concentraciones pseudototales fueron Cd 82%, Zn 57%, Cu 32%, Fe 7% y Pb 5%. Estas concentraciones superan los límites establecidos para uso agrícola y residencial incluso en algunos casos exceden los de uso industrial, excepto el Fe, el cual no está legislado (Tabla 2.1).

El material de la Pila presenta una gran concentración de Pb, Zn y Cu, dado que el mineral que se extraía era tipo SEDEX (sulfuros polimetálicos) y en la fundición se concentraba principalmente Pb, Zn y Ag. Las concentraciones elevadas de estos residuos hacen que sea una fuente potencial de metales hacia el ecosistema, como lo corroboran trabajos anteriores (Gil et al. 1999; Bonuccelli et al. 2004; Vázquez et al. 2007). La textura fina, la falta de resguardo y la exposición a la acción del viento y a la erosión del agua, facilitan su dispersión (Clevenger 1990; Bonuccelli et al. 2004).

Tabla 2.1: Concentraciones de metales en la Pila y niveles guía de calidad de suelos en Argentina y otros países (mg/kg).

Usos/Concentración		Cd	Pb	Cu	Zn	Fe
Pila	Pseudototal	45	42853	24505	28686	340485
	Biodisponibles	37	2301	7955	16235	23832
Argentina	Agricultura	3	375	150	600	sd
	Residencial	5	500	100	500	sd
	Industrial	20	1000	500	1500	sd
Canadá ¹	Agricultura	1,4	70	63	200	sd
	Residencial/parques	10	140	63	200	sd
	Industrial	22	600	91	360	sd
Brasil ²	Agricultura	3,6	150	760	1900	sd
	Residencial	14	240	2100	7000	sd
	Industrial	160	4400	10000	10000	sd
USEPA ³	Residencial	20	300	1000	7000	sd
	Parques/recreacional	40	600	2000	14000	sd
	Comercial/industrial	100	1500	5000	35000	sd

Referencias: 1- CCME 2007, 2- CONAMA 2009, US EPA 2016. sd: sin dato

2.1.1. Evaluación del riesgo para la salud humana

Se consideraron diferentes situaciones: uso recreacional y residencial de la zona de la Pila y para dos fracciones de la población: niños (6 años) y adultos (26 años). En el caso de la población infantil los índices siempre fueron un orden de magnitud mayor que para los adultos (Tabla 2.2). El HQ para todos los metales fue mayor a la unidad indicando que el material es peligroso, con la excepción del HQ de Cd para adultos que fue menor a la unidad. El mayor riesgo lo representa el Pb, siguiendo en orden Cu, Fe, Zn y Cd. Sin embargo, al considerar los valores de HI, el riesgo global es moderado en la situación más favorable (adultos/recreacional) mientras que supera ampliamente el nivel de alto riesgo ($HI > 10$) en las demás situaciones (niños/residencial, niños/recreacional y adultos/residencial). Tanto en el entorno de la Pila como de los demás depósitos (Autódromo y Fundición) se observa la presencia de viviendas familiares, donde sus habitantes están expuestos al polvo y/o suelos derivados de estos depósitos, los que podrían contener especies tóxicas de metales.

La eficiencia de absorción del Pb depende de la ruta de exposición, de la edad y del estado nutricional de las personas expuestas. Los adultos absorben entre el 10-15% del plomo ingerido, mientras que los niños pueden absorber hasta un 50%, dependiendo si el Pb está en la dieta, polvo o pintura. La absorción gastrointestinal en los niños puede ser del 30% para el Pb presente en el polvo y la suciedad. Más del 90% del Pb de las partículas depositadas en el tracto respiratorio es absorbido por el sistema

circulatorio. El Pb inorgánico no es absorbido eficientemente a través de la piel, consecuentemente, esta ruta no contribuye considerablemente a la carga total del Pb en el cuerpo (EPA US 1986, RAIS 2008) y, por lo tanto, el bañarse en aguas de la Bahía no aumentaría la exposición.

Tabla 2.2: Índices de riesgo Hazard Quotient (HQ) y Hazard Index (HI) determinados para la Pila.

	Niños		Adultos	
	Residencial	Recreacional	Residencial	Recreacional
HQ-Cd	5,8	1,2	0,5	0,1
HQ-Pb	274,0	58,7	25,7	5,5
HQ-Cu	78,3	16,8	7,3	1,6
HQ-Zn	12,2	2,6	1,2	0,3
HQ-Fe	62,2	13,3	5,8	1,3
HI	432,4	92,7	40,5	8,7

2.2. Caracterización de los sedimentos de la BSA

La BSA presentó sedimentos con granulometría principalmente arenosa. La fracción limo-arcillosa (LA) varió entre 0,6 y 8,3%, registrándose el máximo en el sitio más interno del canal Encerrado (PM1 y MA1). El porcentaje de materia orgánica (MO) varió entre 0,7 y 3,0%, con los valores más altos en los sitios PM1 y PM7 (Tabla 2.3).

Los valores de pH y Eh se usan en forma combinada para determinar las características de óxido-reducción predominantes en un sustrato. Los sedimentos de los sitios PM1 a PM3 (planicie de marea, dentro del canal Encerrado) presentaron condiciones reductoras y pH neutro (PM1 y PM2) o levemente ácido (PM3). Los sitios PM4 a PM8 presentaron condiciones oxidantes y pH neutro (entre 6,6 y 7,4), excepto el sitio PM6 donde se registró el pH más bajo de la Bahía (5,8). Para el caso de los sedimentos de marismas se observó claramente la separación entre las condiciones más reductoras de los sitios MA5* y MA8, correspondientes a marisma baja, y los sitios MA1, MA3 y MA5 condiciones oxidantes, correspondientes a marisma media-alta (Tabla 2.3). Estas diferencias estarían asociadas a las condiciones diferentes en sus exposiciones a la marea: en el primer caso están sometidas a inundaciones diarias en la pleamar, mientras que las zonas de marismas altas sólo se inundan en mareas extraordinarias.

Tabla 2.3: Características generales de los sedimentos de la BSA (media±DE, N=3[#]).

Sitio	Zona / Especie	MO (%)	Arena (%)	LA (%)	Eh (mV)	pH
Pila	Suelo	8,8	88,7	11,3	sd	sd
PM1	Planicie de marea	3,0	92,5	7,5	-100±16	7,0±0,1
PM2	Planicie de marea	0,9	98,1	1,9	-69±11	7,0±0,1
PM3	Planicie de marea	1,4	96,6	3,4	-214±21	6,2±0,1
PM4	Planicie de marea	1,0	97,7	2,3	50±8	6,9±0,2
PM5	Planicie de marea	1,2	98,7	1,3	133±13	7,4±0,1
PM6	Planicie de marea	0,8	99,3	0,7	55±6	5,8±0,3
PM7	Planicie de marea	3,0	95,9	4,1	77±10	7,2±0,1
PM8	Planicie de marea	0,7	99,4	0,6	98±13	6,6±0,1
MA1	Marisma / <i>S. densiflora</i>	2,0±0,2	91,7±0,2	8,3±0,2	238±9	8,0±0,2
MA3	Marisma / <i>S. densiflora</i>	1,7±0,2	97,6±0,4	2,4±0,4	193±12	8,0±0,2
MA5	Marisma / <i>S. densiflora</i>	0,9±0,2	98,9±0,3	1,1±0,3	156±9	8,0±0,1
MA5*	Marisma / <i>S. alterniflora</i>	1,5±0,4	96,6±0,6	3,4±0,6	-59±14	7,1±0,1
MA8	Marisma / <i>S. alterniflora</i>	2,0±0,7	95,7±1,3	4,3±1,3	-217±13	7,2±0,3

[#] MO y granulometría en Planicie de marea corresponden a una única muestra compuesta. sd: sin dato

2.2.1. Concentraciones pseudototales de metales en sedimentos

Los rangos en las concentraciones pseudototales de metales en sedimentos de la BSA fueron Pb <5,0-41,2 mg/kg; Cu 2,4-22,9 mg/kg; Zn 15,1-211,9 mg/kg y Fe 0,8-2,13%. Los niveles de Cd fueron menores al límite de detección (<0,25 mg/kg) en todos los sitios. Las concentraciones máximas para Pb, Cu y Zn se registraron en el sitio más interno del canal Encerrado tanto en la planicie de marea (PM1) como en la marisma (MA1). Las concentraciones de Fe en la planicie de marea fueron máximas en el puerto de San Antonio Este (PM7), mientras que en la marisma fueron máximas en MA1 y MA8 (Figura 2.1). Las concentraciones de Pb, Cu y Zn en PM1 y de Pb en MA1 superaron los límites de referencia para la protección de la vida acuática ISQGs (*Interim marine Sediment Quality Guidelines*) (CCME 2001b).

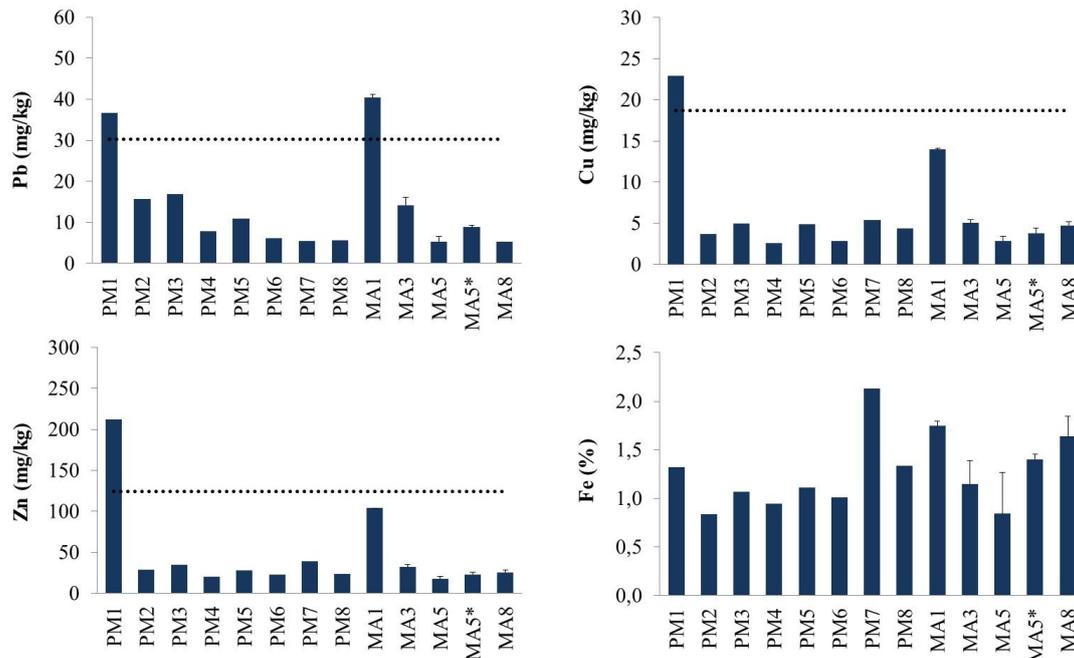


Figura 2.1: Concentración pseudototal de metales en sedimentos de la BSA. Valores ISQGs en línea punteada (PM N=1 y MA N=3). Cd <LD en todos los sitios.

El contenido de MO y la fracción LA se relacionaron positivamente tanto en la planicie de marea como en la marisma (Tabla 2.4). El Fe en la planicie de marea se relacionó sólo con el Cu, mientras que en la marisma presentó alta correlación con el contenido de MO y LA y moderada correlación con Cu y Zn. Las concentraciones de Zn y Cu presentaron una relación positiva con el contenido de MO y LA en ambos sustratos. Las concentraciones de Pb, Cu y Zn variaron conjuntamente en los sedimentos de la marisma, mientras que en la planicie de marea sólo Zn y Cu mantuvieron esta relación.

Tabla 2.4: Coeficientes de correlación de Spearman entre MO, LA y las concentraciones de metales en sedimentos (*indica $p < 0,05$).

	Planicie de marea (N=8)					Marisma (N=15)				
	MO	LA	Pb	Cu	Zn	MO	LA	Pb	Cu	Zn
LA	0,930*					0,800*				
Pb	0,400	0,480				0,260	0,440			
Cu	0,690*	0,830*	0,290			0,640*	0,700*	0,720*		
Zn	0,710*	0,880*	0,400	0,930*		0,620*	0,670*	0,790*	0,970*	
Fe	0,290	0,330	-0,380	0,710*	0,480	0,840*	0,840*	0,290	0,550*	0,550*

2.2.2. Evaluación del grado de contaminación de los sedimentos

La aplicación de los tres índices de contaminación (EF, CF e Igeo) mostraron los siguientes patrones: el sitio PM1 presentó enriquecimiento significativo de Pb, Cu y Zn. Alejándose de la fuente de contaminación, los EF disminuyeron para Cu y Zn

rápidamente, mientras que el EF para Pb indicó enriquecimiento moderado hasta el sitio PM4. Un patrón similar se observó en los sedimentos de la marisma, donde el sitio MA1 presentó enriquecimiento significativo sólo para Pb. Cu presentó los EF menores en toda la Bahía (Figura 2.2.A). En el caso del CF sólo los sedimentos del sitio más interno del canal Encerrado (PM1 y MA1) presentaron contaminación moderada. Pb y Zn en PM1 y Pb en MA1 alcanzaron niveles de contaminación considerable (Figura 2.2.B). Para el Igeo en ningún caso los valores exceden la unidad, indicando baja o nula contaminación, sin embargo tanto PM1 como MA1 son positivos para los tres metales y Pb en PM2 y PM3 son positivos (Figura 2.2.C). De acuerdo con los índices empleados, el sitio más interno del Canal (PM1 y MA1) se encontró moderadamente enriquecido y esta situación disminuye a medida que las estaciones se alejan del fondo del Canal. En sitios externos a éste no se evidenció enriquecimiento.

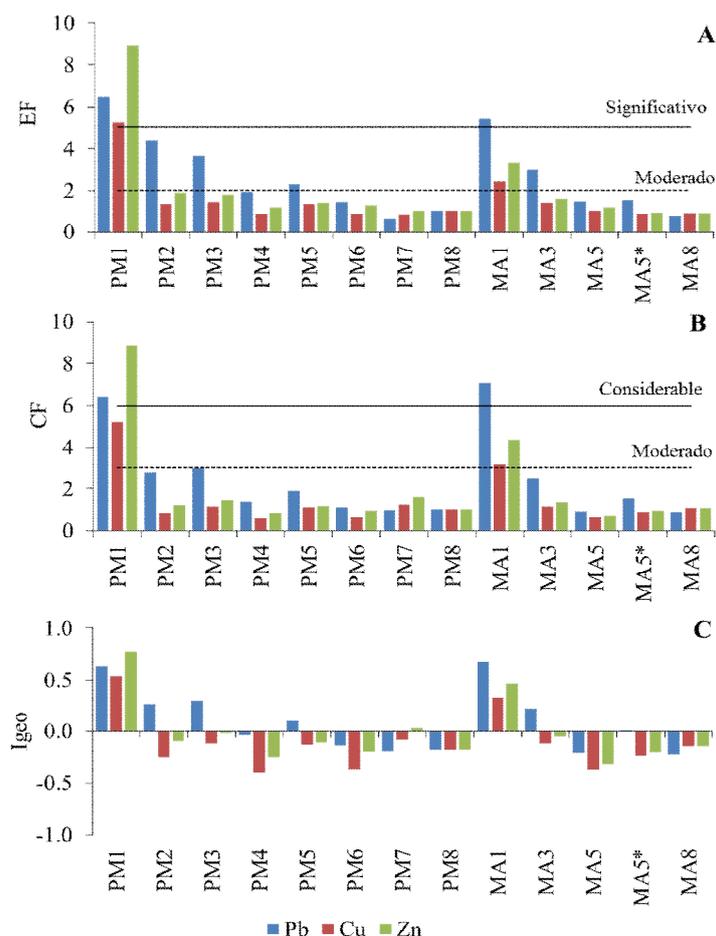


Figura 2.2: A. Factor de enriquecimiento (EF), B. Factor de contaminación (CF) y C. Índice de geoacumulación (Igeo) en sedimentos de la BSA.

2.2.3. Concentraciones biodisponibles de metales en sedimentos

Los rangos de concentración de metales biodisponibles en la fracción granulométrica <2mm, fueron Pb <5,0-31,2 mg/kg; Cu <0,6-16,9 mg/kg; Zn 1,6-144,6 mg/kg y Fe 0,07-0,23% (Figura 2.5). En el caso de Cu y Zn representaron alrededor del 80% de la concentración pseudototal en los sitios PM1 y MA1 y del 20% en los demás sitios. En el caso del Pb la contribución al contenido pseudototal varió entre 70 y 95% en los sitios del canal Encerrado (PM1 a PM4) y el Puerto SAE (PM7) y fue menor al 10% en los demás sitios. Finalmente, el Fe fue el menos móvil en todos los casos (10-20%).

Los rangos de las concentraciones biodisponibles en la fracción limo-arcillosa (<63µm) fueron Pb <5,0-52,9 mg/kg; Cu 1,03-27,7 mg/kg; Zn 6,8-245,5 mg/kg y Fe 0,13-0,74%, superándose los valores ISQGs de Pb y Zn en PM1 y MA1 y de Cu en PM1 (Figura 2.3). En general se observó que el contenido lábil en este tamaño de grano fue el doble que en la fracción (<2 mm). Dicho patrón es atribuible a la afinidad de los metales por las partículas finas del sedimento y a la dilución que existe por el bajo contenido de limo-arcilla en los sedimentos.

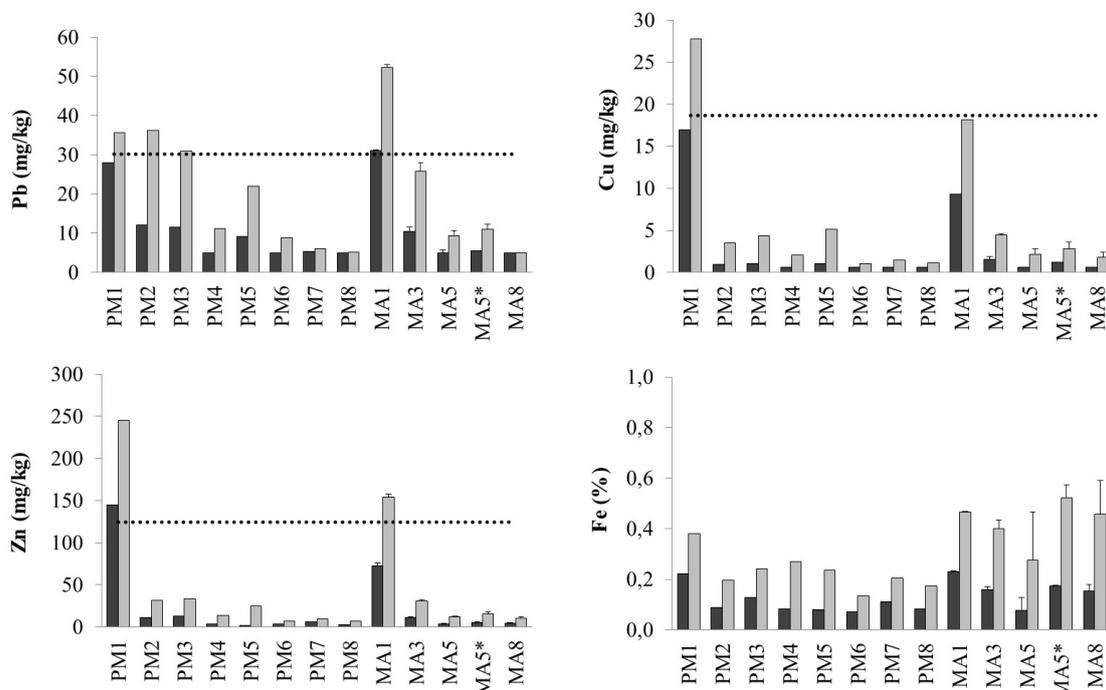


Figura 2.3: Concentración biodisponible de metales en sedimentos de la BSA, en la fracción <2mm (negro) y <63 µm (gris). Valores ISQGs en línea punteada (PM N=1 y MA N=3). Cd <LD en todos los sitios.

2.2.4. Integración de las variables en sedimento

La matriz de datos para el análisis de componentes principales (ACP), incluyó las siguientes variables: los porcentajes de MO y de LA y las concentraciones pseudototales (<2 mm) y biodisponibles (<2 mm y <63 μm) de los metales. Se consideraron todas las muestras (23 casos). Se extrajeron 2 componentes que explicaron el 88% de la varianza total. CP1 (57%) mostró una relación positiva con Zn, Cu y Pb (concentraciones pseudototal y lábil), mientras que CP2 (31%) se asoció positivamente con MO, LA y Fe.

Los sitios dentro del canal Encerrado (excepto PM4) se posicionaron sobre el eje positivo de CP1, indicando sedimentos enriquecidos con metales, siendo el más enriquecido el sitio 1, tanto en la planicie de marea como en la marisma (Figura 2.4.A). Los sitios fuera del Canal se posicionan en el eje negativo del CP1, indicando un menor contenido de metales. Por otro lado, el CP2 identificó a los sitios MA8 y MA5* como los de mayor contenido de Fe respecto de los demás. Los sedimentos MA5* y MA8 (sedimentos asociados a *S. alterniflora*) presentaron mayor contenido de MO y de Fe en relación a las planicies de marea adyacentes (PM5 y PM8). En sitios donde coexisten *S. densiflora* y *S. alterniflora* (MA5 y MA5*, respectivamente) los sedimentos de marisma baja (MA5*) tuvieron mayores contenidos de MO y Fe.

El análisis de conglomerados arrojó un resultado similar separando cuatro grupos; por un lado, el sitio más interno al canal Encerrado formó el primer grupo (Figura 2.4.B), evidenciando su mayor contenido metálico respecto de los demás sitios. Luego se agruparon los sitios PM2, PM3 y MA3 formando el segundo grupo, debido principalmente a sus contenidos intermedios de metales. Un tercer grupo lo formaron los sitios PM4, PM5, PM6, PM8 y MA5 con menor contenido de metales y condiciones oxidantes respecto del cuarto grupo que presentó mayor contenido de Fe y de MO, agrupando los sitios MA5*, MA8 y PM7.

El análisis global indica que la contaminación por metales en BSA al momento de este estudio está restringida al canal Encerrado. Los niveles de metales en sedimentos de la marisma no difieren de los niveles en la planicie de marea adyacente, por lo que en esta zona la capacidad de retención de metales en la marisma no parece ser significativa. Por otra parte, la distribución general de los metales dentro de la Bahía se asocia principalmente con la distancia a la fuente y no parece acompañar a la distribución de MO y LA. En ese sentido, el bajo contenido de MO y el predominio de la fracción

arenosa que se observaron, resultarían de los procesos físicos como el viento y las corrientes de reflujos, que contribuyen a la dispersión y transporte neto de material fino fuera de la Bahía (Aliotta et al. 2000) y con él, posiblemente a la exportación de metales.

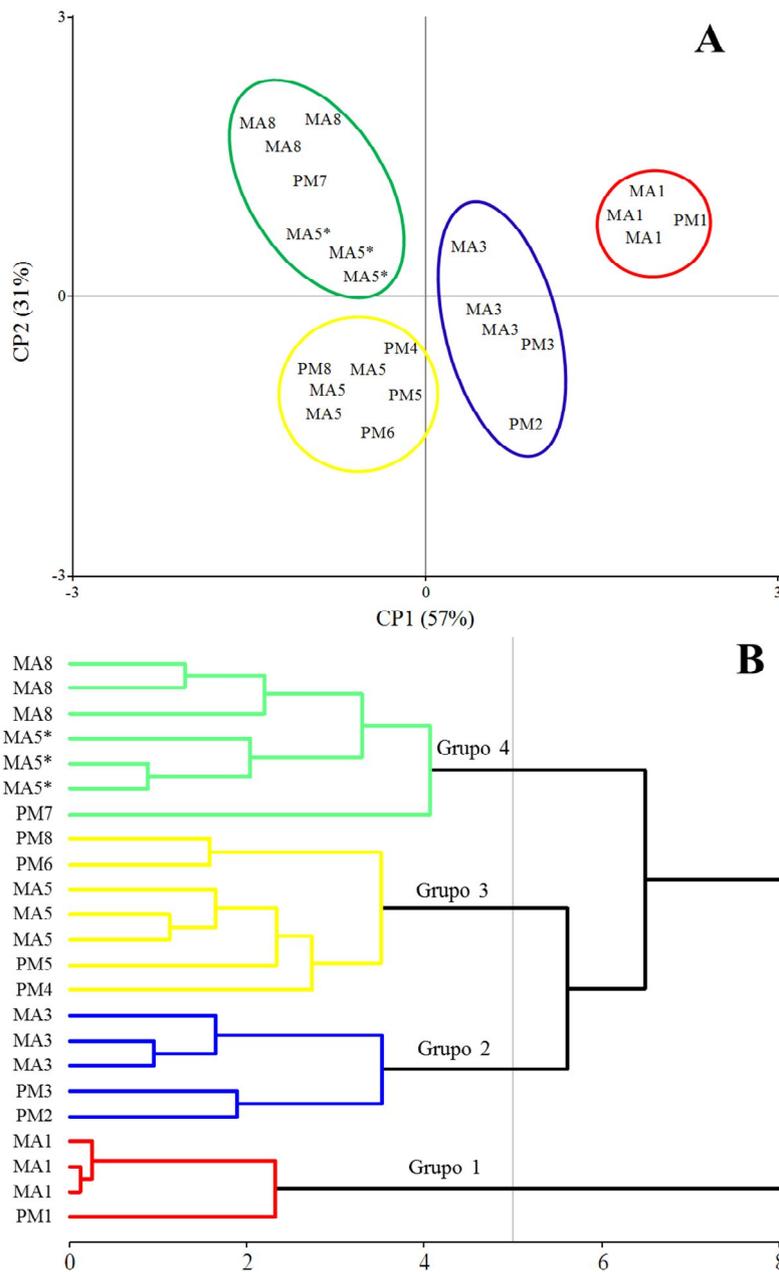


Figura 2.4: A. Análisis de componentes principales: PC1 asociado a la concentración de metales (contaminación por metales) y PC2 asociado al contenido de MO, LA y Fe. B. Análisis de conglomerados, usando encadenamiento completo y la distancia euclídea.

2.2.5. Evolución de las concentraciones registradas en sedimentos de la BSA

La tabla 2.5 muestra concentraciones de metales que han sido reportadas para sedimentos de algunas zonas costeras de la Patagonia con diferente grado de impacto antrópico. Como puede observarse, tanto las concentraciones de metales biodisponibles como pseudototales en general son bajas. Aun cuando los niveles más elevados se reportan en zonas portuarias, como por ejemplo en Comodoro Rivadavia en el golfo San Jorge, en Puerto Madryn en el golfo Nuevo y en San Antonio Este en el golfo San Matías, las concentraciones de Pb, Cu y Zn en el canal Encerrado las superan.

Tabla 2.5: Concentraciones de metales en sedimentos en la costa Patagónica.

Concentración biodisponible en la fracción <63 µm					
	Cd	Pb	Cu	Zn	Fe (%)
BSA (este estudio)	<0,25	<5,0-52,9	1,3-27,7	6,8-245,5	0,13-0,74
Bahía Nueva ¹	<0,25	8,7-17,5	5,98-13,95	37,63-44,23	0,30-0,58
Golfo San Jorge ²	<0,25	<5,0-5,6	<0,62-2,24	0,87-9,98	0,00-0,39
Costa de Chubut ³	0,16-0,57	2,6-16,4	0,20-6,47	0,35-49,89	0,08-0,29
Costa Patagonia ⁴	Nd	nd-32	1,8-23,8	6,8-54,9	sd
Concentración pseudototal ^b en la fracción <2 mm					
BSA (este estudio)	<0,25	<5,0-41,2	2,4-22,9	15,1-211,9	0,8-2,13
Golfo San Jorge ²	<0,25	<5,0-5,5	<0,6-7,0	7,9-46,5	0,12-1,57
Costa de Chubut ³	<0,16-1,30	<2,6-23,7	1,5-6,7	5,2-47,7	0,57-1,45
Golfo San José ^{5a}	<0,1-0,4	4,2-7,4	3,2-7,6	15-38	0,9-1,7
Golfo Nuevo ^{5a}	<0,03-0,3	5,5-13,1	2,7-13,5	13-64	0,8-2,9
Canal Beagle ⁶	Nd	1,5-37,6	2,1-27,0	19,3-74,7	2,5-7,13

Referencias: 1. Giarratano et al. 2013; 2. Marinho et al. 2011; 3. Mohamed 2008; 4. Gil et al. 1999; 5. Harvey et al. 1988; 6. Amin et al. 1996. a: fracción <63 µm, b: Pseudototal: en la mezcla de ácidos para la digestión no se utilizó HF, nd: no detectable, sd: sin dato.

En particular, al comparar las concentraciones biodisponibles (<63 µm) medidas en este estudio, con las previamente informadas en la BSA, se observó una disminución en las concentraciones de las estaciones más lejanas a la fuente de contaminación (Pila) (Figura 2.5). Las concentraciones extremas medidas por Gil et al. (1999) corresponden al sitio más interno del canal Encerrado, al puerto San Antonio Oeste y al puerto San Antonio Este. En los años posteriores, inclusive en este estudio, las concentraciones registradas fueron menores y más homogéneas, salvo la perteneciente al sitio más interno al Canal (PM1) que mostró niveles del mismo orden que los informados por Vázquez et al. (2007). Esto podría indicar, que si bien, la fuente de contaminación sigue existiendo, los niveles de metales en los sedimentos no han aumentado, coincidente con

un menor aporte de material desde la Pila y/o una exportación de las partículas enriquecidas fuera de la Bahía.

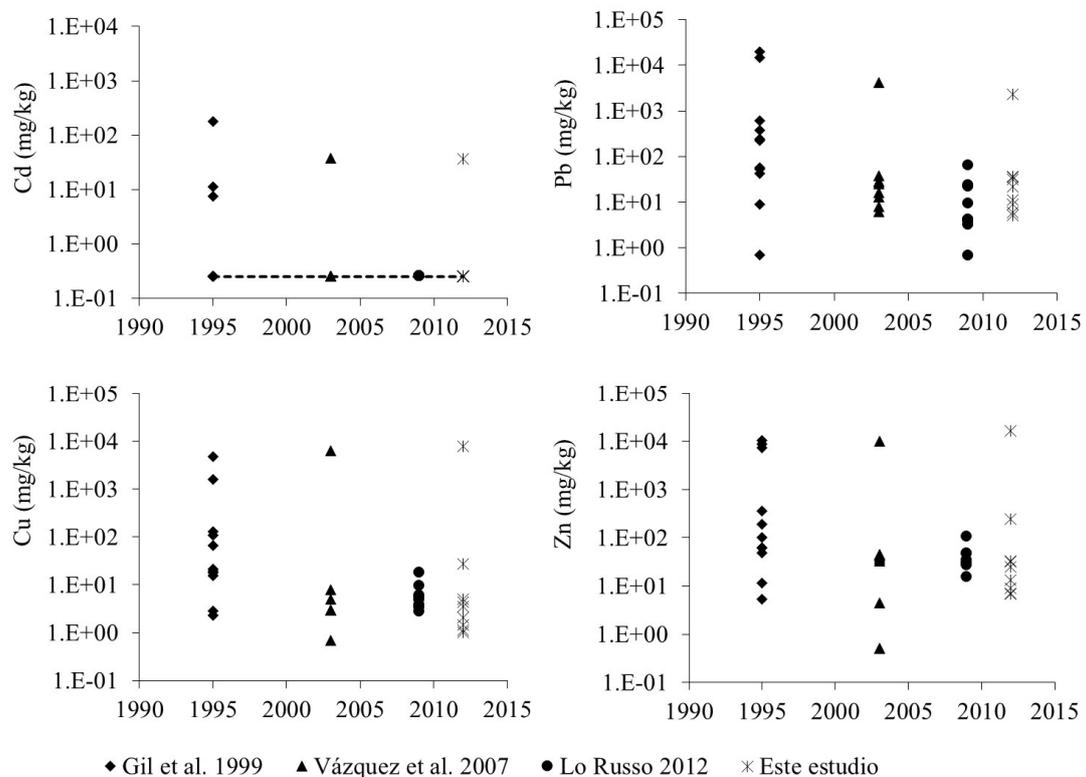


Figura 2.5: Concentración biodisponible de metales en sedimentos de la BSA (<63 μm). Valores máximos corresponden a suelos de la Pila. Fe no fue medido por estos autores. Línea punteada corresponde al LD del Cd.

3. CONCLUSIONES

Las concentraciones de metales traza y/o pesados en la BSA se ven influenciadas por el aporte de los depósitos mineros dispersos en los alrededores de la localidad de SAO. Estos residuos no cuentan con una apropiada disposición final, por lo que resultan peligrosos y se ha recomendado desde hace varios años su remediación. Si bien se ha firmado un convenio para la remediación del lugar el 14 de enero de 2015, se han postergado reiteradamente los plazos para este proyecto y el problema hoy sigue vigente.

En este capítulo se ha demostrado que el enriquecimiento de metales en la Bahía actualmente se restringe al canal Encerrado, sitio de mayor impacto por la cercanía a la fuente. En esta zona, sólo existe vegetación en marisma media-alta en pequeños parches, con pocas posibilidades de influir sobre los ciclos de metales en sedimentos. Aun cuando la hidrodinamia de la Bahía hubiese contribuido a la exportación de partículas finas con metales, la permanencia de sedimentos enriquecidos dentro del

Canal, sigue representando un riesgo potencial para la flora y la fauna de este ecosistema.

En los siguientes capítulos se evalúa la distribución de metales en diferentes fracciones en el sedimento de la BSA y las concentraciones de metales en organismos para llegar a un análisis más exhaustivo del alcance de estos elementos en el ambiente.

CAPÍTULO III

Evaluación de la movilidad potencial de Cd, Pb, Cu, Zn y Fe a través del análisis de su partición geoquímica en sedimentos de marisma.

1. INTRODUCCIÓN

Los metales en el suelo y/o sedimento pueden estar presentes de muchas formas geoquímicas: libres o como iones complejados en fase acuosa intersticial; iones retenidos en superficies cargadas (donde son intercambiables o específicamente adsorbidos); formando carbonatos e hidróxidos de metales (Cd, Cu, Pb, etc.); los asociados con oxi-hidróxidos de Fe y Mn e hidróxidos de Al; unidos a materia orgánica o a sulfuro; incorporados en las estructuras de los silicatos y minerales primarios resistentes. La importancia de conocer el potencial de removilización de los metales asociados a partículas sedimentarias radica en su efecto sobre la biodisponibilidad y toxicidad. Las formas intercambiables son las más inestables y ambientalmente disponibles, mientras que la fracción residual es la más estable y de influencia ecológica despreciable. Las fracciones unidas a los oxi-hidróxidos de Fe y Mn y la materia orgánica son las más susceptibles de ser movilizadas por cambios en las condiciones ambientales, principalmente pH y Eh (Peng et al. 2009).

Las diferentes fracciones geoquímicas son definidas operacionalmente y dependen del esquema de extracción usado. La Comisión de la Comunidad Europea desarrolló un método de extracción secuencial (BCR, ya mencionado en el Capítulo I) cuyo protocolo permite separar los metales presentes en suelos y/o sedimentos en cuatro fracciones: fracción soluble en medio ácido (metales intercambiables y asociados a carbonatos), fracción reducible (metales asociados a los oxi-hidróxidos de Fe y Mn), fracción oxidable (metales asociados a materia orgánica y sulfuros) y fracción residual (metales asociados a la red cristalina) (Ure et al. 1993; Mossop y Davidson 2003).

Fracción intercambiable y unida a carbonatos (F1): Esta fracción incluye los metales disueltos en el agua intersticial, los complejados con materia orgánica soluble y los retenidos sobre superficies sólidas por interacciones electrostáticas débiles. Estos últimos pueden ser liberados por procesos de intercambio iónico y pueden coprecipitar con carbonatos presentes en el suelo y/o sedimento (Filguieras et al. 2002). La fracción intercambiable es una fracción adsorbida no específica, que puede ser reemplazada por cationes como K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} o NH_4^+ , desplazando metales traza y/o pesados sorbidos sobre sitios orgánicos e inorgánicos (Rao et al. 2008). La disminución del pH también causa cambios en esta fracción, por cambios en las reacciones de adsorción-desorción (Filguieras et al. 2002) y aumento de la disponibilidad de protones para ocupar los sitios de sorción.

Fracción reducible, unida a hidróxidos de Fe y Mn (F2): Los oxi-hidróxidos de Fe y Mn se forman sobre las superficies minerales o partículas finas. Pueden ocurrir por una combinación de los siguientes mecanismos: precipitación, coprecipitación, adsorción, formación de complejos de superficie, intercambio iónico o penetración en la red cristalina (Filgueiras et al. 2002). Los cationes de metales traza y/o pesados se asocian a fases de oxi-hidróxidos de Fe y Mn por sorción en las superficies externas, por difusión en la fase sólida y por fijación a sitios dentro de las partículas sólidas (Rule 1998). Esta fracción representa una porción importante de los suelos y sedimentos. Es termodinámicamente inestable en condiciones anóxicas, ya que la reducción de Fe^{+3} y Mn^{+4} genera sales disueltas de Fe^{+2} y Mn^{+2} , lo que provoca la liberación de los metales adsorbidos (Filgueiras et al. 2002).

Fracción oxidable, unida a materia orgánica y sulfuros (F3): Los metales pueden estar asociados a procesos de complejación o bioacumulación con varias formas de material orgánico como organismos vivos, detritos o revestimientos sobre partículas minerales. En esta fracción, las sustancias orgánicas presentan un alto grado de selectividad por iones divalentes sobre monovalentes ($Hg > Cu > Pb > Zn > Ni > Co$) (Filgueiras et al. 2002), los que permanecen retenidos por largos períodos. Frente a un cambio hacia condiciones más oxidantes, los metales son liberados de esta fracción, por degradación de la MO y/o descomposición de sulfuros (Marin et al. 1997).

Fracción residual (F4): Incluye los metales que están unidos o forman parte de los minerales primarios (como olivino, piroxenos, anfíboles, micas, feldespatos y el grupo de la sílice, incluyendo el cuarzo) presentes en suelos jóvenes y de minerales secundarios (como minerales arcillosos o filosilicatos entre ellos ilita, clorita, vermiculita, esmectitas y caolinita) cuya proporción aumenta con la edad del suelo y/o sedimento y la acción del clima (Rule 1998).

En este capítulo se discute la distribución de metales (Cd, Pb, Cu, Zn y Fe) en el sedimento de la marisma de BSA en base a concentraciones pseudototales y partición geoquímica (Método BCR). Se consideraron tanto parches con vegetación (RIZO) como sin vegetación (SED) en los sitios MA1, MA3, MA5, MA5* y MA8, a lo largo de un año de muestreo (2013) y con frecuencia estacional.

Se utilizaron análisis no paramétricos, para comparar entre parches RIZO y SED se realizó la prueba de Mann Whitney (MW) y para comparar entre estaciones para cada parche en cada sitio la prueba de Kruskal Wallis (KW).

Para complementar los análisis anteriores y realizar una evaluación preliminar del patrón espacial de cada fracción geoquímica dentro de la Bahía, se aplicaron métodos multivariados tradicionales para sendas fracciones: análisis de componentes principales (ACP) y posterior análisis de conglomerados (AC). Por otro lado, se realizó un análisis más exhaustivo, que permitiese extraer de manera conjunta la totalidad de la información contenida en la matriz de 4 dimensiones [muestras x metales x fracciones x estaciones]. Para ello se utilizó un modelo quimiométrico Tucker4 (detalles del método y tablas de resultados en ANEXO B).

2. RESULTADOS

2.1. Caracterización de los sedimentos de la marisma de BSA

Los sedimentos de marisma de la BSA presentaron predominancia de la fracción arenosa (>54%). El mayor contenido de la fracción limo-arcillosa se observó en el sitio MA1 (6%), seguido de MA5 (4%). Los demás sitios mostraron un valor menor a 3%. En MA3 y MA5* se obtuvieron los porcentajes de grava más elevados (42% y 44% respectivamente) (Figura 3.1). De acuerdo a esta granulometría, los sedimentos de la marisma pueden definirse como grava arenosa en MA3 y MA5*-SED y arena gravosa en los demás sitios.

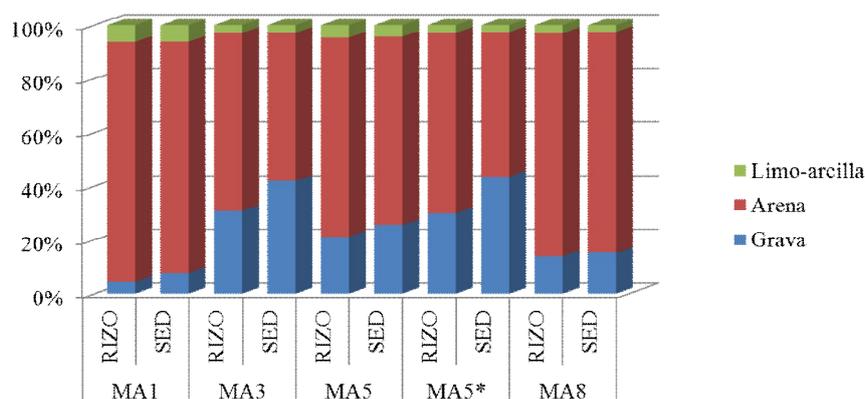


Figura 3.1: Porcentajes promedios de fracciones granulométricas en sedimentos de la BSA (N=12).

Los porcentajes de MO en la fracción limo-arcillosa variaron entre 2,7 y 5,1%, siendo mínima en MA5* y máxima en MA3. Este parámetro sólo presentó variación estacional en el parche MA5*-SED, siendo menor en otoño e invierno. Entre parches, para un mismo sitio, fue mayor en el parche RIZO de MA1 y MA5* (MW $p=,001$ y $p=0,009$, respectivamente) (Figura 3.2, Tabla 3.1).

El Eh y el pH son parámetros de mucha variabilidad, caracterizan al sedimento y el comportamiento que tendrán los metales en cuanto a su partición en las diferentes fracciones geoquímicas. El Eh en MA1, MA3 y MA5 fue mayor a 50 mV con pH entre 7,6 y 8,4. En MA5* y MA8 el Eh fue <100 mV, la mayoría negativos, con un pH entre 6,8 y 7,6 (Figura 3.2, Tabla 3.1).

El pH presentó poca variación estacional. Sólo se observaron diferencias significativas en MA1-RIZO (KW $p=0,046$), donde fue mayor en otoño y en MA5*-RIZO (KW $p=0,024$), donde fue mayor en primavera. Entre parches para cada sitio, se encontraron diferencias en MA1 (MW $p=0,006$), siendo mayor en SED.

La variación estacional del Eh fue más heterogénea. En general, en MA1, MA3 y MA5 fue menor en invierno. En MA1 tanto en RIZO como en SED (KW $p=0,019$ y $p=0,015$) y en MA3-SED (KW $p=0,031$) fue mayor en verano. En MA5-RIZO fue mayor en primavera-otoño (KW $p=0,033$). En MA5*-RIZO (KW $p=0,027$) fue mayor en otoño. En MA5* y MA8 el Eh presentó gran variabilidad. En MA8-RIZO fue mayor en otoño (KW $p=0,016$) y en MA8-SED fue mayor en primavera (KW $p=0,038$). Entre parches para el mismo sitio, fue mayor en MA5*-RIZO (MW $p=0,038$) (Figura 3.2, Tabla 3.1).

Los sitios MA1, MA3 y MA5 son zonas de marisma media-alta, mientras que los sitios MA5* y MA8 son zonas de marisma baja. Los primeros presentan condiciones de sedimento oxidantes y con pH ligeramente mayores en comparación con los sitios de marisma baja, que poseen condiciones anóxicas. El principal factor que marca esta diferencia es el período de inundaciones que sufre cada zona con las mareas. En el caso de las zonas de marisma media-alta son inundadas ocasionalmente, permitiendo una buena oxigenación del sedimento. Por otro lado, las zonas de marisma baja son inundadas diariamente durante largos períodos; el sedimento tiene poca disponibilidad de oxígeno, el cual es consumido por los organismos en los períodos de inundación. En cuanto al pH, la mayor evaporación que ocurre en marismas media-alta determina una acumulación de sales que resulta en el aumento de este parámetro. Estos sedimentos pueden presentar acumulación de sales marinas principalmente cloruro sódico. El agua de mar es alcalina por su gran contenido de sales, formadas principalmente por Cl^- , SO_4^{2-} , Na^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} y K^+ .

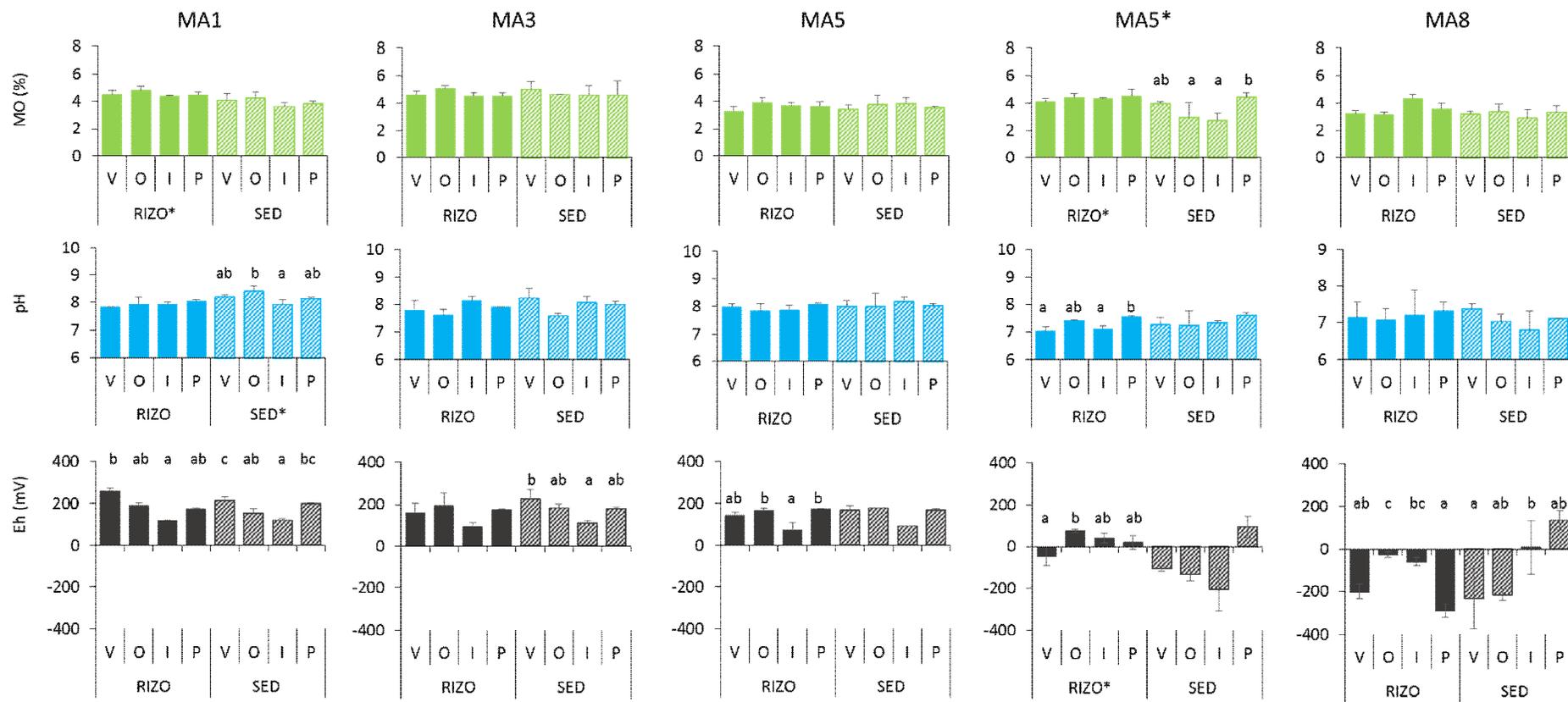


Figura 3.2: Variación estacional de la MO (%), el pH y el Eh (mV) en sedimentos (media±DE, N=3). Barras llenas: RIZO, barras rayadas: SED. Letras diferentes indican diferencias significativas entre estaciones para cada parche (KW p<0,05). *indica diferencias significativas entre parches (MW p<0,05).

Tabla 3.1: Porcentajes de MO[#], Eh y pH en sedimentos (media±DE, N=12). *indica diferencia significativa entre parches para un mismo sitio (MW p<0,05.)

Sitio	Parche	MO%	Eh (mV)	pH
MA1	RIZO	4,5±0,3*	186±53	7,9±0,1
	SED	4,0±0,4	173±40	8,2±0,2*
MA3	RIZO	4,7±0,3	155±53	7,9±0,3
	SED	4,7±0,6	175±49	8,0±0,3
MA5	RIZO	3,6±0,4	139±46	7,9±0,2
	SED	3,6±0,4	152±37	8,0±0,3
MA5*	RIZO	4,3±0,3*	23±53*	7,3±0,2
	SED	3,5±0,9	-79±130	7,3±0,4
MA8	RIZO	3,6±0,6	-144±114	7,2±0,4
	SED	3,2±0,5	-60±179	7,1±0,5

[#] fracción granulométrica <63 µm

2.2. Concentraciones pseudototales de metales en marisma

Las concentraciones pseudototales de Cd en sedimentos de marisma de la BSA variaron entre 0,22 y 0,45 mg/kg; la mínima fue registrada en MA5* y la máxima en MA8. La mayor variabilidad se observó en MA8. En MA1 la variación estacional fue significativa tanto en RIZO (KW p=0,027) como en SED (KW p=0,024) y en MA3 sólo en RIZO (KW p=0,016). Las concentraciones mayores se observaron en invierno-primavera. Las concentraciones entre parches para cada sitio no presentaron diferencias significativas, excepto en MA5* (MW p=0,002) donde fue mayor en RIZO (Figura 3.3, Tabla 3.2).

Las concentraciones pseudototales de Pb variaron entre 3,5 y 35,1 mg/kg; la mínima fue registrada en MA8 y la máxima en MA1. Los niveles en los sitios MA1 y MA3 fueron dos veces más altos que en los restantes. En MA8-RIZO las concentraciones fueron mayores en verano (KW p=0,025). Entre parches para un mismo sitio, las concentraciones fueron mayores en RIZO en MA1, MA5, MA5* y MA8 (MW p<0,001; p=0,007; p<0,001 y p=0,043, respectivamente). En MA3 no hubo diferencias significativas entre parches, sin embargo las concentraciones fueron mayores en SED (Figura 3.3, Tabla 3.2).

Las concentraciones pseudototales de Cu variaron entre 4,1 y 15,3 mg/kg, la mínima fue registrada en MA5* y la máxima en MA1. Solo presentó variación estacional significativa en MA5*-SED (KW p=0,050), donde los valores fueron mayores en primavera y mínimos en otoño-invierno. Entre parches para cada sitio, las concentraciones fueron mayores en RIZO, siendo significativas en los sitios MA1,

MA5* y MA8 (MW $p < 0,001$; $p = 0,013$ y $p = 0,003$ respectivamente) (Figura 3.3, Tabla 3.2).

Las concentraciones pseudototales de Zn variaron entre 26,4 y 103,5 mg/kg, la mínima se registró en MA8 y la máxima en MA1. En el parche MA3-RIZO las concentraciones fueron mayores en invierno (KW $p = 0,038$). En MA5 tanto RIZO como SED presentaron variación estacional significativa (KW $p = 0,034$ y $p = 0,044$, respectivamente), siendo las concentraciones mayores en invierno-primavera. En el parche MA8-SED los niveles fueron más elevados en primavera (KW $p = 0,031$). Entre parches para un mismo sitio, en MA1 y MA5* fueron mayores en RIZO (MW $p < 0,001$ y $p = 0,008$ respectivamente), mientras que en MA3 (MW $p = 0,007$) en SED (Figura 3.3, Tabla 3.2).

Por último, las concentraciones pseudototales de Fe variaron entre 0,98 y 1,56%, la mínima se registró en MA5* y la máxima en M8. En los parches MA1-SED y MA3-RIZO las concentraciones fueron mayores en invierno (KW $p = 0,040$ y $p = 0,019$ respectivamente). En MA5, RIZO y SED, las concentraciones fueron mayores en invierno (KW $p = 0,019$ y $p = 0,024$, respectivamente). Las concentraciones entre parches para cada sitio no mostraron diferencias significativas, excepto para MA5* (MW $p < 0,001$) donde fueron más altas en RIZO (Figura 3.3, Tabla 3.2).

Tabla 3.2: Concentraciones pseudototales de metales en sedimentos[#] (media \pm DE en mg/kg, N=12).
*indica diferencia significativa entre parches para un mismo sitio (MW $p < 0,05$).

Sitio	Parche	Cd	Pb	Cu	Zn	Fe (%)
MA1	RIZO	0,33 \pm 0,03	27,8 \pm 11,4*	13,9 \pm 2,5*	85,6 \pm 20,8*	1,46 \pm 0,08
	SED	0,33 \pm 0,04	8,7 \pm 4,3	9,3 \pm 1,2	46,5 \pm 8,8	1,42 \pm 0,08
MA3	RIZO	0,29 \pm 0,03	18,5 \pm 1,7	8,8 \pm 0,5	49,6 \pm 2,0	1,31 \pm 0,07
	SED	0,30 \pm 0,04	22,6 \pm 8,6	9,5 \pm 1,2	55,4 \pm 5,9*	1,33 \pm 0,09
MA5	RIZO	0,29 \pm 0,03	7,7 \pm 0,4*	6,1 \pm 0,4	34,8 \pm 2,3	1,28 \pm 0,12
	SED	0,30 \pm 0,04	6,6 \pm 1,0	6,4 \pm 0,6	34,7 \pm 1,6	1,30 \pm 0,15
MA5*	RIZO	0,30 \pm 0,02*	7,6 \pm 0,5*	5,3 \pm 0,4*	33,6 \pm 1,5*	1,32 \pm 0,09*
	SED	0,26 \pm 0,04	6,2 \pm 0,8	4,6 \pm 0,7	30,6 \pm 2,6	1,03 \pm 0,07
MA8	RIZO	0,34 \pm 0,07	4,2 \pm 0,3*	6,2 \pm 0,8*	31,1 \pm 3,9	1,42 \pm 0,21
	SED	0,35 \pm 0,12	3,8 \pm 0,4	5,1 \pm 0,6	29,3 \pm 3,4	1,35 \pm 0,27

[#] fracción granulométrica $< 63 \mu\text{m}$

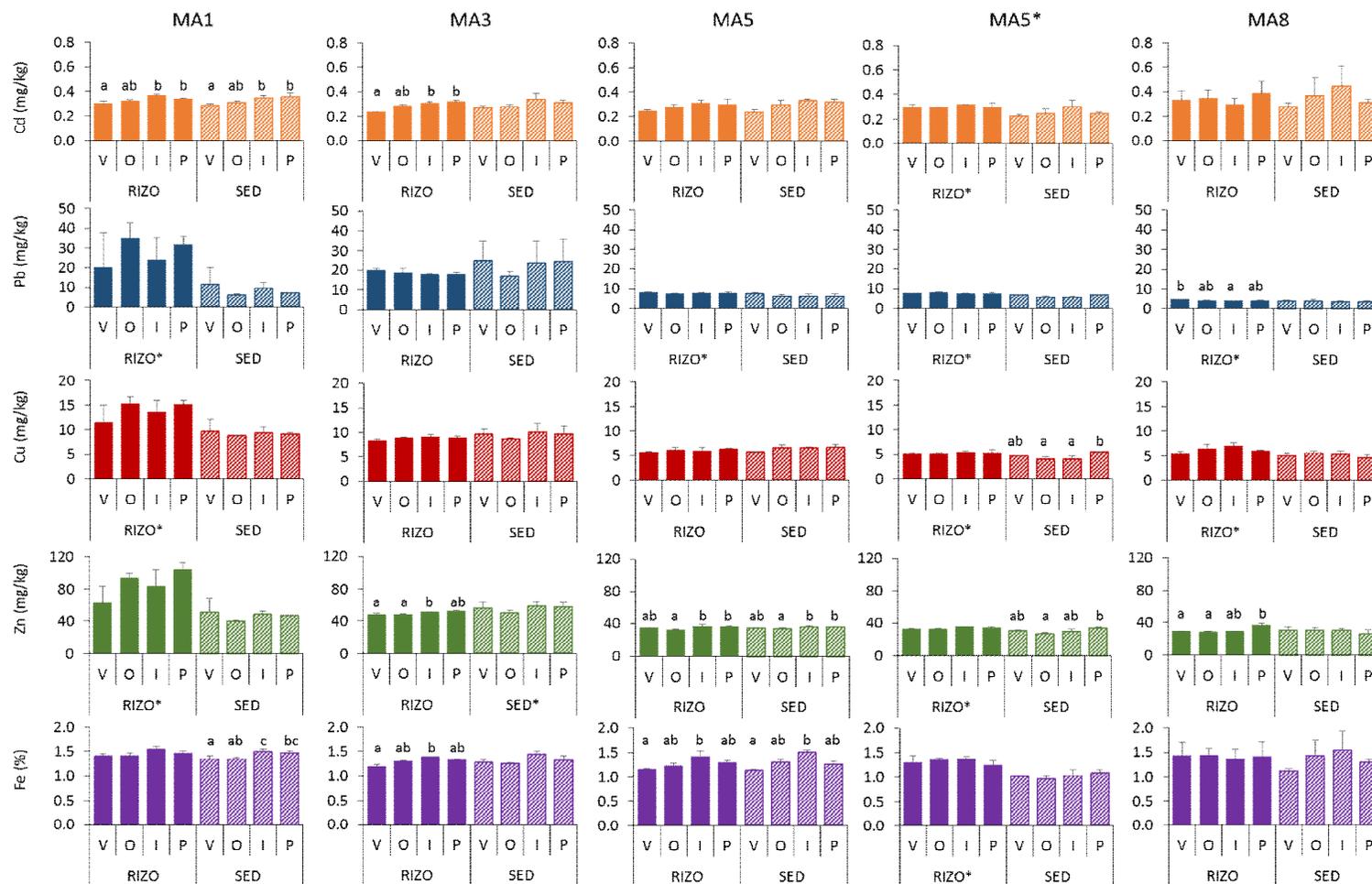


Figura 3.3: Variación estacional de las concentraciones pseudototales de metales en sedimentos (media±DE, N=3). Barras llenas: RIZO, barras rayadas: SED. Letras diferentes indican diferencias significativas entre estaciones para cada parche (KW $p<0,05$). *indica diferencias significativas entre parches para cada sitio (MW $p<0,05$).

2.3. Partición geoquímica de metales en sedimentos de marisma

Los porcentajes de Cd en las diferentes fracciones geoquímicas del sedimento mostraron el siguiente patrón: Intercambiable < Reducible < Oxidable < Residual. La fracción intercambiable fue <LD, excepto en SED-MA8 donde fue 17%. La fracción reducible varió entre <LD y 27%, en MA1 varió entre 15 y 27%, 18% en RIZO-MA3, 17% en RIZO-MA5* y <LD en los demás sitios. La fracción oxidable varió entre <LD y 48% y fue mayor en MA8. La fracción residual varió entre 35 y 100% (Figura 3.4).

En el caso del Pb, los porcentajes de las fracciones geoquímicas presentaron el siguiente orden: Intercambiable < Oxidable \approx Residual < Reducible. La fracción intercambiable fue <LD, excepto en RIZO-MA1 con 2%. La fracción reducible fue la más abundante (72-100%), siendo mayor en MA3. La fracción oxidable varió entre 6 y 14%, siendo mayor en MA5* y MA8. Por último, la fracción residual varió entre 2 y 17% (Figura 3.4).

El Cu presentó el siguiente orden de abundancia para las fracciones geoquímicas: Intercambiable < Oxidable < Reducible < Residual. La fracción intercambiable fue <LD en todos los sitios. La fracción reducible presentó porcentajes entre 17 y 39%, MA1 y MA3 presentaron los mayores porcentajes en esta fracción respecto de los demás sitios. La fracción oxidable varió entre <LD y 12%, detectable en MA1-RIZO y MA8. La fracción residual presentó valores entre 59 y 81% (Figura 3.4).

En el caso del Zn el orden de abundancia fue: Intercambiable \approx Oxidable < Reducible < Residual. Las fracciones menos abundantes, intercambiable y oxidable variaron entre 3 y 11% y fueron mayores en MA8. La fracción reducible presentó valores entre 17 y 57%, siendo mayor en MA1 y MA3. Finalmente, la fracción residual varió entre 35 y 66%, siendo mayor en MA5 (Figura 3.4).

Los porcentajes de Fe en las fracciones geoquímicas mostraron el siguiente patrón: Intercambiable < Oxidable < Reducible < Residual. La fracción intercambiable fue <1% en todos los sitios, aunque las concentraciones en MA8 y MA5* fueron mayores al resto. La fracción reducible varió entre 12 y 27%. La fracción oxidable varió entre 1 y 31 %, siendo mayor en MA8. La fracción residual varió entre 55 y 82%, siendo mayor en MA1, MA3 y MA5. En MA8 la fracción oxidable superó a la fracción reducible y la fracción residual fue menor a los demás sitios (Figura 3.4).

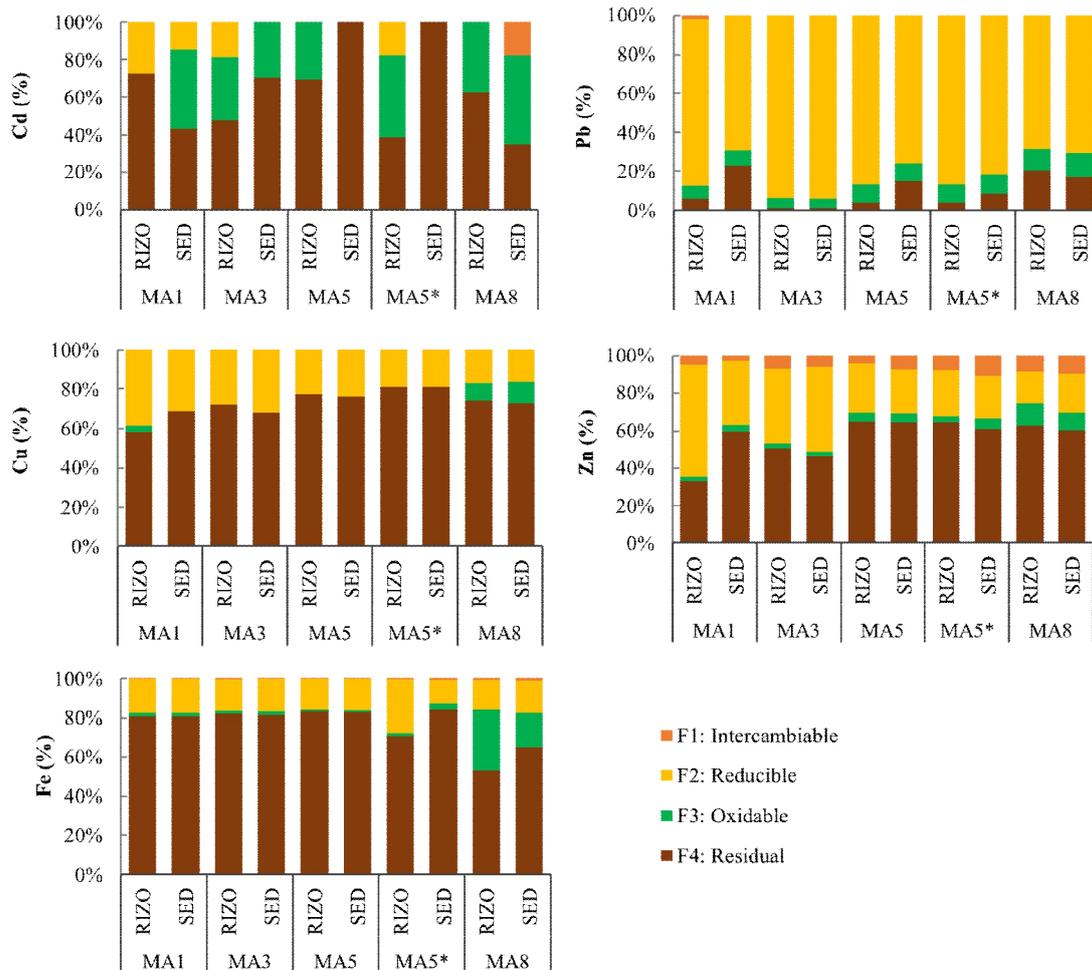


Figura 3.4: Porcentajes promedio de metales en las fracciones geoquímicas para cada metal (N=12), sin considerar los valores <LD.

Para una mejor comprensión de los sistemas se analizó cada fracción geoquímica mediante análisis de componentes principales (ACP) en conjunto con análisis de conglomerados (AC). En el ACP para la fracción intercambiable y carbonatos (Figura 3.5.A) se observó que Eh, pH y MO se asociaron positivamente con el PC1 (39,4%) y Fe y Cd negativamente. Por otro lado, Zn y Pb se asociaron positivamente con el CP2 (22,1%), Cu no se consideró por presentar concentraciones <LD en esta fracción en todas las muestras. Los sitios MA8 y MA5* se caracterizaron por un mayor contenido de Fe y Cd y condiciones reductoras del sedimento frente a los sitios MA1, MA3 y MA5, los cuales están claramente más oxidados. Para cada sitio las parejas de RIZO y SED estuvieron cercanas entre sí, excepto para el sitio MA1, donde la variabilidad estuvo representada por las concentraciones de Pb y Zn mayores en el RIZO respecto del SED. Esto también puede observarse en el AC donde por un lado se separan los sitios anóxicos (MA5* y MA8) y por otro los sitios oxidados.

El ACP para la fracción reducible (Figura 3.5.B) con dos componentes principales, explicó un 68,4% de la variación total. Pb, Cu y Zn mostraron una fuerte asociación representados en CP1, junto con Eh, pH y MO (47,9%). Con el CP2 (20,5%) se asociaron Cd y Fe. En esta fracción los sitios MA5, MA5* y MA8 presentaron menores concentraciones respecto de MA1 y MA3 sobre CP1. El parche MA1-RIZO presentó un mayor contenido metálico respecto de su par SED. Sobre el CP2, el parche MA5*-RIZO presentó un mayor contenido de Fe y Cd que el parche SED. En el AC se observa cómo el parche MA1-RIZO forma un grupo individual diferenciándose principalmente por su mayor contenido metálico.

Por otro lado, el ACP para la fracción oxidable (Figura 3.5.C) explica un 67,2% de la variación total. El CP1 (44,0%) se asoció positivamente con las concentraciones de Fe, Cd, Cu y Zn y negativamente con Eh, pH y MO. El Pb se asoció al CP2 (23,2%). En este caso los sitios presentaron características similares, excepto en MA8 donde la dispersión fue mayor. Se separó del grupo dadas las características anóxicas del sedimento y niveles mayores de metales en esta fracción. Sobre el CP2 el parche MA1-RIZO se aleja de los demás por su mayor contenido de Pb. Esto también se observa en el AC, donde el par MA8 forma un grupo separado del resto de los sitios y el parche MA1-RIZO se separa del resto de los parches.

Finalmente, el ACP para la fracción residual (Figura 3.5.D), asocia en el CP1 (46,2%) a Fe, Cu, Zn, pH, Eh y MO y en el CP2 (17,3%) asocia Pb y Cd. Los sitios se separan entre marisma baja (MA5* y MA8) y marisma media-alta (MA1, MA3 y MA5) sobre el CP1, siendo estas últimas las que presentaron un mayor contenido de metales en la fracción residual. En cuanto al CP2, los sitios mostraron poca variación respecto del contenido de Cd y Pb. Los parches para cada sitio se presentaron cercanos entre sí. El AC muestra claramente esta situación.

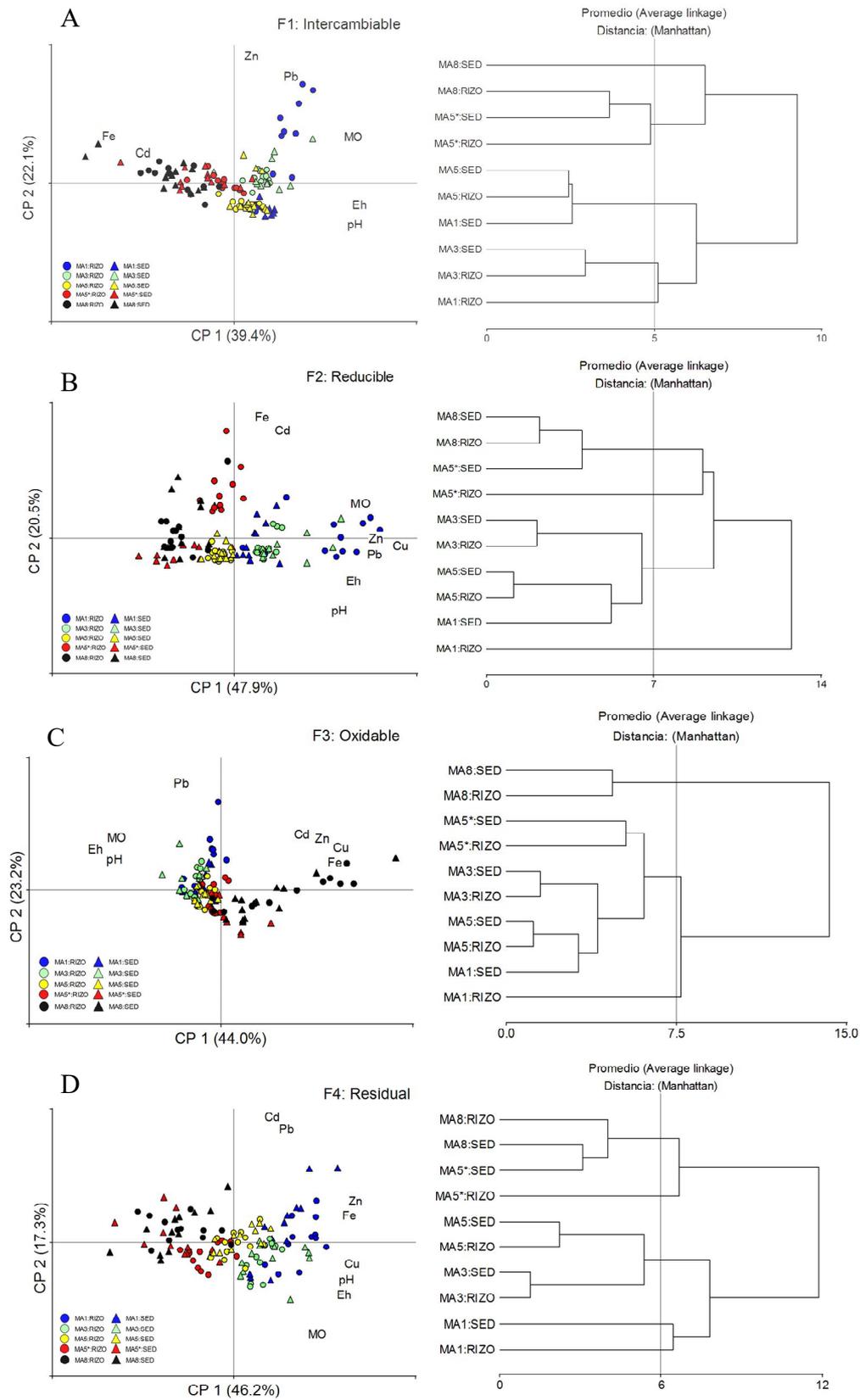


Figura 3.5: ACP y AC para las concentraciones de metales en sedimentos A. fracción intercambiable, B. fracción reducible, C. fracción oxidable y D. fracción residual.

Como análisis adicional se realizó un ACP considerando la fracción no residual (F1+F2+F3) a modo de resumen (Figura 3.6). El ACP con dos componentes principales explicó un 67,6%. Al CP1 se asociaron Cu, Pb, Zn, MO, Eh y pH (47,2%) y al CP2 se asociaron Cd y Fe (20,4%). Respecto del CP1 se separaron los parches de MA3 y MA1-RIZO. Respecto de CP2 se separó el sitio MA8. En conjunto con el AC se observaron 3 grupos: por una lado, el sitio MA8 con el parche de MA5*-RIZO con bajo contenido metálico y condiciones anóxicas; otro grupo con MA5, MA5*-SED y MA1-SED que presentó concentraciones de metales intermedias y por último el sitio MA3 y MA1-RIZO con concentraciones más elevadas de metales y condiciones óxicas.

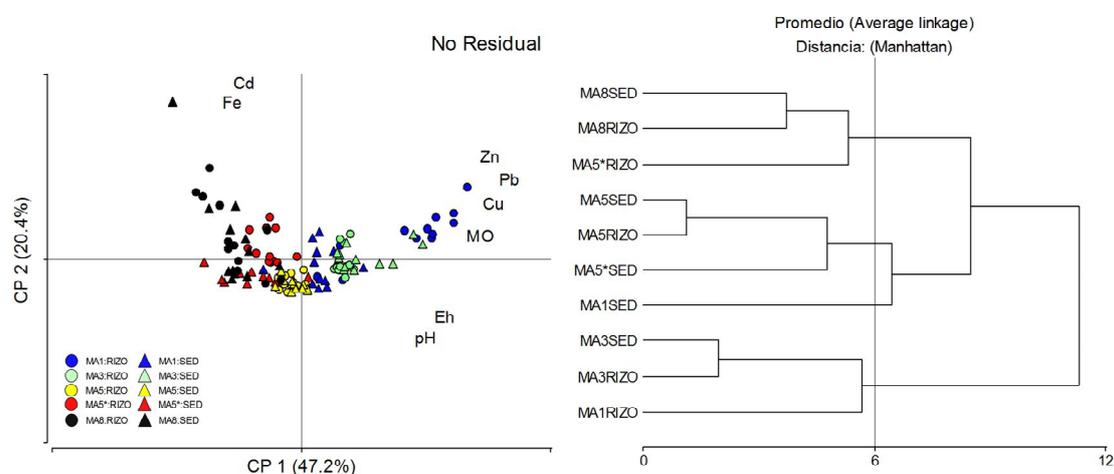


Figura 3.6: ACP para las concentraciones de metales en sedimentos de la fracción NO residual y AC por parche.

El análisis mediante Tucker4 mostró esta información de manera conjunta y más resumida (Detalle de los resultados ANEXO B). El modelo seleccionado fue [2 2 3 1] y explicó un 95% de la varianza de los datos experimentales. Para este modelo, las muestras y los metales presentaron dos factores significativos para el modo A y modo B, respectivamente, las fracciones 3 factores para el modo C y las estaciones un factor para el modo D (Figura 3.7). Se tomaron los 4 elementos más significativos del hiper cubo **G** para este modelo (Tabla 3.3) que explicaron un 92,4% de la varianza recogida en el hiper cubo **G**. La interpretación del modelo se realizó a través de la combinación de los factores y el signo que acompaña a cada elemento del *core*.

El primer elemento del *core* [1 1 1 1] explicó la relación de los factores A1, B1, C1 y D1, y contribuyó con un 63,19 % de la varianza. En este caso se relacionaron las muestras (A1), los metales (B1) y las estaciones (D1), todas con cargas negativas, con los valores de carga positivos de las fracciones (C1), dado que el elemento del *core* fue

negativo (-34,6). De esto, podemos interpretar que la interacción indicó que las muestras presentaron, en general, el mayor contenido en metales en la fracción residual (F4), con menor proporción el Pb.

La segunda interacción relacionó los factores A1, B2, C2 y D1 y explicó un 19,26% de la variación ($g=-19,1$). Las muestras (A1) y estaciones (D1) con cargas negativas se relacionaron con las cargas negativas de los metales (B2) y las cargas positivas de las fracciones (C2). Indicando en todas las muestras una fuerte relación del contenido de Pb y Zn con la fracción de oxi-hidróxidos de Fe y Mn (F2). Cu no se encontró asociado a ninguna fracción en particular. Cd y Fe se distribuyeron en las fracciones F1, F3, F4.

La tercer interacción combinó los factores A2, B1, C2 y D1 aportando un 5,57% de la variación ($g=10,3$). Los metales (B1) y las estaciones (D1) presentaron cargas negativas y se relacionaron con las cargas positivas de las muestras (A2) y las fracciones (C2). En esta interacción se observó que los parches MA1-RIZO, MA3-RIZO y MA-SED presentaron un mayor contenido de metales en la fracción de oxi-hidróxidos de Fe y Mn (F2).

Por último, la interacción de los factores A2, B2, C2 y D1 explicó un 4,35% de la variación ($g=9,1$). Nuevamente mostró la diferenciación de los parches MA1-RIZO, MA3-RIZO y MA-SED con un mayor contenido de Pb y Zn asociados a la fracción reducible.

Tabla 3.3: Elemento del hiper cubo **G**.

Elementos del núcleo (g)			
[A B C D]	Valores	Variación %	Acumulada%
[1 1 1 1]	-34.6	63.19%	63.19%
[1 2 2 1]	-19.1	19.26%	82.44%
[2 1 2 1]	10.3	5.57%	88.02%
[2 2 2 1]	9.1	4.35%	92.37%

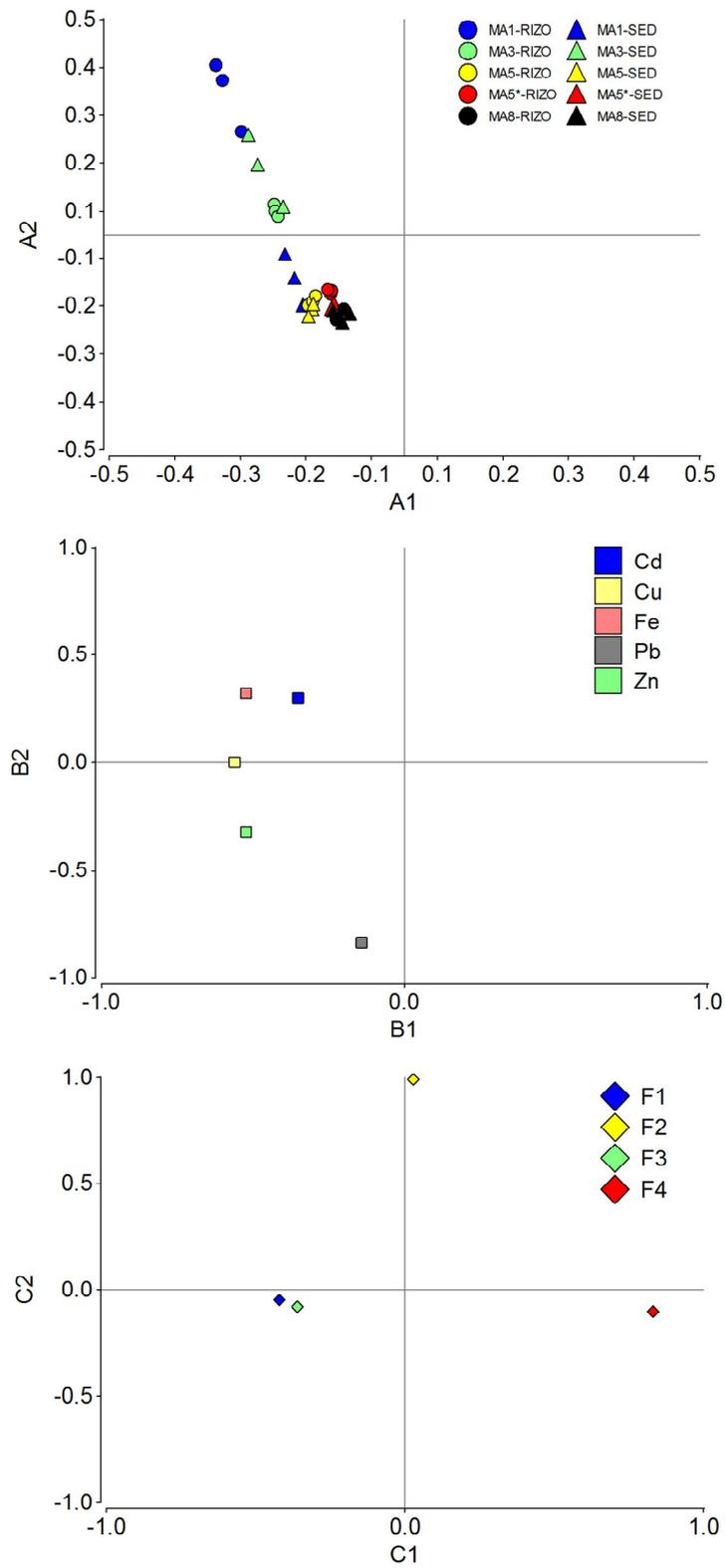


Figura 3.7: Cargas para cada modo: A. Muestras, B. Metales y C. Fracciones. El factor C3 del modo C no se muestra dado que en las interacciones seleccionadas no interviene. El modo D (estaciones) no se muestra, dado que solo presentó un factor.

3. DISCUSIÓN

Los sedimentos de marisma de BSA presentaron en general granulometría arenosa y bajo contenido de materia orgánica tanto en la fracción <2 mm (1,0-4,9%) como en la fracción <63 μm (2,2-4,7%), coinciden con los informados previamente 0,9-1,8% por Sal Moyano (2012). Se han reportado valores similares o mayores de MO en otras marismas de Argentina, como por ejemplo 3,8-4,1% en Mar Chiquita y 4,2-5,0% en Bahía Blanca, Buenos Aires (Sal Moyano 2012); 0,3-22% en las marismas de Fracaso y Riacho, Chubut (Ríos 2016). Otras marismas presentan contenidos mayores de MO como por ejemplo en marismas del estuario Tagus en Portugal informan entre 16-21% (Duarte et al. 2009; Pedro et al., 2015); 11-21% en el estuario Sui en Irlanda (Fitzgerald et al. 2003); 12-29% en el estuario Scheldt en Holanda (Du Laing et al. 2008). A diferencia de estas, el aporte exógeno de material particulado y materia orgánica hacia BSA es bajo. Las escorrentías son casi inexistentes dadas las escasas lluvias de la región, no existen aportes fluviales y las descargas de aguas residuales se limitan al efluente de una planta pesquera, que ingresa intermitentemente.

Los minerales arcillosos, la materia orgánica y los óxidos e hidróxidos de metales son grupos que participan en varias reacciones de sorción de cationes metálicos. Así, en un suelo o sedimento no contaminado, las concentraciones de metales en la fase acuosa son muy bajas. Cuando las concentraciones de metales en el suelo o sedimento aumentan notablemente sobre los niveles de fondo, los *sitios* específicos de adsorción se saturan y los cationes metálicos excedentes no son retenidos y se incrementan en el medio (Rule 1998).

La fracción F1 (metales intercambiables y unidos a carbonatos) representa la más lábil y por lo tanto la más peligrosa para el ambiente. Sin embargo, en sedimentos de la BSA, Cu no fue detectado en esta fracción y los metales no esenciales (Cd y Pb) tampoco lo fueron en la mayoría de los sitios. Las excepciones fueron Cd en la marisma baja (MA8) y Pb en la marisma alta (MA1). Zn y Fe en cambio, estuvieron presentes en esta fracción en todos los sitios. En los sedimentos anóxicos de MA5* y MA8 se midieron concentraciones de Fe más elevadas que en los sitios oxidados, esto podría deberse a las condiciones reducidas del sedimento que favorecen que el Fe se encuentre como Fe^{+2} . Algunos autores han informado que ciertas formas débiles de FeS podrían liberarse durante la extracción de la F1 (Larner et al. 2008; Botsou et al. 2015), lo cual explicaría dicha observación.

Los oxi-hidróxidos de Fe y Mn son importantes sorbentes para elementos traza, inicialmente en forma de uniones intercambiables, que con el paso del tiempo se vuelven menos móviles, adsorbidos específicamente (Rao et al. 2008). En concordancia con la literatura, que reporta una gran afinidad del Pb por estas fases (Morillo et al. 2004; Cuong y Obbard 2006), este fue el elemento más abundante en la fracción reducible (F2), siguiendo en orden Cu y Zn

En la fracción unida a MO y sulfuros (F3) se observó un mayor porcentaje para Cu, Zn y Fe en sitios anóxicos. Contrario a lo que se describe en la literatura, la mayor proporción de Cu no se encontró en esta fracción sino en la F2, a pesar de su afinidad por la MO (Rule 1998; Tokalioglu et al. 2000; Morillo et al. 2004; Botsou et al. 2015). Esto puede deberse al relativamente bajo porcentaje de MO en los sedimentos de la BSA, que puede modificar su distribución.

Deben tenerse en cuenta las limitaciones de este método. En sedimentos anóxicos, el pretratamiento de las muestras puede provocar que parte de la fracción unida a materia orgánica y sulfuros se oxide y pase a la fracción intercambiable o reducible, mientras que los cambios en sedimentos óxicos son menos pronunciados (Larner et al. 2008). Por otro lado, el secado de las muestras puede acelerar la cristalización de sólidos como óxidos de Fe y Mn y promover la oxidación de Fe, Mn y S, causando un incremento en los metales unidos a oxi-hidróxidos de Fe y Mn en detrimento de la fase más lábil (fracción intercambiable y unida a carbonatos) (Bordas y Bourg 1998; Rao et al. 2008).

En cuanto a la fracción residual, se observó que fue la más abundante para todos los metales, excepto para Pb, reflejando para éste un origen principalmente antropogénico. Este elemento predominó en la fase reducible, donde presenta afinidad por los oxi-hidróxidos de Fe y Mn. Estos son sensibles al Eh y su disolución o precipitación puede liberar o retener al Pb respectivamente. Por otro lado, la MO disuelta también es un importante factor que controla la movilidad de este metal, manteniéndolo en solución o retenido en la fase sólida cuando los complejos orgánicos son sorbidos por los oxi-hidróxidos de Fe (Dong et al. 2000).

En términos generales, se sabe que en sitios no impactados los metales tienen predominancia en la fracción residual. En sitios contaminados con Cd, Cu, Zn y Pb se espera encontrar al primero en una proporción anormalmente alta en la fracción intercambiable y a los restantes en las fracciones de oxi-hidróxidos de Fe y Mn, en

particular al Pb (Rule 1998). Cuando los sedimentos presentan condiciones reductoras, por ejemplos cuando son inundados, generalmente favorecen la inmovilización de metales. Cuando existe suficiente MO y sulfatos, las condiciones reductoras favorecen la formación de sulfuros metálicos insolubles (Jacob y Otte, 2003).

El Código de evaluación de riesgos (RAC, por sus siglas en inglés) es un índice basado únicamente en la F1 (fracción intercambiable y unida a carbonatos), y ampliamente utilizado en la literatura. RAC < 1% indica que no existe riesgo para el ambiente, RAC = 1–10% indica riesgo bajo, RAC = 11–30% presenta un riesgo medio, RAC = 31–50% indica un riesgo alto y RAC > 50 refleja un riesgo muy alto, con metales en el sedimento que pueden ingresar fácilmente a la cadena trófica (Delgado et al. 2011; Saleem et al. 2015). De acuerdo a este código, el riesgo que presentan los sedimentos de la BSA es bajo para Pb (2%) en MA1-RIZO, medio para Cd (19%) en MA8-SED y bajo para Zn (3-11%) y Fe (<1%) en todos los sitios. En los casos donde las concentraciones de metales en esta fracción fueron menores al LD, no es posible calcular el riesgo según el RAC.

Es conocido que tanto el Cd como el Zn tienden a estar en las fracciones más lábiles, mientras que Pb y Cu suelen estar unidos a fracciones más estables (Sheoran y Sheoran 2006). Entre estos cuatro elementos, y de acuerdo con el RAC, Zn sería el metal con mayor movilidad y potencial biodisponibilidad para los organismos desde los sedimentos. En el caso del Cd, si bien no fue detectado en esta fracción, podría estar disponible en niveles por debajo del LD o bien encontrarse disuelto en la columna de agua.

Por otro lado, si bien la fracción F1 refleja la biodisponibilidad directa de los metales, tanto las fracciones reducible como oxidable constituyen fases que pueden liberar metales frente a cambios en las condiciones físicas y químicas del sedimento. Por tal motivo otro análisis útil es considerar el total de la fracción no residual (F1+F2+F3). En este caso, Cd superó el 50%, en MA1-SED, MA3-RIZO, MA5*-RIZO y MA8-SED; Pb superó el 80% en todos los sitios; Cu varió entre 20 y 42% (siendo mayor en MA1 y MA3) y Zn entre 35 y 67% (con valores más elevados en MA1 y MA3). Estos porcentajes indican que una gran proporción del Cd y del Pb en el sedimento de la BSA son potencialmente biodisponibles y pequeños cambios en las condiciones de este sustrato podrían liberar dichos metales al ambiente, resultando perjudicial para los organismos.

Las concentraciones pseudototales de Pb, Cu y Zn en MA1 y MA3 (RIZO y SED) fueron mayores que en los demás sitios. Mientras que Cd y Fe presentaron concentraciones similares en todos los sitios. Los análisis comparativos de los sedimentos con y sin vegetación arrojaron algunas diferencias significativas, siendo más altas las concentraciones en parches con vegetación (RIZO), que en parches sin vegetación (SED). Los dos sitios que presentaron mayores diferencias entre parches fueron MA1 y MA8.

Un factor importante a tener en cuenta en relación a la movilidad de los metales retenidos en el sedimento, se asocia a los cambios en la salinidad. En sistemas con aportes externos de agua dulce, la interfase agua dulce y agua de mar es un ambiente propicio para la ocurrencia de procesos de coagulación, precipitación y floculación, donde los metales disueltos o asociados con partículas finas tienden a depositarse por procesos de adsorción y agregación (Chapman y Wang 2001; Riba et al. 2003; Ip et al. 2007). Por el contrario, cuando existe un aumento de salinidad aumenta la movilidad de los metales traza y/o pesados porque se incrementa la competencia por los sitios de sorción con los cationes de metales alcalinos y alcalinos térreos (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2}) y porque se favorece la complejación con los aniones del agua de mar (Cl^- y SO_4^{-2}) (Du Laing et al. 2008; Acosta et al. 2011; Zhao et al. 2013). Para metales como Cd y Zn, se ha reportado principalmente el desplazamiento por Ca^{+2} y Mg^{+2} y la formación de complejos con iones Cl^- . El Cu se caracteriza por la formación de CuSO_4 (Hatje et al. 2003; Acosta et al. 2011). Se ha observado que un incremento en la salinidad promueve la movilización en el siguiente orden $\text{Cd} > \text{Mn} > \text{Cu} > \text{Pb}$, resultando en un riesgo ecológico mayor para los dos primeros (Du Laing et al. 2009; Zhao et al. 2013).

En el caso particular de la BSA el ingreso de agua dulce prácticamente es nulo y solo el efluente pesquero localizado en el canal Encerrado podría modificar las condiciones del sedimento y el fraccionamiento o disponibilidad de los metales. Por otro lado, ocurren diariamente en la Bahía aumentos importantes de la salinidad durante la marea baja, en zonas que permanecen expuestas durante la marea baja, después de haber sido inundados en marea alta. Estos cambios permanentes en la salinidad podrían contribuir a la liberación de la fase sólida y exportación de metales disueltos fuera de la Bahía a través de la masa de agua.

4. CONCLUSIONES

Las concentraciones pseudototales de metales en sedimentos de la marisma de la BSA (partículas <63 μm) fueron relativamente más altas en los sitios internos al canal Encerrado que en los sitios externos. Este patrón es coincidente con el presentado en el capítulo II. Sólo en el sitio más interno del Canal y en el sitio control, el parche con vegetación presentó mayores niveles de metales pseudototales, marcando una influencia positiva en la retención por parte del sedimento.

En el análisis de la distribución de metales entre las fases geoquímicas, el Pb predominó en la fracción asociada a oxi-hidróxidos de Fe y Mn. En cuanto a Cd, Cu, Zn y Fe, se observó predominio en la fracción residual, siguiendo en orden la fracción oxidable para Cd y la reducible para los restantes, en particular para el Zn esta fue superior en los sedimentos dentro del canal Encerrado. En sedimentos anóxicos, la fracción oxidable presentó mayores porcentajes para todos los metales, aunque no superó a la reducible, excepto en el caso del Fe. La fracción intercambiable y unida a carbonatos fue mínima; los mayores porcentajes se observaron en sedimentos anóxicos para Cd, Zn y Fe, mientras que Pb solo en el sitio más interno del Canal.

En términos generales, los elementos asociados a los oxi-hidróxidos de Fe y Mn no estarían disponibles para los organismos, salvo cambios importantes en las condiciones de Eh, pH y salinidad. Para cada sitio, la presencia de plantas no mostró una influencia importante en la distribución geoquímica de cada metal.

CAPÍTULO IV

Influencia de la vegetación de marisma en la captación de metales. Análisis de su posible rol como filtro o redistribuidor de metales.

1. INTRODUCCIÓN

Las marismas son humedales que se encuentran en la zona costera; son ambientes con escaso relieve, con sedimento no consolidado y con vegetación halófila asociados a la zona intermareal. Presentan características ambientales de las comunidades terrestres y marinas. Las mareas juegan un rol fundamental en estos ecosistemas, determinando su estructura y función ecológica (Williams et al. 1994). Actúan como depósitos naturales de metales en sistemas estuarinos y cuando se encuentran en cercanías de poblaciones o en zonas en donde se efectúan actividades antrópicas, reciben aportes significativos de contaminantes. Los metales incorporados al sedimento pueden ser transferidos a la vegetación y acumulados en sus tejidos. Tanto los metales esenciales como los tóxicos pueden absorberse principalmente en la estación de crecimiento de la planta (Rascio y Navari-Izzo 2011; Tangahu et al. 2011).

La vegetación de la marisma puede alterar las condiciones ambientales de los sedimentos en la rizosfera (rizosedimento). Puede modificar su Eh, ya sea por la apertura de canales y cavidades que permite la difusión pasiva del aire o bien por la capacidad de transportar oxígeno desde su parte aérea hasta las raíces (a través de aerénquimas), liberándolo en la rizosfera (De Lacerda et al. 1997; Otero y Macías 2002). Esta oxidación puede remobilizar los metales unidos a sulfuros, incrementando su biodisponibilidad. Por otro lado, las raíces pueden producir exudados (ácidos orgánicos como citrato, oxalato, malato, malonato y acetato) que reducen el pH en la rizosfera, liberando los metales hacia el agua intersticial donde pueden ser quelados, disminuyendo su toxicidad (Weis y Weis 2004; Almeida et al. 2011). Por otro lado, pueden formar concreciones de oxi-hidróxidos de Fe y Mn sobre las raíces, denominadas plaquetas o rizoconcreciones, con alta capacidad de adsorber metales, inmovilizándolos fuera de la raíz (Jones 1998; Weis et al. 2003; Cambrollé et al. 2008).

La translocación de metales en las plantas es el movimiento de estos desde sus partes subterráneas a sus partes aéreas. Una vez que los metales ingresan a las raíces pueden ser translocados a hojas y tallos, estableciéndose una distribución diferente de cada elemento en los tejidos aéreos y subterráneos. La captación y metabolismo de elementos no esenciales (por ejemplo Cd, As, Pb) no está regulada tan fuertemente como para metales esenciales (por ejemplo Zn, Cu) debido a interferencia o falta de especificidad de la ecofisiología de las plantas (van der Ent et al. 2013). Estas han desarrollado una serie de mecanismos que responden a la absorción y acumulación de

los metales tanto esenciales como no esenciales. Dichos mecanismos incluyen la quelación y secuestro por ligandos particulares. Los principales ligandos en las células vegetales son las fitoquelatinas (péptidos) y las metalotioneínas (polipéptidos), ambas ricas en cisteína (Cobbett y Goldsbrough 2002). Tanto las fitoquelatinas como metalotioneínas participan en procesos de captación de metales como nutrientes y en procesos de detoxificación y forman complejos que pueden quedar en el citosol o ser captados en vacuolas. Una respuesta natural es la retención de metales en vacuolas de células de la raíz para evitar los efectos potencialmente tóxicos (Marchand et al. 2010).

Las marismas pueden actuar como trampas de metales, con una baja exportación a los ecosistemas adyacentes. Sin embargo, dado que muchas plantas de los humedales tienen una vida relativamente corta, su capacidad para estabilizar estos elementos puede ser sólo a corto plazo (Weis y Weis 2004). Por otro lado, los tejidos vegetales liberan nutrientes y metales al ambiente a través de la descomposición, a una velocidad que depende no sólo de las condiciones ambientales sino también de la calidad de los detritos (por ejemplo, contenido de lignocelulosa, contenido de nitrógeno y relación C/N) (Liao et al. 2008; Montemayor et al. 2011). Los metales translocados a la parte aérea pueden ser reintroducidos al sedimento durante su senescencia, transformándose en vías de ingreso de estos elementos a la cadena trófica, y afectando especialmente a especies detritívoras. Las especies del género *Spartina* producen una gran cantidad de detritos y en particular *S. densiflora* en mayor medida que *S. alterniflora*. Estudios sobre la producción y distribución de detritos en marismas mostraron que el proceso principal en la zona de marisma alta (*S. densiflora*) es la acumulación de biomasa de detritos durante largos períodos de tiempo, mientras que en la zona de marisma baja (*S. alterniflora*), es el reciclaje y la exportación de nutrientes (Montemayor et al. 2011).

Para poder crecer en zonas con altas concentraciones de metales, las plantas poseen tres estrategias básicas: la exclusión, la indicación y la acumulación (Baker 1981; Raskin et al. 1994). La exclusión previene la entrada de metales o mantiene baja y constante su concentración para un amplio rango de concentraciones en el suelo, principalmente restringiendo la acumulación en las raíces. La segunda estrategia, la llevan a cabo plantas denominadas indicadoras, que acumulan los metales en sus tejidos aéreos y generalmente reflejan el nivel de metal en el suelo. La tercera estrategia es la acumulación, que se basa en distribuir, translocar o enviar los metales a los diferentes

órganos vegetativos o sus partes aéreas, en niveles que exceden varias veces el nivel presente en el suelo (Ghosh y Singh 2005; van der Ent et al. 2013).

La fitorremediación de suelos contaminados engloba un grupo de técnicas en el uso de especies vegetales y sus microorganismos asociados para extraer, acumular, inmovilizar o transformar los contaminantes del suelo (Barceló y Poschenriender 2003; Ghosh y Singh 2005; Mahar et al. 2016). La fitoextracción, también llamada fitoacumulación, emplea la capacidad de las plantas para absorber y extraer el contaminante del suelo, principalmente metales, y acumularlos en sus tallos y hojas. Tanto el factor de bioacumulación (FBC) como el factor de translocación (FT) deben ser considerados al evaluar si una planta en particular es acumuladora. El FBC es la relación entre las concentraciones de metales en raíces y el rizosedimento y da una idea de la capacidad de las plantas para captar e ingresar metales del rizosedimento; mientras que el FT mide la proporción de translocación de metales entre tejidos dentro de la planta al relacionar las concentraciones de metales en raíces y tejido aéreo (Yoon et al. 2006). Las plantas con ambos factores mayores a la unidad son aptas para la fitoextracción. Por otro lado, las que poseen un factor de bioconcentración mayor que uno, pero un factor de translocación menor tienen potencial para la fitoestabilización, que es la capacidad de las plantas para inmovilizar los metales por acumulación en las raíces o precipitación en el rizosedimento (Anjum et al. 2013).

La extensa marisma de BSA incluye dos géneros de *Spartina* (*S. alterniflora* y *S. densiflora*) y *Sarcocornia* (*S. perennis*) (Bortolus 2006; Isacch et al. 2006; Montemayor et al. 2014). *Spartina* ha sido ampliamente citada como buen fitoestabilizador de metales (Reboreda y Caçador 2007a, b; Cambrollé et al. 2008; Redondo Gómez 2013; Curado et al. 2014) y por esta razón fue seleccionada en este estudio. *Spartina densiflora* tiene poca cobertura en BSA, pero está presente en el canal Encerrado, sitio con mayor exposición a los metales de la Pila. Fuera del Canal tiene una remarcada predominancia *Spartina alterniflora*. Isacch et al. (2006) estimaron por medio de imágenes satelitales para la BSA una cobertura por *S. alterniflora* de 2068 ha y por *S. perennis* de 2124 ha. Para *S. densiflora* se reportó su presencia en campo pero no se registró en imágenes satelitales, por lo que no se informó cobertura.

En este capítulo se evalúa la capacidad de las plantas de marisma (*S. alterniflora* y *S. densiflora*) de acumular metales en sus tejidos. Para ello se determinó la concentración en tejidos aéreos (TA: hojas + tallos verdes) y en tejidos subterráneos

(TS: raíz + rizomas). En cada caso se informa el promedio obtenido para los años 2013 y 2014.

Los análisis estadísticos se realizaron mediante pruebas no paramétricas, dado que los datos no cumplían con los supuestos requeridos. Se realizaron pruebas de Mann Whitney (MW) y Kruskal Wallis (KW), según correspondiera. Para los análisis de correlación se utilizó el coeficiente de Spearman. Se tomó como significativo un $p < 0,05$.

Los factores de bioacumulación (FBA) y translocación (FT) se calcularon según las siguientes ecuaciones (Yoon et al. 2006):

$$\text{FBA} = (M_{\text{TS}}) / (M_{\text{RIZO}})$$

$$\text{FT} = (M_{\text{TA}}) / (M_{\text{TS}})$$

Donde M_{TS} es la concentración del metal en el tejido subterráneo, M_{TA} es la concentración del metal en tejido aéreo y M_{RIZO} es la concentración del metal en el rizosedimento. Se utilizaron las concentraciones pseudototales en la fracción granulométrica $< 63 \mu\text{m}$ (año de 2013) (Capítulo IV, tabla 3.2).

2. RESULTADOS

2.1. Biomasa

Para *S. densiflora* la biomasa aérea fue mayor en primavera ($1108 \pm 363 \text{ g/m}^2$) y menor en verano ($457 \pm 151 \text{ g/m}^2$), mientras que la biomasa subterránea fue mayor en primavera-verano (589 ± 121 y $658 \pm 199 \text{ g/m}^2$, respectivamente). Durante la mayor parte del año la biomasa aérea fue mayor a la subterránea, salvo en verano donde esta última superó a la primera. Para *S. alterniflora* la biomasa aérea y subterránea fueron mayores en primavera (493 ± 266 y $427 \pm 204 \text{ g/m}^2$, respectivamente) y fueron muy similares a lo largo del año (Figura 4.1.A). La biomasa de *S. densiflora* fue mayor a la biomasa de *S. alterniflora* tanto en TA ($T=7,22$; $p < 0,001$) como en TS ($T=4,87$; $p < 0,001$) (Figura 4.2.B). El contenido de cenizas en *S. densiflora* fue menor a *S. alterniflora* en ambos tipos de tejidos TA ($T=4,56$; $p < 0,0001$) y TS ($T=2,27$; $p=0,025$) (Figura 4.1.C).

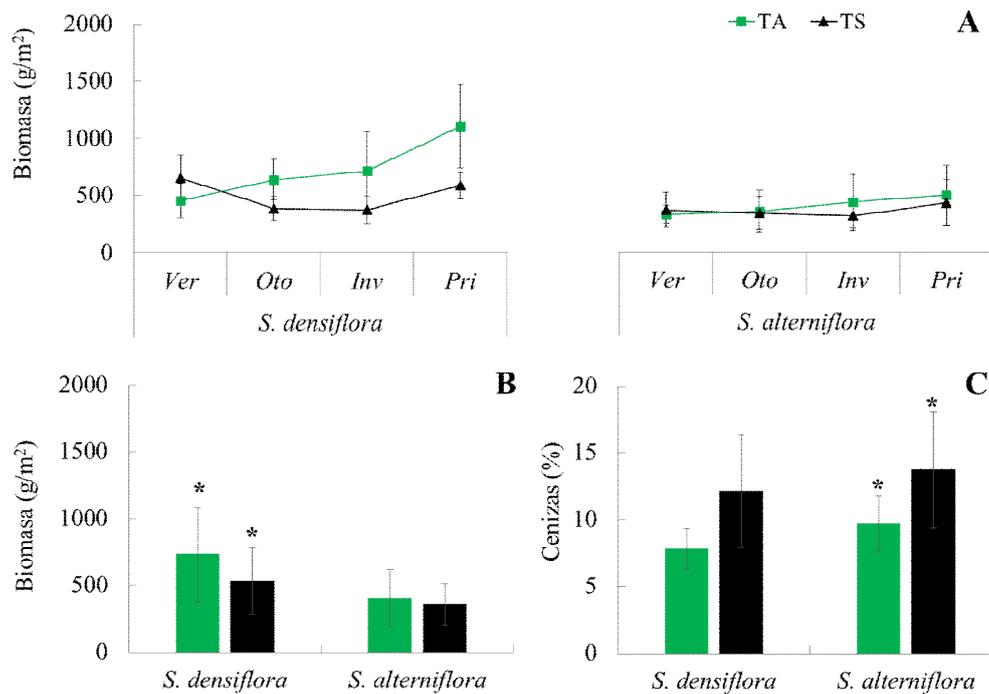


Figura 4.1: A. Biomasa promedio de tejido aéreo (TA) y tejido subterráneo (TS) de *S. densiflora* y *S. alterniflora* para cada estación (media±DE, N=6). B. Biomasa promedio para cada especie y C. Contenido de cenizas promedio (media±DE, N=24) * indica diferencias significativas (T-test, p<0,05).

2.2. Concentración de metales en tejido de *Spartina*

La concentración de Cd en *S. densiflora* fue <LD en TA, mientras que en TS varió entre <LD y 0,11 mg/kg. En los sitios MA1 y MA3 sólo se detectó en primavera. Para *S. alterniflora*, la concentración en TA varió entre <LD y 0,16 mg/kg y en TS varió entre <LD y 0,38 mg/kg (Figura 4.2).

El Pb presentó rangos entre <LD y 4,89 mg/kg en TA y <LD a 17,27 mg/kg en TS para *S. densiflora*, siendo menor en invierno. En *S. alterniflora* varió entre <LD y 3,49 mg/kg en TA y entre <LD y 7,57 mg/kg en TS. En invierno estuvo por debajo del LD en ambos tejidos de *S. alterniflora* (Figura 4.2).

El Cu en *S. densiflora* varió entre 0,8 y 3,2 mg/kg en TA y entre 2,1 y 9,8 mg/kg en TS. Por su parte, los niveles en *S. alterniflora* variaron entre 0,5 y 7,3 mg/kg en TA y entre 1,1 y 8,3 mg/kg en TS (Figura 4.2).

Los niveles de Zn en *S. densiflora* se encontraron entre 11,3 y 42,6 mg/kg en TA y entre 35,5 y 226,0 mg/kg en TS. En *S. alterniflora* estuvieron entre 6,5 y 46,5 mg/kg en TA y entre 5,9 y 118,2 mg/kg en TS (Figura 4.2).

Por último, el Fe presentó rangos entre 0,2 y 1,0 mg/g en TA y entre 0,3 y 3,5 mg/g en TS en *S. densiflora*. En *S. alterniflora* los rangos fueron 0,4-1,2 mg/g en TA y 0,3-3,7 mg/g en TS (Figura 4.2).

Los metales no esenciales, Cd y Pb, fueron acumulados en menor proporción que los metales esenciales como Cu, Zn y Fe, en ambas especies. Las concentraciones de Cu y Pb fueron similares en las plantas del sitio MA1 (Figura 4.2).

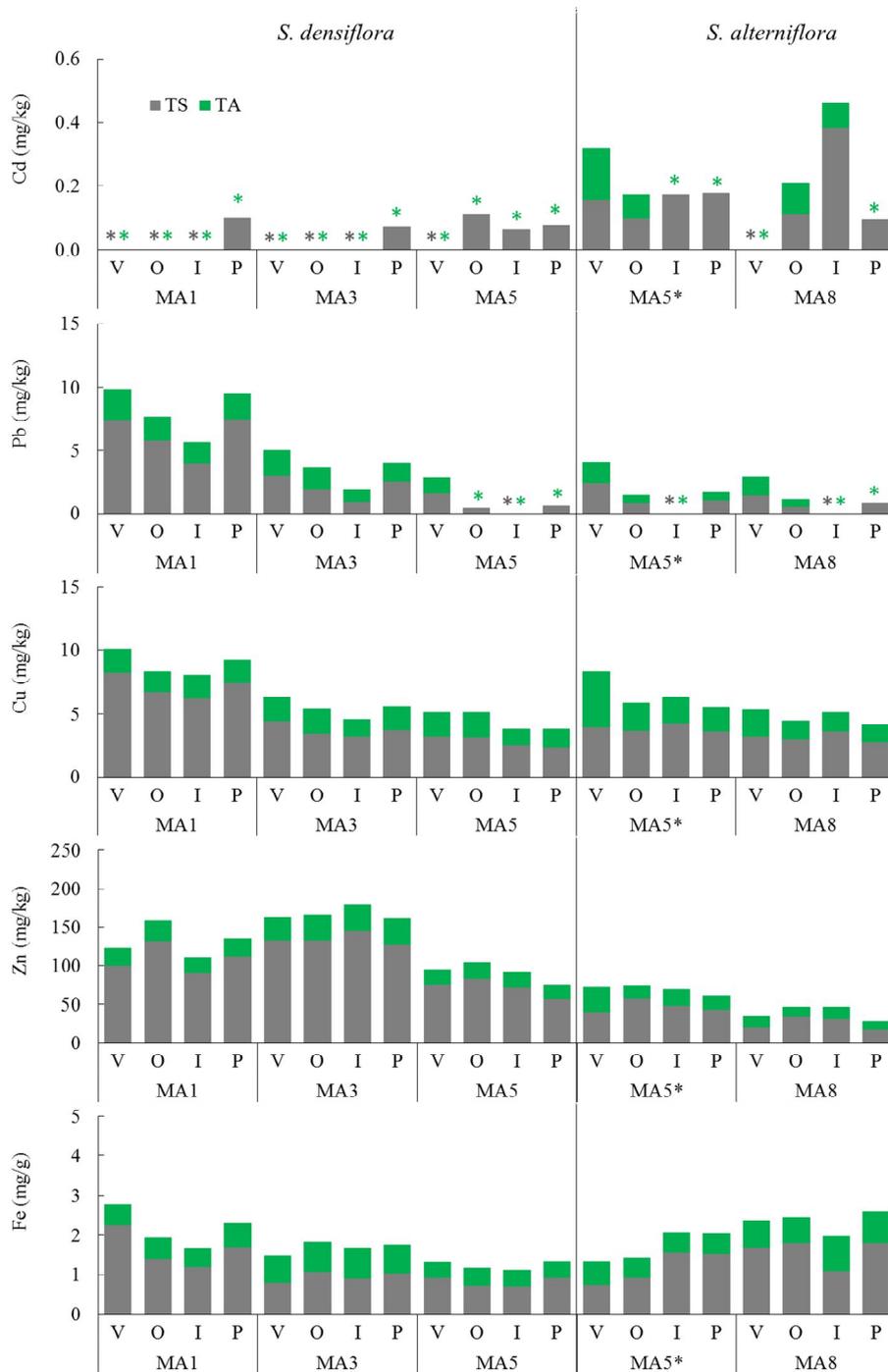


Figura 4.2: Concentraciones promedio de metales en tejido de *S. densiflora* y *S. alterniflora* (mg/kg, excepto en Fe mg/g, N=6). * <LD

Al comparar entre tejidos por sitio, si bien el Cd no se detectó en TA de *S. densiflora*, sí se midió en TS, aunque con valores cercanos al LD. Siguiendo igual tendencia, *S. alterniflora* presentó concentraciones mayores de este metal en TS que en

TA (MW $p < 0.05$). En cuanto a los niveles de Pb en *S. densiflora* de MA1 y MA3, fueron significativamente mayores en TS (MW $p < 0.05$), mientras que en MA5 y en *S. alterniflora* las concentraciones fueron similares entre tejidos. Respecto de Cu, Zn y Fe en ambas especies y en todos los sitios las concentraciones siempre fueron superiores en TS (MW $p < 0,05$) (Figura 4.3).

Entre sitios, sin considerar las especies, se observaron diferencias significativas en ambos tipos de tejidos. En el caso del Cd este fue mayor en TS en MA8 y MA5* y menor en MA3. El plomo fue mayor en TA y TS de MA1 y MA3. El cobre fue mayor en TA en MA5* y en TS en MA1. En el caso del Zn este fue mayor en TA en MA3 y en TS en MA1 y MA3. El Fe presentó mayor concentración en TA en MA3, mientras que en TS fue mayor en MA1 y MA8 (Figura 4.3).

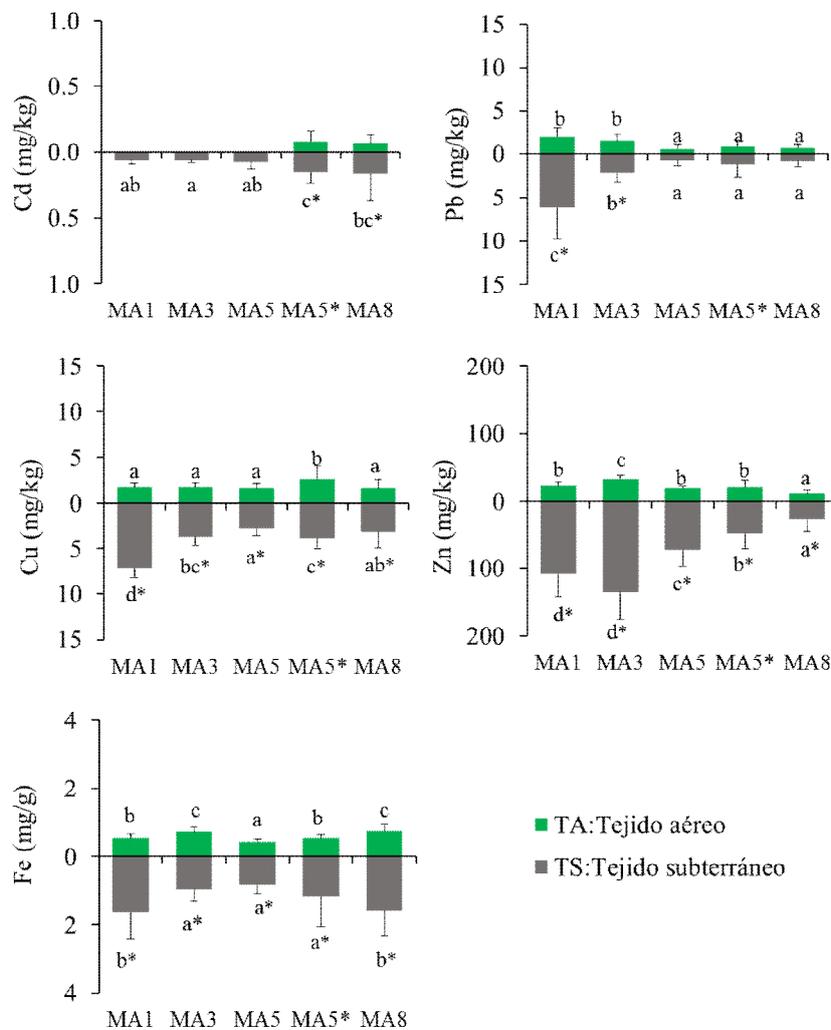


Figura 4.3: Concentraciones de metales en tejido de *Spartina* (media \pm DE, en mg/kg excepto Fe en mg/g, N=24). *indica diferencias significativas entre tejidos para un mismo sitio (MW $p < 0,05$). Las letras indican diferencias significativas entre sitios, sin considerar las especies (KW $p < 0,05$).

La tabla 4.1 muestra para cada metal, las asociaciones encontradas entre ambos tejidos; entre cada tejido y cada fracción geoquímica del sedimento fino (LA); entre cada tejido y el contenido pseudototal del sedimento fino (LA).

Las concentraciones de Pb y Zn en TS y TA se correlacionaron positivamente tanto en *S. densiflora* (Spearman $r=0,640$ y $r=0,630$) como en *S. alterniflora* (Spearman $r=0,350$ y $r=0,420$). Igual comportamiento se observó para Cu en *S. alterniflora* (Spearman $r=0,460$) pero no en *S. densiflora*. Para Cd y Fe no se encontró correlación entre las concentraciones de TS y TA (tabla 4.1).

Para *S. densiflora*, el Cd en TS y TA no presentó correlación con ninguna de las fracciones geoquímicas ni con el contenido pseudototal. Sí en cambio lo hizo el Pb en ambos tejidos y con todas las formas químicas del rizosedimento; en el caso del Cu, TS presentó correlación significativa con todas las formas analizadas en rizosedimento, excepto en F1; para Zn, tanto en TS como en TA, se observaron correlaciones significativas para las fracciones F1, F2 y pseudototal; para Fe, las concentraciones en TA se correlacionaron positivamente con F1 y TS se correlacionó con F2 y pseudototal (Tabla 4.1).

Para *S. alterniflora*, el Pb no se correlacionó con ninguna de las fases químicas estudiadas en los sedimentos; para Cd, TS presentó correlación negativa con F3; en el caso del Cu, TA presentó correlación negativa con pseudototal; el Zn presentó correlación positiva con F2 y negativa con F3 en TS y TA; el Fe presentó correlación positiva con F1 y negativa con F2 en TS y TA, y positiva con F3 en TS (Tabla 4.1).

Tabla 4.1: Coeficientes de correlación de Spearman para el contenido de metales en tejidos de *Spartina* y las concentraciones de las fracciones geoquímicas y pseudototal en rizosedimento (* p<0,05).

Metal	Fracción	<i>S. densiflora</i> (N=72)		<i>S. alterniflora</i> (N=48)	
		TA	TS	TA	TS
Cd	TS	#		0,030	
	F1	#	-0,070	0,210	0,040
	F2	#	-0,220	0,090	0,140
	F3	#	0,020	-0,040	-0,370*
	Pseudototal	#	0,080	-0,150	-0,080
Pb	TS	0,640*		0,350*	
	F1	0,310*	0,540*	#	#
	F2	0,460*	0,580*	-0,050	0,170
	F3	0,250*	0,340*	0,050	0,020
	Pseudototal	0,570*	0,740*	0,210	0,260
Cu	TS	0,210		0,460*	
	F1	#	#	#	#
	F2	0,050	0,710*	0,150	0,160
	F3	0,010	0,480*	-0,270	-0,210
	Pseudototal	0,080	0,740*	-0,440*	-0,230
Zn	TS	0,630*		0,420*	
	F1	0,390*	0,420*	-0,010	-0,100
	F2	0,320*	0,440*	0,390*	0,400*
	F3	0,060	0,080	-0,520*	-0,370*
	Pseudototal	0,280*	0,380*	0,150	0,100
Fe	TS	0,190		0,130	
	F1	0,460*	0,150	0,370*	0,350*
	F2	0,010	0,380*	-0,320*	-0,400*
	F3	0,200	0,140	0,140	0,420*
	Pseudototal	0,004	0,380*	0,020	0,010

no fue posible calcular, concentraciones <LD

3. DISCUSIÓN

Dado su crecimiento anual, las plantas presentan una variación en los niveles de nutrientes de sus tejidos. En diferentes épocas del año, crecen a diferentes tasas y sus necesidades difieren. Los cambios estacionales en la concentración de metales en *Spartina* dependen de la especie, el tejido y el metal estudiado (Redondo Gómez 2013). Los metales esenciales como Cu, Zn y Fe estarían mayormente influenciados por estos ritmos. Sin embargo, las plantas no siempre son eficaces en distinguir entre metales esenciales y no esenciales como Cd y Pb.

En los casos bajo estudio, se observó que en ambas especies de *Spartina*, las concentraciones de Cu, Zn y Fe fueron superiores a las de Cd y Pb. Dada la gran variabilidad en sus concentraciones no fue posible definir patrones estacionales primavera-verano vs otoño-invierno. Entre tejidos se observó que las concentraciones

de metales siempre fueron mayores en TS que en TA, a excepción de Pb que fue similar en algunos sitios.

En cuanto a la acumulación de metales en tejidos respecto del rizosedimento, el FBA indicó que *Spartina* resultó un acumulador efectivo para el Zn en todos los sitios (FBA>1), siendo mayor en *S. densiflora*. Para los demás metales en cambio, FBA fue siempre inferior a la unidad y en el siguiente orden: Cu > Cd > Pb > Fe (Figura 4.4.A). Zinc y Cu son nutrientes por lo que son absorbidos por las plantas activamente. Por otro lado, los compuestos liberados por las plantas para facilitar la absorción de Zn pueden promover la entrada de Cd, ya que ambos poseen propiedades químicas similares (Almeida et al. 2011). La biogeoquímica del Fe juega un importante rol en el control de su propia absorción como en la de los demás elementos. En este sentido, bajos FBA para Fe concuerdan con las elevadas concentraciones encontradas en rizosedimentos, probablemente bajo la forma de oxi-hidróxidos. Bajos FBA son esperados en plantas capaces de liberar oxígeno desde las raíces, como el caso de *Spartina* (Vale et al. 1990; Williams et al. 1994). Además, las rizoconcreciones formadas sobre las raíces tienen una gran capacidad para retener otros metales, limitando su ingreso a los tejidos (Vale et al. 1990; Otte et al. 1991; De Lacerda et al. 1993).

En cuanto a la translocación de metales, FT para Cd fue >1 en *S. alterniflora* (MA5*); para Pb <1 en MA1 y próximo a la unidad en los restantes; para Cu, Zn y Fe fueron siempre menores a la unidad (Figura 4.4.B). En relación a los elementos no esenciales, debe considerarse que las concentraciones en algunos casos se encontraron próximas al límite de detección, lo cual podría introducir errores al calcular el TF. Respecto de lo observado para los metales esenciales, las concentraciones en TS podrían ser superiores a las requeridas por la planta, evitando la translocación a TA por inmovilización en la raíz. Por otro lado, se observó que en sitios donde las concentraciones en rizosedimentos fueron más elevadas, los factores FBA y FT fueron menores (MA1 y MA3). Esto indicaría que la planta evita ingresar los metales en exceso y a su vez la translocación a tejidos aéreos, como reportan estudios previos realizados en diferentes especies de *Spartina* (Windham et al. 2003; Caetano et al. 2008; Duarte et al. 2009; Cambrollé et al. 2011; Almeida et al. 2011; Redondo Gómez 2013). Estos autores proponen a *Spartina* para la fitoestabilización, por su capacidad para inmovilizar los metales por acumulación en las raíces o precipitación en el rizosedimento.

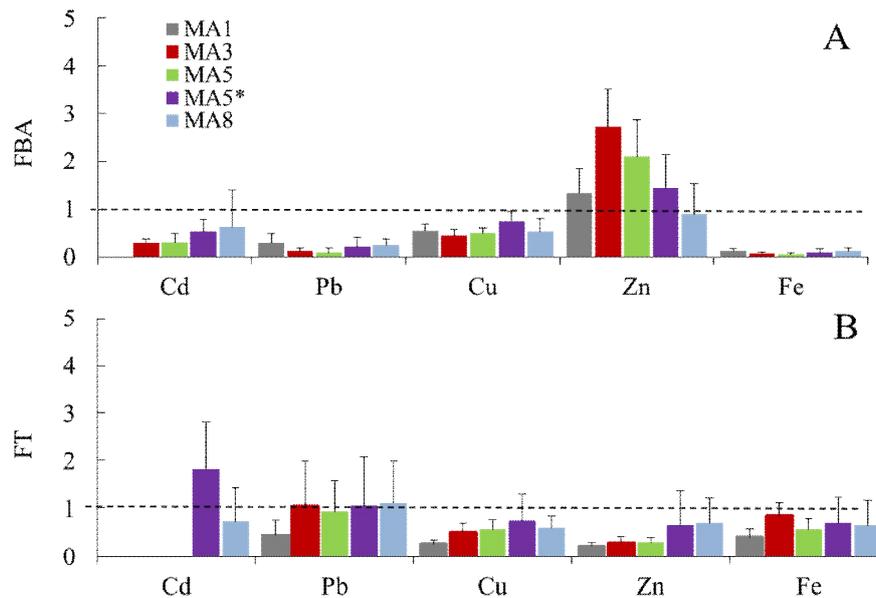


Figura 4.4: A. Factor de bioacumulación (FBA) y B. Factor de translocación (FT) para *Spartina* por sitio (N=24).

Se han citado posibles mecanismos fisiológicos responsables de restringir la absorción y translocación en las plantas, entre ellos la inmovilización en la pared celular, la complejación con sustancias como fitoquelatinas y las barreras en la endodermis radical (Vale et al. 1990; Clements et al. 2002; Mucha et al. 2005; Anjum et al. 2013). Incluso cuando este patrón explica un bajo transporte hacia tejidos aéreos, se deben tener en cuenta los mecanismos de excreción a través de las hojas y el posterior retorno del metal a través de hojas senescentes a los sedimentos. *S. alterniflora* puede liberar metales en marismas a través de la excreción y deposición de hojas. De hecho, se ha informado que las plantas tolerantes a la sal pueden excretar gran cantidad de metales en cristales de sal producidos por glándulas salinas en sus hojas (Burke et al. 2000; Weis y Weis 2004). Por otro lado también diversos estudios reportan mayores contenidos de metales en hojas viejas y/o senescentes por sobre las hojas más jóvenes (Luque et al. 1999; Cambrollé et al. 2008; Salla et al. 2011).

Los niveles de metales informados en la literatura para *Spartina* presentan un amplio rango dependiendo de la especie, del contenido de metales en el sedimento y de su biodisponibilidad. En el caso de BSA los valores registrados en *Spartina*, tanto en tejido aéreo como en tejido subterráneo, resultaron bajos comparados con otros sitios que están altamente contaminados por metales. Por ejemplo el estuario de los ríos Odiel y Tinto en España, donde los niveles de metales como Pb, Cu y Zn en tejidos de *S. densiflora* y *S. marítima* resultan entre 10 a 100 veces mayores a los encontrados en este estudio (Cambrollé et al. 2008). En el estuario del río Yangtze, China, para el caso de *S.*

alterniflora también se informaron niveles de metales muy superiores a los de BSA (Quan et al. 2007).

Los niveles de metales medidos en *Spartina* en este estudio, nunca superaron aquellos que pueden resultar fitotóxicos para las plantas (en el rango de 5-30 mg/kg Cd, 30-300 mg/kg Pb, 20-100 mg/kg Cu y 100-400 mg/kg Zn) (Prasad et al. 2006; Kabata Pendias 2011). Por otro lado son comparables a los informados en sitios con moderada o baja contaminación, como por ejemplo la marisma de Rawson (Idaszkin et al. 2014) y el estuario de Bahía Blanca (Hempel et al. 2008) y son del mismo orden que los reportados recientemente por Idaszkin et al. (2015) para *S. densiflora* en BSA (Tabla 4.2).

Si bien, según lo expuesto, los valores medidos se corresponden a zonas de impacto antrópico bajo, se debe tener en cuenta que las plantas que se encuentran en el interior del canal Encerrado (sitios con sedimentos de mayor contenido metálico) se ubican en pequeños parches y en la marisma media-alta, y por lo tanto con bajas oportunidades de permanecer en contacto con el flujo de metales.

Por otro lado, dada la ausencia de ingresos de agua dulce y el clima árido de la región, las plantas están sometidas a un importante estrés salino, particularmente en la marisma alta donde existen prolongados períodos entre inundaciones, durante los cuales la evaporación es intensa y permite la acumulación de sales (Maricle et al. 2009; Pralongo et al. 2009). En las plantas halófitas, la tolerancia a la sal se logra principalmente limitando su ingreso, lo que resulta en tasas de crecimiento reducidas, o excluyendo el exceso de sal por las glándulas salinas (Roy y Chakraborty 2014).

La salinidad influye en el ingreso y en la excreción de metales en las plantas, sin embargo, hay controversias sobre cómo funciona este mecanismo. Weis y Weis (2004) sugieren que el incremento de la salinidad del agua suprayacente podría incrementar la excreción de sales por *S. alterniflora*, asociado a un incremento en la excreción de metales. Varios autores proponen este mecanismo para la excreción de metales como por ejemplo Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb y Zn en *Spartina* (Kraus 1986; Rozema et al. 1991; Burke et al. 2000; Windham et al. 2001). Una mayor excreción de sales por *Spartina* podría no ser deseable, dado que pone a disponibilidad metales en la superficie de sus hojas (Kobayashi 2008).

Tabla 4.2: Concentraciones de metales en tejido de diferentes especies de *Spartina* (mg/kg)

Especie	Tejido	Cd	Pb	Cu	Zn	Fe
<i>S. densiflora</i>	TA	<0,10	<0,7-4,9	2,4±0,9	15,2±5,8	453±139
Esta estudio	TS	<0,10-0,11	1,1-11,8	4,8±0,7	39,8±21,9	801±729
<i>S. alterniflora</i>	TA	<0,10-0,16	<0,7	2,2±0,8	24,0±11,9	384±200
Este estudio	TS	<0,10-0,38	<0,7	5,2±2,6	64,1±16,0	1042±995
<i>S. densiflora</i> ¹	TA	<1	<2	6	18-22	0,75%
	TS	<1	<2	4-6	20-25	1-1,5%
<i>S. densiflora</i> ²	TA	<0,1	2-12	1-3	10-60	200-500
	TS	<0,1	6-18	3-17	20-120	500-2800
<i>S. densiflora</i> ³	Hojas jóvenes	sd	<10-20	<100-150	<100-150	sd
	Hojas viejas	sd	25-60	200-600	150-250	sd
	Tallos	sd	25-80	100-300	100-200	sd
	TS	sd	100-150	300-2000	500-1000	sd
<i>S. alterniflora</i> ⁴	Tallo	0,10-0,8	<0,12	5-13	19-27	199-365
	Raíz	<0,01-0,1	<0,12-2,0	12-37	46-63	239-510
<i>S. alterniflora</i> ⁵	Hoja	sd	1,6±1,1	3,7-6,5	4,2-26,5	sd
	Tallo	sd	0,9±0,8	0,9-7,1	12,9-32,2	sd
	Raíz	sd	120,6±54,8	100,8-212,3	236-898	sd
	Rizoma	sd	19,7±20,8	6,3-52,8	29,5-168,0	sd
<i>S. alterniflora</i> ⁶	Hoja	sd	0,89	6,8	29,77	sd
<i>S. alterniflora</i> ⁷	Hoja	sd	sd	4,2-6,3	6-14	128-385
	Tallo	sd	sd	4,3-7,7	6-47	39-372
	Raíz	sd	sd	4,7-13,5	16-173	417-3030
<i>S. alterniflora</i> ⁸	Tallo	sd	2-10	5-30	25-80	sd
	Raíz	sd	5-25	20-100	25-200	sd
<i>S. marítima</i> ³	Hojas jóvenes	sd	<10-10	<100	100	sd
	Hojas viejas	sd	20-40	100-200	150-200	sd
	Tallos	sd	25-50	100-600	150-300	sd
	TS	sd	50-170	250-4500	400-1500	sd
<i>S. marítima</i> ⁹	Hoja	0,4±0,0	4,5±0,7	83±5	102±9	1513±137
	Tallo	0,7±0,2	nd	36±4	33±11	270±22
	Raíz	2,4±0,5	6,0±2,4	348±58	193±54	4160±945
	Rizoma	1,0±0,2	0,4±0,1	74±10	48±14	636±83
<i>S. marítima</i> ¹⁰	Hoja	0,60-0,79	2,7-5,2	6,7-10,1	22,0-30,3	sd
	Tallo	0,73-0,74	0,9-5,2	6,2-7,0	13,3-34,0	sd
	Raíz	1,36-1,79	8,1-37,3	18,1-25,8	48,7-57,2	sd
<i>S. marítima</i> ¹¹	TA	0,02-0,03	sd	2,8-3,8	17-21	0,00-0,01%
	TS	2,5-19	sd	48-287	743-4185	2,2-14%
<i>S. marítima</i> ¹¹	TA	0,00-0,01	sd	3,4-6,1	17,0-20	0,01-0,04%
	TS	0,19-1,9	sd	17-105	14-174	2,5-7,8%
<i>S. marítima</i> ¹²	TA	1-5	5-20	10-20	10-50	sd
	TS	1-5	10-50	10-50	50-150	sd
<i>S. anglica</i> ¹³	TA	0,1-1,1	sd	2-6	24-50	sd
	TS	0,5-16	sd	3-37	40-190	sd

Referencias: 1. Idaszkin et al. 2014; 2. Idaszkin et al. 2015; 3. Cambrollé et al. 2008; 4. Hempel et al. 2008; 5. Windham et al. 2003; 6. Burke et al. 2000; 7. Alberts et al. 1990; 8. Quan et al. 2007; 9. Curado et al. 2014; 10. Phillips et al. 2015; 11. Caetano et al. 2008; 12. Couto et al. 2013; 13. Otte et al. 1991. nd: no detectable, sd: sin dato

Por otro lado, Mahon y Carman (2008) encontraron que esto no ocurre para todos los metales por igual. En condiciones de crecimiento óptimas (10-15 ups) *S. alterniflora* es capaz de mantener un control en el ingreso de contaminantes y su translocación. Dichos autores encontraron que el contenido de Pb y Zn en la sal excretada disminuyó al aumentar la salinidad (30 ups). Como respuesta al estrés salino las halófitas excretan una mayor cantidad de Na y disminuye el ingreso y la excreción de Ca, lo que puede significar en una menor excreción de metales divalentes (Brown et al. 2006; Mahon y Carman 2008). Por otra parte, estudios realizados en *S. densiflora* reportan que la salinidad favorece la tolerancia a la acción tóxica del Zn y aumenta el ingreso de nutrientes en presencia de este elemento (Redondo Gómez et al. 2011).

En BSA las salinidades generalmente son superiores a >36 ups (ANEXO C, tabla C.1), lo cual podría estar restringiendo el ingreso de metales y su translocación. Como han reportado numerosos trabajos, *Spartina* resulta ser una planta fitoestabilizadora, manteniendo metales en el rizosedimento, con muy baja translocación hacia tejidos aéreos. Esto da como resultado una baja transferencia en la cadena trófica. Sin embargo, se debe mencionar que en este estudio no se midió el contenido de metales en tejido aéreo muerto o seco, el cual podría contener concentraciones superiores a las medidas en tejido vivo (hojas + tallos verdes). Como ya se mencionó, los tejidos senescentes suelen acumular contaminantes en mayor proporción que los fotosintéticos u hojas jóvenes (Luque et al. 1999; Cambrollé et al. 2008; Salla et al. 2011).

De acuerdo con estos resultados, la distribución de los metales analizados en tejidos de plantas de BSA, están de acuerdo con los patrones reportados en la literatura para el género *Spartina*: mayores concentraciones en estructuras subterráneas (tales como rizomas y raíces) que en partes aéreas, como consecuencia de la reducción del ingreso y translocación (Quan et al. 2007; Caetano et al. 2008; Cambrollé et al. 2008; Caçador et al. 2009; Almeida et al. 2011; Redondo Gómez 2013).

En marisma baja, los sedimentos son inundados periódicamente por tiempos prolongados lo que favorece la deficiencia de oxígeno y una disminución del Eh. En estas condiciones se produce la precipitación de metales como sulfuros. La posterior oxidación de estos, por el oxígeno liberado en la rizosfera a través de la raíz, libera los metales en formas intercambiables, favoreciendo la incorporación por plantas (Williams et al. 1994; Jacob y Otte 2003; Weis y Weis 2004)

Por otro lado, la retención de metales en marisma alta es menos probable que ocurra. Dado que los sedimentos se encuentran bien oxigenados y que bajo estas condiciones los metales están presentes en fases reducibles (generalmente como oxihidróxidos o asociados a ellos). Estos se encuentran en formas poco disponibles para las plantas (Otte et al. 1991; Luque et al. 1999; Weis y Weis 2004; Du Laing et al. 2009).

Dado la distribución de las plantas en la BSA, su influencia en el reciclado y retención de metales (provenientes de la Pila) no sería relevante. Las plantas presentes en la zona más enriquecida (canal Encerrado) corresponden a marisma alta y en pequeños parches, resultando en condiciones desfavorables para la retención y/o absorción de metales. Las plantas de marisma baja capaces de favorecer el desarrollo de estos procesos, se encuentran en extensa cobertura, pero fuera del área afectada por el enriquecimiento de metales.

4. CONCLUSIONES

La distribución de metales en los diferentes tejidos de *Spartina* en BSA muestra una reducida translocación hacia tejidos aéreos. Las plantas de los sitios internos al canal Encerrado mostraron un mayor contenido en tejidos subterráneos que las de otros sitios. En ningún caso las concentraciones de metales en el rizosedimento excedieron los niveles en que las plantas son capaces de regular su ingreso y translocación, esto se comprobó por los valores de FBA y FT menores a la unidad, con excepción del Zn.

Las concentraciones encontradas para todos los elementos estudiados fueron similares a las reportadas para sitios con baja o nula contaminación, probablemente debido a las condiciones predominantes en el medio. El escaso aporte de agua dulce y la elevada salinidad favorecerían la baja incorporación en las plantas.

Por otro lado, el hecho de que las plantas de marisma en el canal Encerrado presentan poca cobertura y estos parches se ubican en zonas de marisma alta no favorece la retención de metales antropogénicos en los sedimentos. La extensa marisma baja de BSA, con potencial para fitoestabilizar metales, se desarrolla fuera del Canal, donde la influencia de la contaminación por metales es despreciable.

CAPÍTULO V

**Evaluación de la bioacumulación de los metales
sobre especies detritívoras y carroñeras asociadas
a los sedimentos.**

1. INTRODUCCIÓN

El espartillar de la BSA es hábitat de numerosas especies de animales. Entre ellas, el cangrejo cavador *Neohelice granulata* (Dana 1851) (= *Chasmagnatus granulata*), es un miembro importante de la cadena alimentaria estuarina, debido a su gran abundancia y a sus múltiples funciones como carroñero, depredador y presa (Sabatini et al. 2009). *N. granulata* es una especie detritívora-herbívora que se alimenta principalmente de espartina (Iribarne et al. 1997; Bortolus e Iribarne 1999). Cangrejos adultos y juveniles de esta especie viven en las zonas meso y supralitoral, formando densas poblaciones (Kogan et al. 2000). Excavan y mantienen cuevas abiertas permanentemente, tanto en los espartillares como en las planicies de marea, modificando procesos de sedimentación, la arquitectura y la dinámica de las cuevas (Iribarne et al. 1997). *N. granulata* y el cangrejo *Cyrtograpsus angulatus*, constituyen una vez muertos, la dieta más importante del gasterópodo *Buccinanops deformis* (King 1832) (= *Buccinanops globulosus*). En aguas poco profundas, este caracol ocupa fondos arenosos-barrosos o cubiertos por algas. *N. granulata* y *B. deformis* son importantes componentes de la cadena trófica de la BSA y son los principales carroñeros de este ecosistema marino (Daleo et al. 2005; Narvarte 2006). Los gasterópodos son a menudo los predadores superiores en las cadenas tróficas bentónicas y predan directamente sobre bivalvos o cirripedios o sobre tejidos muertos de diferentes organismos.

1.1. Biología del cangrejo cavador *Neohelice granulata* (Decápoda: Brachyura)

El cangrejo cavador *N. granulata* es un típico habitante de los ambientes costeros, es endémico de las costas del Atlántico sur, desde el sur de las costas de Brasil hasta el norte de la costa Patagónica (Boschi 1964). Sus poblaciones viven asociadas a planicies de marea y a marismas en estuarios, bahías y lagunas costeras de variada salinidad, temperatura y regímenes de marea (Spivak 1997).

Las tallas máximas para machos y hembras llegan a 32 y 29,8 mm de ancho de caparazón, respectivamente, más pequeñas que las poblaciones del norte como Mar Chiquita y Samborombón (Bas et al. 2005). Cangrejos menores a 7 mm de ancho de caparazón son indiferenciados morfológicamente entre sexos (Bas et al. 2005). La madurez sexual se alcanza a una talla de 18,5 mm de ancho de caparazón en las hembras y de 12 mm en los machos (López Greco et al. 2001).

Se pueden distinguir dos patrones de alimentación; los que viven en las planicies de marea son detritívoros mientras que los que viven en marisma son principalmente herbívoros (Iribarne et al. 1997). *N. granulata* se alimenta casi exclusivamente de espartina y materia orgánica sedimentaria, otros componentes de su dieta lo constituyen restos de moluscos, crustáceos, algas, semillas y detritos (D’Incao et al. 1990; Botto et al. 1995; Iribarne et al. 1997; Costa et al. 2003; Alberti et al. 2007; Barutot et al. 2011; Luppi et al. 2013). Además, se ha reportado canibalismo de juveniles de *N. granulata* sobre reclutas (Luppi et al. 2001).

Se ha descrito que el uso del hábitat de esta especie es complejo, con una segregación espacial por tallas y estadios reproductivos (Branco 1991; Spivak et al. 1994) y movimientos diarios entre medio e infralitoral (Botto e Irigoyen 1980). En la BSA, la estación reproductiva comienza en octubre-noviembre y se extiende hasta febrero (Bas et al. 2005; Ituarte et al. 2006). Las hembras ovígeras no se alimentan hasta la eclosión de los huevos, y la energía obtenida cuando se alimentan es utilizada para una nueva puesta, mientras que los machos se alimentan durante toda la estación reproductiva (Luppi et al. 2004; Ituarte et al. 2006). Adultos y juveniles predominan en las zonas vegetadas; en aéreas de aguas someras se encontraron adultos machos y hembras no ovígera durante el período reproductivo (Bas et al. 2005).

Las poblaciones de *N. granulata* en la BSA alcanzan densidades que varían entre 77 y 135 ind/m², siendo mayores en las zonas vegetadas que en la planicie de marea (Bas et al. 2005). Este patrón respondería a una mayor disponibilidad de alimento y al hecho de que disminuyen los efectos de estrés salino y de temperatura (Bortolus et al. 2002; Bas et al. 2005; Luppi et al. 2013). Presentan mayor actividad durante la pleamar que en bajamar. En invierno, permanecen inactivos, hasta que son cubiertos por la marea. La mayor actividad de los cangrejos de BSA respecto de otras zonas, se debe al bajo contenido de materia orgánica en el sedimento, que implica una baja disponibilidad de comida en las cuevas. Este factor fuerza a los individuos a alimentarse de plantas como *Spartina* y a moverse entre la planicie de marea y la marisma (Luppi et al. 2013).

El cangrejo cavador es un importante bioturbador en su ambiente, mantiene abiertas cuevas semipermanentes, con valores de remoción de sedimento de 5,9 kg/m². Su actividad puede oxigenar el suelo de las marismas, aumentando el drenaje, y modificando la abundancia de la meiofauna. Las áreas habitadas por cangrejos poseen alto contenido de agua, materia orgánica y un sustrato más blando y menos permeable

que áreas con características similares pero sin cangrejos. Estas modificaciones en las propiedades del sedimento tienen consecuencias en toda la comunidad (Iribarne et al. 1997; Iribarne 2001). Esta especie tiene una gran importancia en el humedal por su rol de bioingeniero, puede modificar las características edáficas del sustrato, modular la producción primaria de *Spartina*, alterar el fenotipo y la fisiología de la planta y cambiar la composición de la comunidad asociada al suelo (Bortolus e Iribarne 1999; Silliman y Bortolus 2003; Bortolus et al. 2004; Canepuccia et al. 2010). *N. granulata* juega un papel clave como vector de transferencia neta de materia y energía desde el ambiente terrestre hacia el acuático (Beltrame et al. 2010), dado que consume el detrito aportado por la vegetación halófila y es presa de las diferentes especies de peces y aves de la Bahía.

1.2. Biología del gasterópodo *Buccinanops deformis* (Caenogastropoda: Nassariidae)

El gasterópodo *B. deformis* es una especie endémica de aguas costeras (hasta los 10 m de profundidad) con una amplia distribución en el sudeste de la costa Atlántica entre las latitudes 34° a 48° S (Pastorino et al. 1993, Castellanos et al. 1996). Su hábitat se limita a parches de arena y fango, donde pasa la mayor parte del tiempo enterrado. Este gasterópodo es un componente importante de la BSA, es necrófago y preda principalmente sobre moluscos y cangrejos (Daleo et al. 2005; Narvarte 2006; Avaca et al. 2010).

Las tallas de los adultos se encuentran entre 4 y 60 mm de longitud total y los pesos entre 0,58 y 58,70 g (Penchaszadeh 1971), con tallas y pesos máximos distintos según la población de que se trate. Los sexos se diferencian en tallas mayores a 20 mm de longitud total y generalmente las hembras tienen mayor talla que los machos. La cópula se produce entre octubre y noviembre y las hembras con cápsulas se observan de noviembre a enero. Los juveniles emergen de sus cápsulas en enero y febrero (Narvarte 2006). Las tallas reportadas en BSA varían entre 16 y 22 mm para adultos y las máximas alcanzan los 30 mm (Narvarte et al. 2008). En la zona de Playa Villarino (playa externa a la BSA), se ha extraído *B. deformis* durante más de cuatro décadas para el consumo directo o para productos de conservas; los individuos de esta población alcanzan tallas superiores (hasta 62 mm en el caso de las hembras) (Narvarte 2006).

1.3. Invertebrados como biomonitores

La bioacumulación de metales en invertebrados acuáticos ocurre a través del ingreso de las fases disuelta y particulada (material suspendido o del sedimento), siendo la dieta la fuente principal (Wang 2002; Rainbow 2007). En términos generales, incorporan metales desde su ambiente (sedimento, agua o comida) y la proporción de cada ruta depende del tipo de invertebrado y de la biodisponibilidad del metal en el ambiente. Según la fisiología del organismo, será usado con propósito metabólico, excretado o almacenado en el cuerpo (Rainbow 2002). Se han identificado mecanismos de homeostasis de metales traza y/o pesados en células de invertebrados marinos: unión a ligandos específicos solubles como metalotioneínas, formación de precipitados insolubles como concreciones de Ca/Mg o gránulos de Ca/S y compartimentalización en vesículas como lisosomas (Viarengo y Nott 1993; Rainbow 2007).

Los decápodos, tienen la habilidad de regular el metabolismo de elementos esenciales como Zn, Cu y Mn. Además, factores como la muda, la talla, el sexo y la salinidad influyen en el contenido total de metales en su cuerpo (Rainbow 1995). Sin embargo, presentan una efectiva acumulación de metales no esenciales, tales como Cd y Pb y reflejan adecuadamente los niveles ambientales (Rainbow 1990). Como especie clave dentro de ecosistemas estuarinos, *N. granulata* juega un rol importante en la transferencia de contaminantes a la cadena trófica. Estas características permiten considerar su uso como un potencial indicador biológico (Beltrame et al. 2011).

Los gasterópodos son útiles como biomonitores, ya que acumulan altas concentraciones de metales en sus tejidos, especialmente en la glándula digestiva (Nicolaidou y Nott 1990; Taylor y Maher 2003; Gay y Maher 2003). Presentan una alta eficiencia de asimilación de los metales contenidos en su dieta y baja velocidad de excreción en relación a otros invertebrados. Asimismo, han sido identificados como biomagnificadores de metales traza y/o pesados (Wang 2002) y por lo tanto, buenos indicadores de biodisponibilidad a través de las cadenas tróficas. *Buccinanops deformis* por ejemplo, es considerado un buen bioindicador de contaminación por TBT (tributilestaño) en las costas Patagónicas, dado que las hembras en sitios con altas concentraciones de este contaminante manifiestan imposex, una característica ampliamente estudiada a escala mundial (Oehlmann et al. 1991; Bigatti et al. 2009; Wang et al. 2010; Titley-O'Neal y MacDonald 2011).

En este capítulo se presentan los resultados y discusión sobre la concentración de metales en *N. granulata* y *B. deformis* de la BSA, tomando estos organismos como biomonitores de la contaminación ambiental. Los cangrejos *N. granulata* fueron muestreados en marisma (MA1, MA3, MA5 y MA8), mientras que los caracoles *B. deformis* en planicie de marea (PM3 y PM8).

Los factores de bioconcentración (FBC) y de bioacumulación (FBA) se calcularon según las siguientes ecuaciones:

$$\text{FBC} = (M_o) / (M_A)$$

$$\text{FBA} = (M_o) / (M_s)$$

Donde M_o es la concentración del metal en el organismo (mg/kg), M_A es la concentración del metal en el agua de mar ($\mu\text{g/L}$) y M_s es la concentración del metal en el sedimento (mg/kg). Para el cálculo correspondiente a *N. granulata* se usaron las concentraciones de sedimentos de marisma (promedio SED-RIZO) mientras que para *B. deformis* las de planicie de marea y de agua de mar (ANEXO C).

Los análisis estadísticos se realizaron mediante pruebas no paramétricas. Se realizaron pruebas de Mann Whitney (MW) y Kruskal Wallis (KW), según correspondiera. Para los análisis de correlación se utilizó el coeficiente de Spearman. Se tomó como significativo un $p < 0,05$. Se consideran las concentraciones promedios de 2013 y 2014.

2. RESULTADOS

2.1. Tallas de individuos de *N. granulata*

Los individuos muestreados fueron machos de tallas promedio de $28,6 \pm 2,8$ mm de ancho de caparazón (AC) y $23,8 \pm 2,4$ mm de largo de caparazón (LC). El peso total (PT) promedio fue de $13,6 \pm 4,5$ g, mientras que el peso del tejido blando (PH) promedio fue de $1,5 \pm 0,5$ g. Los individuos de mayor talla se encontraron mayormente en MA8 y los de menor talla en MA5. El porcentaje de humedad varió entre 79 y 82 % y el contenido de cenizas entre 19 y 24 % (Tabla 5.1).

Tabla 5.1: Medidas morfológicas, pesos, porcentajes de humedad y cenizas de *N. granulata* (media±DE, N=270-300).

Sitio	AC (mm)	LC (mm)	PT (g)	PH (g)	Humedad (%)	Cenizas (%)
MA1	28,3±3,1	23,6±2,6	13,3±4,8	1,5±0,6	79±3	19±4
MA3	28,2±3,0	23,5±2,5	13,5±4,6	1,6±0,6	80±3	22±3
MA5	27,6±2,3	23,0±1,9	11,7±3,5	1,4±0,4	82±3	24±5
MA8	30,0±2,3	24,9±2,0	15,8±4,1	1,7±0,5	81±4	22±4

2.2. Concentraciones de metales en tejido blando de *N. granulata*

Las concentraciones de metales en tejido blando de *N. granulata* presentaron el siguiente orden $Cd < Pb < Zn < Cu < Fe$ (Figura 5.1). Los niveles promedio de Cd variaron entre $0,5 \pm 0,2$ a $1,7 \pm 0,3$ mg/kg. Entre estaciones, en general las concentraciones fueron mayores en invierno, pero sólo de manera significativa en MA1 (KW $p=0,002$). Entre sitios, las concentraciones de Cd fueron mayores en MA8 ($1,1 \pm 0,3$ mg/kg) y MA ($1,15 \pm 0,5$ mg/kg) que en MA1 ($0,8 \pm 0,5$ mg/kg) y MA3 ($0,7 \pm 0,3$ mg/kg) (KW $p < 0,001$).

Respecto del Pb, las concentraciones variaron entre ND y $6,4 \pm 2,3$ mg/kg. Entre estaciones para cada sitio, en MA1 fueron menores en primavera que en el resto de las estaciones (KW $p=0,001$), en el sitio MA3 mayores en verano y menores en primavera (KW $p < 0,001$), en el sitio MA5 mayores en otoño y menores en verano-primavera (KW $p=0,002$) y en el sitio MA8 no presentaron diferencias significativas. Entre sitios, las concentraciones de Pb fueron mayores en MA1 ($4,6 \pm 2,4$ mg/kg), seguidas de MA3 ($1,6 \pm 1,0$ mg/kg) y menores en MA5 ($0,8 \pm 0,5$ mg/kg) y MA8 ($0,8 \pm 0,5$ mg/kg) (KW $p < 0,001$).

Las concentraciones promedio de Cu variaron entre 192 ± 14 y 415 ± 32 mg/kg. En general, los niveles de este metal fueron mayores en invierno y menores en primavera (KW $p < 0,001$ para los 3 sitios), excepto en MA8, donde no presentó diferencias significativas. Entre sitios, las concentraciones de Cu fueron mayores en MA1 (317 ± 77 mg/kg), que no se diferenció de MA3 (295 ± 91 mg/kg), y menores en MA5 (261 ± 68 mg/kg) y MA8 (269 ± 80 mg/kg) (KW $p=0,025$).

En el caso del Zn, las concentraciones promedio variaron entre 90 ± 8 y 147 ± 32 mg/kg. Entre estaciones, en general, las concentraciones de Zn fueron mayores en otoño. En el sitio MA1 presentó mayor concentración en otoño y menor en verano (KW $p=0,001$), en MA3 fue mayor en otoño y menor en verano y primavera (KW $p=0,009$), en MA5 la concentración fue significativamente menor en primavera (KW $p=0,008$) y

en MA8 la concentración fue mayor en otoño (KW $p=0,003$). Entre sitios, las concentraciones de Zn fueron mayores en MA1 (127 ± 25 mg/kg) respecto de los demás sitios MA3 (112 ± 30 mg/kg), MA5 (109 ± 19 mg/kg) y MA8 (110 ± 26 mg/kg) (KW $p=0,004$).

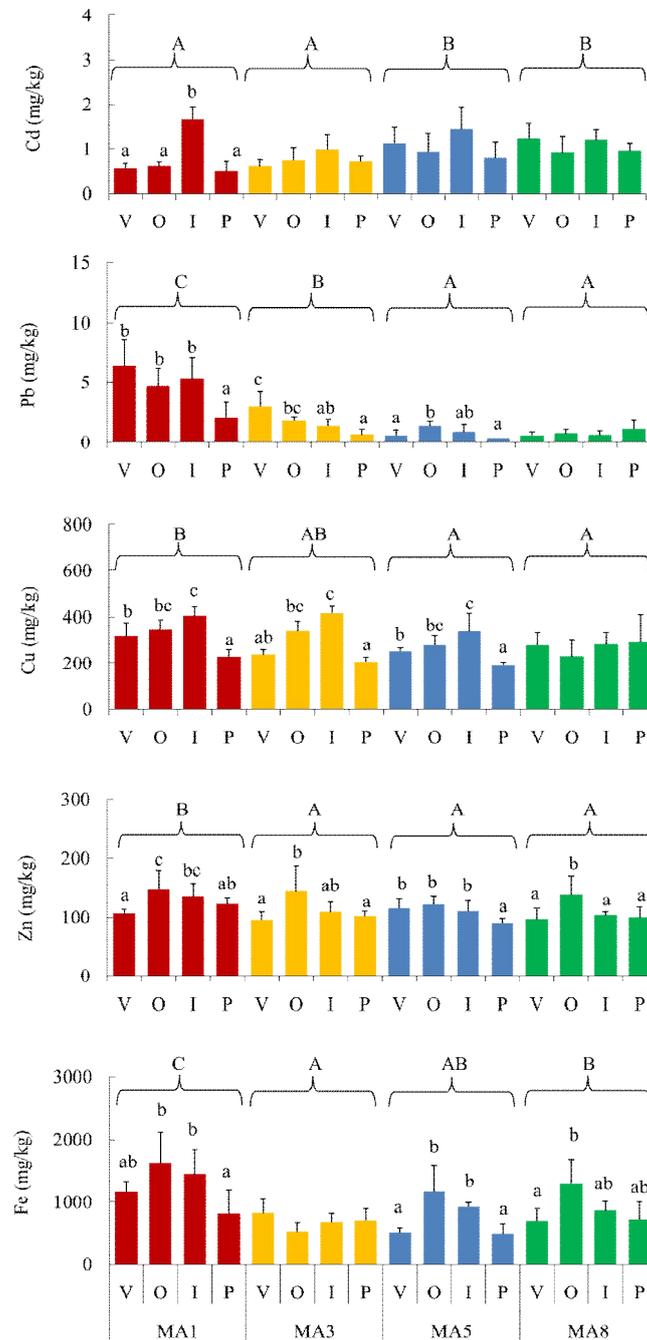


Figura 5.1: Concentraciones de metales en tejido blando de *N. granulata* (media \pm DE en mg/kg, N=6-8). Letras diferentes indican diferencias significativas (KW $p<0,05$), minúsculas entre estaciones y mayúsculas entre sitios.

Por último, las concentraciones promedio de Fe variaron entre 493 ± 154 y 1613 ± 501 mg/kg. En general, fueron mayores en otoño, excepto en MA3. En MA1

fueron más elevadas en otoño-invierno que en primavera (KW $p=0,016$), en MA3 no presentaron diferencias significativas, en MA5 fueron mayores en otoño e invierno (KW $p<0,001$) y en MA8 fueron mayores en otoño y menores en verano (KW $p=0,007$). Entre sitios, las concentraciones de Fe fueron mayores en MA1 (1247 ± 472 mg/kg), seguida de MA8 (887 ± 357 mg/kg), que no se diferenció de MA5 (756 ± 357 mg/kg) y menores en MA3 (678 ± 204 mg/kg) (KW $p<0,001$).

Resumiendo, al comparar entre estaciones, los máximos de concentración para la mayoría de los metales se registraron en otoño-invierno, con excepción del Pb para los sitios MA1 y MA3 (máximos en verano). Entre sitios las concentraciones de todos los metales fueron mayores en organismos de MA1; fue una excepción el Cd, cuya concentración fue mayor en individuos de los sitios MA5 y MA8.

Las concentraciones de metales en tejido blando de *N. granulata* en MA1 presentaron débil correlación entre Pb-Fe ($r=0,390$), moderada entre Cd-Cu ($r=0,410$) y Pb-Cu ($r=0,500$), y fuerte entre Cd-Fe ($r=0,670$). En MA3, Cd-Fe y Pb-Cu presentaron correlación moderada ($r=0,440$ y $r=0,410$ respectivamente). En MA5, Cd-Fe ($r=0,610$), Cd-Zn ($r=0,510$) y Pb-Cu ($r=0,560$) presentaron fuerte correlación, mientras que Cu-Zn ($r=0,470$) y Cu-Fe ($r=0,450$) moderada. En MA8, Cd-Cu ($r=0,500$) y Cd-Zn ($r=0,410$) presentaron correlación moderada, Zn-Fe ($r=0,390$) débil y correlación negativa entre Cu-Fe ($r=-0,490$).

Los factores de bioacumulación para *N. granulata* mostraron que los cangrejos de la BSA poseen capacidad para retener Cd, Zn y Cu, en su organismo. Los FBA de estos elementos fueron siempre >1 , siendo más elevados en MA5 y MA8 que en MA1 y MA3. Se destacan los FBA para Cu, que fueron entre uno y dos órdenes de magnitud mayores que los de Cd y Zn. Para Pb y Fe en cambio, los FBA fueron siempre <1 . Aún en ese caso, el Pb mostró la mayor acumulación en el sitio MA1 (Tabla 5.2).

Tabla 5.2: FBA para *N. granulata* (media \pm DE, N=4).

Sitio/Metal	Cd	Pb	Cu	Zn	Fe
MA1	2,4 \pm 1,5	0,26 \pm 0,13	28 \pm 7	1,9 \pm 0,3	0,09 \pm 0,03
MA3	2,5 \pm 0,4	0,08 \pm 0,04	33 \pm 10	2,2 \pm 0,5	0,05 \pm 0,01
MA5	3,8 \pm 0,8	0,11 \pm 0,06	54 \pm 15	3,4 \pm 0,6	0,07 \pm 0,03
MA8	3,1 \pm 0,7	0,19 \pm 0,07	48 \pm 8	3,6 \pm 0,7	0,06 \pm 0,02

2.3. Tallas de individuos *B. deformis*

Los individuos de *B. deformis* presentaron una talla promedio de $18,0\pm 2,8$ mm de largo de concha (LT) y $10,0\pm 2,8$ mm de ancho de concha (AT). El peso total (PT)

promedio fue de $1,3 \pm 0,6$ g, mientras que el peso del tejido blando (PH) promedio fue de $0,5 \pm 0,3$ g. Las tallas en PM8 fueron mayores a las tallas de PM3. El porcentaje de humedad varió entre 75 y 77 % y el contenido de cenizas fue de 20% (Tabla 5.3).

Tabla 5.3: Medidas morfológicas, pesos, porcentajes de humedad y cenizas de *B. deformis* (media \pm DE, N=270-300).

Sitio	AT (mm)	LT (mm)	PT (g)	PH (g)	Humedad (%)	Cenizas (%)
PM3	10,1 \pm 1,4	17,1 \pm 2,4	1,1 \pm 0,4	0,4 \pm 0,2	77 \pm 3	20 \pm 3
PM8	11,0 \pm 1,8	18,8 \pm 2,9	1,4 \pm 0,6	0,6 \pm 0,3	75 \pm 4	20 \pm 1

2.4. Concentraciones de metales en tejido blando de *B. deformis*

Las concentraciones de metales en tejido blando de *B. deformis* siguieron el siguiente patrón $Pb < Cd < Fe < Cu < Zn$ (Figura 5.2). Los niveles de Cd variaron entre $1,3 \pm 0,8$ a $6,3 \pm 1,4$ mg/kg. En PM3 las concentraciones de este metal fueron menores en otoño, aunque no presentaron diferencias significativas. En PM8 las concentraciones fueron significativamente mayores en verano y primavera respecto de otoño e invierno (KW $p=0,007$). Entre sitios, los valores niveles en PM3 ($5,1 \pm 2,2$ mg/kg) fueron mayores que en PM8 ($3,1 \pm 2,2$ mg/kg) (MW $p=0,004$) (Figura 5.2).

Las concentraciones de Pb variaron entre $<LD$ y $2,0 \pm 0,5$ mg/kg. En PM3, este metal fue detectado durante todo el año con la mayor concentración en otoño, mientras que en PM8 fue detectado sólo en otoño. Entre sitios, la concentración en PM3 ($1,4 \pm 0,8$ mg/kg) fue mayor que en PM8 ($0,5 \pm 0,3$ mg/kg) (MW $p<0,001$) (Figura 5.2).

En relación al Cu, las concentraciones variaron entre 185 ± 52 y 270 ± 68 mg/kg. En PM3 el máximo valor se registró en verano y el menor en otoño, mientras que en PM8 fue mayor en invierno y menor en primavera. No se observaron diferencias significativas entre estaciones. Entre sitios las concentraciones fueron del mismo orden (PM3= 227 ± 56 mg/kg y PM8= 221 ± 50 mg/kg) (Figura 5.2).

En el caso del Zn, las concentraciones variaron entre 222 ± 44 y 404 ± 105 mg/kg. En PM3, la máxima se registró en verano y la mínima en otoño, mientras que en PM8 fue mayor en verano. No se encontraron diferencias significativas entre estaciones. Se obtuvo un contenido más elevado en PM3 (336 ± 108 mg/kg) que en PM8 (239 ± 51 mg/kg) (MW $p=0,001$) (Figura 5.2).

Para Fe, las concentraciones variaron entre 173 ± 54 y 271 ± 101 mg/kg. En PM3, la máxima se registró en verano y la mínima en otoño, mientras que en PM8 fue mayor en otoño y menor en invierno. No se observaron diferencias significativas entre

estaciones y las concentraciones entre sitios fueron similares (PM3= 207±42 mg/kg y PM8= 202±75 mg/kg) (Figura 5.2).

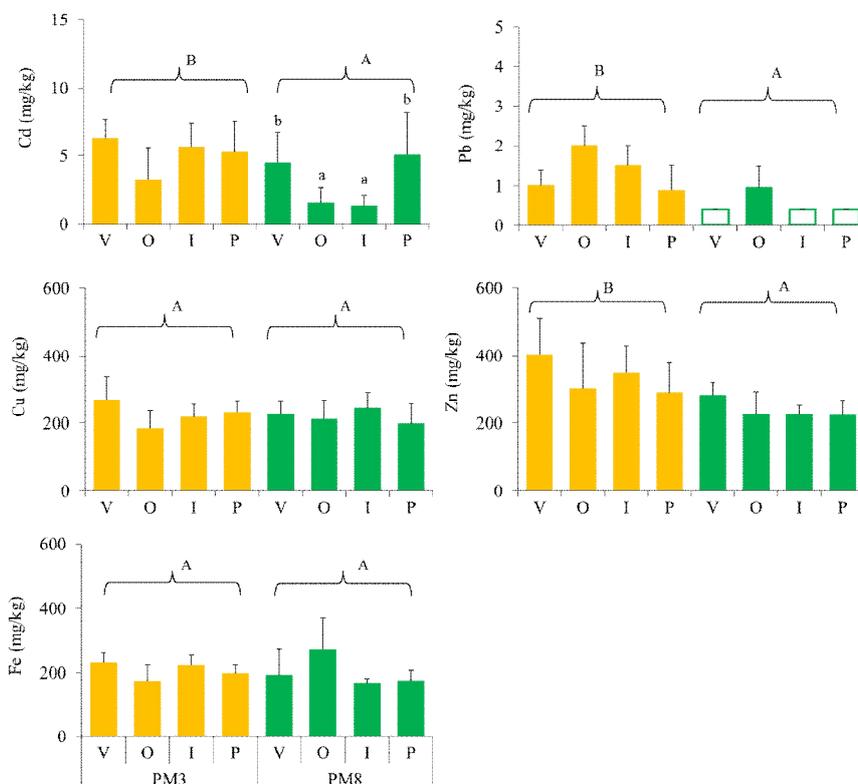


Figura 5.2: Concentraciones de metales en tejido blando de *B. deformis* (media±DE, en mg/kg, N=6). Barras sin relleno indican valores <LD. Letras diferentes indican diferencias significativas entre estaciones (KW p<0,05) y entre sitios (MW p<0,05).

En resumen, las concentraciones de metales en *B. deformis* no presentaron diferencias significativas entre estaciones para Cu, Zn y Fe. Para Cd fueron mayores en primavera-verano en MA8 y para Pb en otoño. Entre sitios, las concentraciones de Pb, Cd y Zn fueron mayores en PM3 respecto de PM8, mientras que Cu y Fe no mostraron diferencias significativas.

El análisis de correlaciones entre las concentraciones de metales en tejido blando de *B. deformis* indicó una fuerte asociación en el caso de Cd-Zn en ambos sitios (PM3 r=0,630 y PM8 r=0,620). En PM3 Pb-Cu presentaron una correlación negativa moderada (r=-0,410) y Cu-Zn una correlación positiva moderada (r=0,450). En PM8, Pb-Fe se correlacionaron positivamente (r=0,560).

Los cálculos de los FBA y FBC se presentan en la Tabla 5.4. Los FBA presentaron el siguiente patrón Fe<Pb<Zn<Cd<Cu, aunque Cd fue mayor a Zn por sus bajas concentraciones en sedimento. El FBA fue mayor a la unidad para Cd en PM3 y para Cu y Zn en ambos sitios. Los FBA de Cu fueron mayores en PM8 y Cd en PM3.

Con respecto a los FBC se observó el siguiente patrón $Pb < Fe < Cd < Cu \approx Zn$. En PM3, este factor fue mayor para Cd, Pb y Zn, mientras que para Cu y Fe fue mayor en PM8. Respecto del Cd se observó que hay una mayor acumulación en MA3 ya sea desde el sedimento o del agua, mientras que en PM8 el Cd no fue detectado en sedimentos pero sí en organismos. Tanto el sedimento como el agua serían posibles fuentes de incorporación, aunque no es posible distinguir cual sería la principal vía a partir de los resultados de este estudio.

Tabla 5.4: FBA y FBC para *B. deformis* (media±DE, N=4)

	Sitio	Cd	Pb	Cu	Zn	Fe
FBA	PM3	23,8±6,1	0,04±0,02	27,8±4,3	6,8±1,0	0,02±0,00
	PM8	sd	0,06±0,04	39,3±3,5	6,6±0,8	0,01±0,00
FBC	PM3	45±20	0,5±0,2	50±13	56±12	4,3±3,5
	PM8	24±16	0,2±0,1	67±19	46±21	5,6±3,8

3. DISCUSIÓN

3.1. *Neohelice granulata*

El sexo es un factor biológico que puede afectar la concentración de metales en crustáceos decápodos (MacFarlane et al. 2000), sin embargo, esto depende de la especie en particular. En el caso de *N. granulata* algunos estudios reportaron que no hay diferencias entre sexos para Cu y Cd (Beltrame et al. 2011; Simonetti et al. 2011), pero sí para otros metales como Zn, Ni y Pb (Simonetti et al. 2013). Por otro lado, Ferrer (2001) reportó diferencias para Cu entre sexos.

En este estudio se evaluaron únicamente los niveles de metales en cangrejos machos, de modo de disminuir la variabilidad durante los diferentes estadios del ciclo reproductivo en los adultos. Los niveles de Cd y Cu fueron mayores en invierno en la mayoría de los sitios, mientras que para Zn y Fe, estos fueron mayores en otoño. Los niveles de Pb, por su parte, fueron máximos en verano en los sitios más internos del canal Encerrado. Durante las estaciones de otoño e invierno los cangrejos son menos activos y presentan una tasa metabólica más baja (Ituarte et al. 2004; Ituarte et al. 2006). Las mayores concentraciones de metales en este período podrían ser el resultado de una menor excreción y un cambio en su modo de alimentación (mayor contenido de detritos), producto de su menor actividad fuera de las cuevas.

El Cd y el Pb son metales no esenciales y no son regulados por los crustáceos decápodos, por lo que se acumulan en cantidades directamente proporcionales a la

concentración externa (MacFarlane et al. 2000; Rainbow 2002). El Pb presentó mayores concentraciones en individuos del sitio más interno al canal Encerrado de acuerdo con las concentraciones en el sedimento, mientras que las concentraciones de Cd fueron en sitios externos al canal. Por otro lado, Cu y Zn son metales esenciales que son regulados por *N. granulata*, el Cu forma parte del pigmento respiratorio hemocianina y el Zn forma parte de numerosas enzimas (Rainbow 1997). El Cu es regulado en el hepatopáncreas, independientemente de su ingesta en la dieta (Sa et al. 2008). Un ingreso de Cu en exceso generalmente es detoxificado por unión a proteínas denominadas metalotioneínas (Viarengo y Nott 1993); por acumulación en vacuolas en forma de gránulos de sulfuros, que luego son eliminadas por exocitosis; por eliminación en heces y orina o acumulado en la hemolinfa u otros órganos de detoxificación (Sa et al. 2008). Por lo tanto, estos metales son regulados hasta cierto nivel de exposición, una vez excedidos pueden ser acumulados proporcionalmente a los niveles externos. Salvo para individuos del sitio más interno al canal Encerrado, no se observaron grandes diferencias entre sitios, lo cual podría indicar que las concentraciones en sedimento no exceden estos umbrales.

Las concentraciones de metales en *N. granulata* de la marisma de la BSA fueron similares a las reportadas por Giarratano et al. (2016) y relativamente más altas que las informadas por Gil et al. (2006) en organismos de la planicie de marea de esta Bahía, excepto en el caso del Pb que fueron ligeramente mayores. En el estuario de Bahía Blanca (Buenos Aires), sitio con una importante contaminación por industrias y urbanización, se han informado concentraciones del mismo orden de magnitud para esta especie (Simonetti et al. 2013), siendo menores en la mayoría de los metales excepto el Cd. En *N. granulata* se han informado valores importantes de Cu en el hepatopáncreas, que es el órgano con mayor concentración de metales en el organismo (Beltrame et al. 2011). Otras especies de cangrejos (de mayor talla) facilitan su medición por órganos y se informan a modo de comparación (Tabla 5.5). En estos, el órgano de mayor importancia bromatológica es el músculo, ya que posee mayor contenido de carne y es de consumo humano. *N. granulata* no es de consumo humano, al menos en esta región, pero sí es presa de una variada fauna en esta Bahía.

Tabla 5.5: Concentraciones de metales en especies de cangrejos en diferentes regiones del mundo (mg/kg).

Especie	Tejido	Cd	Pb	Cu	Zn	Fe
<i>N. granulata</i>	Tejido blando	0,3-1,7	0,4-8,0	174-438	81-168	399-1970
<i>N. granulata</i> ¹	Tejido blando	0,2-2,3	nd-8,2	150-380	78-130	380-1800
<i>N. granulata</i> ²	Tejido blando	<0,08	10-13,2	87-102	68-86	sd
<i>N. granulata</i> ³	Tejido blando	5,2±0,8	3,1±0,7	14,3±2,0	74,1±5,6	sd
<i>N. granulata</i> ⁴	Tejido blando	8,2-9,1	nd-4,66	135-137	33	sd
<i>N. granulata</i> ⁵	Hepatopáncreas	0,94	4,3	126	49	sd
<i>N. granulata</i> ⁶	Hepatopáncreas	2,21	Nd	739	90	sd
<i>Portunus pelagicus</i> ⁷	Hepatopáncreas	16,3-26,3	0,22-2,85	19-62	sd	sd
	Músculo	14,3-22,6	0,15-2,40	17-61	sd	sd
	Exoesqueleto	12,3-20,3	0,15-1,90	16-58	sd	sd
<i>Portunus pelagicus</i> ⁸	Hepatopáncreas	sd	0,71-1,43	46-53	155-166	sd
	Branquias	sd	0,61-1,01	24-27	90-102	sd
	Gónadas	sd	0,23-0,45	8-12	56-70	sd
	Músculo	sd	1,72-2,08	110-143	189-222	sd
<i>Callinectes sp</i> ⁹	Músculo	0,15-0,22	0,11-0,14	46-59	116-131	sd
	Branquias	0,74-0,99	14,45-32,98	225-246	82-101	sd
	Vísceras	0,72-1,32	0,49-0,63	78-112	86-162	sd
<i>Callinectes danae</i> ¹⁰	Músculo	0,01-0,2	0,01-1,73	3-20	20-34	7-21

Referencias: 1. Giarratano et al. 2016; 2. Gil et al. 2006; 3. Ferrer et al. 2006; 4. Simonetti et al. 2013; 5. Beltrame et al. 2010; 6. Beltrame et al. 2011; 7. Bastami et al. 2012; 8. Al-Mohanna y Subrahmanyam 2001; 9. Lavradas et al. 2014; 10. Bordon et al. 2012. nd: no detectable, sd: sin dato.

Metales esenciales y no esenciales poseen la capacidad de producir especies reactivas del oxígeno (ERO) que causan daños a nivel del ADN, peroxidación lipídica e inhibición enzimática. Estudios en *N. granulata* de la BSA no presentaron una presión oxidativa diferenciada entre organismos del canal Encerrado y fuera de este (Giarratano et al. 2016). La toxicidad de los metales en el organismo acumulador no está directamente relacionada con la concentración total acumulada, ya que los metales acumulados son almacenados en formas no disponibles, como por ejemplo en forma de gránulos o complejos de metalotioneínas (Viarengo y Nott 1993; Rainbow 2007). También es posible que los cangrejos de áreas contaminadas hayan desarrollado una tolerancia genética a los metales, lo que indica una fuerte presión ecotoxicológica selectiva (Luoma y Rainbow 2008).

Se ha demostrado que en *N. granulata* el aumento en la salinidad disminuye la toxicidad y acumulación del Cd (Vitale et al. 1999) y del Cu (Machado et al. 2012). También en otros cangrejos como *Carcinus maenas* la acumulación del Zn disminuyó con el aumento de la salinidad (Niyogi et al. 2015). Estos autores indican que ha mayor salinidad aumenta la tolerancia a estos metales, lo que podría explicar además la

tolerancia a metales en el canal Encerrado en particular, y en la Bahía en general respecto de los organismos en otras áreas.

El cangrejo *N. granulata* es detritívoro y herbívoro, en la marisma consume preferencialmente hojas y tallos jóvenes (Bortolus y Iribarne 1999; Silliman y Bortolus 2003) de *S. alterniflora* sobre *S. densiflora*, donde ambas especies coexisten, lo que estaría dado por sus características de palatabilidad (Costa et al. 2003; Alberti et al. 2007; Montemayor et al. 2011). Esto podría limitar la transferencia de metales directamente desde *Spartina*, dado que estas plantas contienen menos metales en sus hojas y tallos jóvenes (Luque et al. 1999; Cambrollé et al. 2008; Salla et al. 2011). En esta tesis sólo se determinó el contenido de metales en hojas y tallos verdes; no se midió el contenido metálico en tejidos senescentes, que podría haber arrojado datos más concluyentes.

3.2. *Buccinanops deformis*

Los individuos analizados tuvieron tallas variables entre 16 y 21 mm. En las poblaciones naturales, las hembras presentan tallas mayores a los machos (Narvarte et al. 2008; Avaca et al. 2013a), aunque en BSA las tallas no difieren entre sexos (Avaca et al. 2013b). Por otro lado, se ha reportado una mayor proporción de machos (Narvarte et al. 2008), posiblemente debido al porcentaje de hembras afectadas por imposex (24-71%) (Willers et al. 2004). En este estudio no se realizó diferenciación de sexos.

Las concentraciones de Cd, Pb y Zn en *B. deformis* fueron mayores en el Canal Encerrado (MA3) que afuera del mismo (MA8), indicando una mayor exposición o biodisponibilidad de metales en los individuos que viven en dicho Canal. Por otro lado, las concentraciones de Cu y Fe fueron similares en ambos sitios. En cuanto a la variación estacional, Cd fue mayor en verano y Pb en otoño. Cu, Zn y Fe no presentaron variaciones estacionales. Metales esenciales como Cu y Zn, no son excretados inmediatamente dada su participación en el metabolismo de los organismos. En tanto, que Cd y Pb se encuentran en menor concentración y no presentan una concentración mínima requerida. Esto indica que los organismos son capaces de regular las concentraciones de metales esenciales como Cu y Zn, y no de metales como Cd y Pb, los cuales se acumulan en los organismos de acuerdo a su disponibilidad en el ambiente (Miskon et al. 2015).

Las concentraciones de Cd y Zn en gasterópodos están fuertemente relacionadas con las concentraciones en sus presas. En consecuencia, los niveles acumulados son indicativos de biodisponibilidad no sólo desde el ambiente sino también desde sus presas (Wang y Ke 2002). Por ejemplo se han registrado previamente concentraciones detectables de Cd, Pb, Cu y Zn en el cangrejo *N. granulata* de la planicie de marea (Giarratano et al. 2016), el cual podría constituir una fuente importante de metales para *B. deformis* a través de la dieta, dada su abundancia en este ambiente.

Las concentraciones de Pb, Zn y Fe en *B. deformis* de BSA fueron similares a las medidas en organismos de la Bahía Nueva (golfo Nuevo); las de Cd también fueron del mismo orden, aunque menores a las registradas en la zona de muelles; las de Cu fueron un orden de magnitud mayor (Primost 2014) (Tabla 5.6). Otros estudios sobre especies de gasterópodos de diferentes regiones reportan valores similares o menores, dependiendo de los hábitos alimenticios de cada especie y de los niveles de contaminantes en las regiones donde se encuentran. Por ejemplo, gasterópodos del Golfo de Evoikos, Grecia (Nicolaidou y Nott 1998), muestran rangos de concentración similares a los de la BSA en sus niveles bajos, pero los máximos rangos de Zn y Fe superaron en mucho estas concentraciones. Este sitio se encuentra en una zona costera influenciada por una planta que extrae Fe y Ni. Los niveles encontrados por Bordbar et al. (2015) en gasterópodos no superan los niveles hallados en BSA para Cu y Zn pero sí en el caso del Fe (Tabla 5.6). Sitios que no reportan contaminación o que presentan baja contaminación, presentan organismos con concentraciones menores a los de BSA, en costas de Islas del Mar Mediterráneo, Sicilia, Italia (Cubadda et al 2001; Conti et al. 2006) y en costas del Golfo Pérsico, Irán (Manavi et al. 2013).

Tabla 5.6: Concentraciones de metales en tejido blando de gasterópodos en diferentes regiones del mundo (mg/kg).

Especie	Cd	Pb	Cu	Zn	Fe
<i>B. deformis</i>	0,54-9,78	nd-2,87	119,6-363,8	134,5-541,5	100,7-396,7
<i>B. deformis</i> ¹	0,12-88,91	nd-1,4	7,0-32,0	24-587	121-291
<i>Monodonta turbinata</i> ²	0,10-5,89	0,06-0,87	3,1-28,3	10,1-61,2	sd
<i>Monodonta tubalensis</i> ²	0,28-4,11	0,06-0,3	6,0-34,7	10,7-40,4	sd
<i>Patella caerulea</i> ²	1,7-11,8	0,06-0,48	0,47-3,79	2,2-19,1	sd
<i>Patella lusitánica</i> ²	2,0-6,6	0,10-1,02	1,42-3,90	5,8-22,8	sd
<i>Bembicium nanum</i> ³	0,20-5,85	sd	5-667	12-452	sd
<i>Monodonta mutabilis</i> ⁴	3,0-5,8	sd	43-223	89-135	158-3632 mg/g
<i>Cerithium vulgatum</i> ⁴	8,0-8,7	sd	1-116	58-3838	356-2675 mg/g
<i>Patella caerulea</i> ⁵	2,68-4,97	0,40-1,28	2,78-9,71	38,40-51,47	sd
<i>Monodonta turbinata</i> ⁵	0,77-1,28	0,62-1,78	10,13-34,89	50,21-60,90	sd
<i>Patella caerulea</i> ⁶	sd	sd	7,2-95,8	38,1-126	843-16232
<i>Phorcus turbinatus</i> ⁶	sd	sd	29,6-117	29,8-212,2	71,1-12492
<i>Certhidea cingulata</i> ⁷	nd-0,002	nd	0,001-0,036	0,014-0,315	
<i>Planaxis sulcatus</i> ⁷	nd-0,003	nd-0,001	0,003-0,115	0,005-0,270	

Referencias: 1. Primost 2014; 2. Cubadda et al. 2001; 3. Gay y Maher 2003; 4. Nicolaidou y Nott 1998; 5. Conti et al. 2006; 6. Bordbar et al. 2015; 7. Manavi 2013. nd: no detectable, sd: sin dato.

4. CONCLUSIONES

En ambas especies, *N. granulata* y *B. deformis*, las concentraciones Cu, Zn y Fe, metales esenciales, fueron mayores a las de Cd y Pb, metales no esenciales. Los niveles de Cu fueron similares en ambas especies, los de Pb y Fe fueron mayores en *N. granulata* y los de Cd y Zn fueron mayores en *B. deformis*. Estos resultados podrían explicarse por las formas de alimentación de cada especie. *N. granulata* presenta un modo de alimentación que favorece el ingreso de partículas de sedimento y con ellas un mayor ingreso de Pb y Fe. En cuanto a su herbivoría en marismas, no se vería afectado por un ingreso de metales, dado que prefiere consumir hojas jóvenes y éstas presentan menor contenido metálico. Por otro lado, Cd y Zn pueden ser incorporados por *B. deformis* no sólo a través del alimento sino también desde el agua, como consecuencia del mayor tiempo de contacto de esta especie con la fase acuosa, y de la mayor movilidad que presentan estos elementos.

En general, las concentraciones tanto de *N. granulata* como de *B. deformis*, fueron mayores en los tejidos blandos de individuos de los sitios dentro del canal Encerrado, como se esperaba dada la mayor concentración de metales en estos sedimentos. Sin embargo, los niveles de acumulación, evaluados como FBA y FBC, fueron menores que los individuos fuera del Canal. Esto indica que si bien los individuos están expuestos a estos sedimentos e incorporan una mayor cantidad de

metales en sus tejidos, no llegan a niveles donde son incapaces de regular su ingreso y detoxificación.

Estas especies no son de consumo humano, al menos en la BSA. Sin embargo, son presas de diversas aves residentes y migratorias que se alimentan en esta zona y pueden ser importantes en la transferencia de metales en la cadena trófica, principalmente para elementos como Cd y Pb, los cuales fueron detectados en sus tejidos.

CONCLUSIONES GENERALES

CONCLUSIONES GENERALES

Las concentraciones de metales en la BSA se vieron influenciadas por el aporte de partículas enriquecidas de los depósitos mineros situados en los alrededores de la localidad de SAO. Estos residuos no cuentan con una apropiada disposición final, por lo que representan un potencial peligro para la población de SAO y para los organismos que habitan la Bahía.

En el Capítulo II los resultados obtenidos mostraron la presencia de altas concentraciones de metales ($Fe > Pb > Zn > Cu > Cd$) en los suelos de la Pila, con elevado riesgo individual para la salud de niños y adultos, con excepción del Cd en estos últimos. El riesgo total al considerar todos los elementos (HI) resultó ser moderado en la situación más favorable (para adultos y uso recreacional) y muy elevado en las restantes (para niños y uso residencial/recreacional y adultos y uso residencial).

La aplicación de distintos índices de contaminación (EF, CF e Igeo) demostró que los sedimentos enriquecidos por estos metales se restringen al canal Encerrado. Únicamente el sitio más interno a dicho Canal presentó niveles de algunos elementos (Pb, Cu y Zn) superiores a los recomendados para la protección de la vida acuática. Las concentraciones se mantienen en el mismo orden que las informadas en años anteriores, marcando el gradiente que existe desde el interior del canal Encerrado hacia el exterior, donde la influencia de contaminación antrópica es despreciable.

En el Capítulo III se evaluó la partición geoquímica de los elementos estudiados en los sedimentos de marisma. Todos los metales se encontraron asociados principalmente a la fracción residual, excepto el Pb, que se encontró en mayor proporción en la fracción reducible. Entre las fases no residuales, la fracción de mayor movilidad (intercambiable y unida a carbonatos) fue la menos representada, mientras que la asociada a los oxi-hidróxidos de Fe y Mn fue la predominante. Esta última fracción corresponde a formas reducibles que, si bien su biodisponibilidad no es directa, podrían ser liberadas frente a cambios en las condiciones ambientales, como Eh, pH y/o salinidad. La proporción de metales asociada a la fracción oxidable en sedimentos anóxicos fue mayor que en sedimentos aeróbicos. A diferencia de los otros elementos, Fe y Cd predominaron en esa fracción respecto de la reducible en sedimentos anóxicos.

En términos generales, la fitoestabilización en los sedimentos fue notoria sólo en el sitio más interno del Canal y en el sitio control. En dichos casos, el rizosedimento

presentó mayores niveles de metales respecto del sedimento adyacente, marcando una influencia positiva en su capacidad de retención.

En el Capítulo IV se evaluó el contenido de metales en *Spartina*, resultando más elevado en plantas del interior del Canal. Aún en ese caso, los FBA de plantas internas fueron inferiores a las externas, mostrando cierta capacidad de regulación. Por otro lado, los valores medidos en los sedimentos del Canal, nunca superaron los niveles que, según la literatura, podrían ser fitotóxicos. Según los resultados, la capacidad de translocación fue reducida en todos los casos.

A nivel global de la Bahía, la marisma no ejercería un rol importante en la distribución espacial de los metales de la Pila. Ello puede atribuirse a que en el área más enriquecida (dentro del canal Encerrado) la marisma posee baja cobertura y es del tipo media-alta, donde la retención ocurre en menor medida que en marisma baja. El área de marisma baja de BSA es de gran amplitud, pero se desarrolla fuera del Canal.

En el Capítulo V se evaluó el contenido de metales en el cangrejo *N. granulata* y el caracol *B. deformis*, ambos importantes eslabones en la cadena trófica de este ecosistema. Para ambas especies las concentraciones de los metales esenciales Cu, Zn y Fe superaron las de los no esenciales Cd y Pb y en todos los casos los niveles medidos en los tejidos fueron mayores en el interior del Canal. Los modos de alimentación de cada especie podrían ser factores importantes en la incorporación de cada metal. En *N. granulata* la ingestión de partículas de sedimento favorecería el ingreso de Pb y de Fe. En *B. deformis*, ya sea por ser carroñero o por su mayor tiempo de contacto con la fase acuosa, se facilitaría la incorporación de elementos más móviles como Cd y Zn. Ambas especies de invertebrados son presa de aves residentes y migratorias de la Bahía, y pueden ser importantes en la transferencia de metales en la cadena trófica.

A más de 20 años de haberse registrado por primera vez la presencia de sedimentos contaminados en la BSA, este trabajo de tesis demuestra que los antiguos depósitos mineros continúan siendo un potencial peligro, dado que actúan como una fuente de metales y aún presentan riesgo para la salud de la población de SAO. Actualmente, la contaminación de los sedimentos se restringe al canal Encerrado y los sedimentos más internos a éste no cumplen con los niveles más estrictos para la protección de la vida acuática.

En la marisma, las concentraciones en rizosedimentos fueron ligeramente mayores que en los sedimentos adyacentes, pero con igual patrón en cuanto a las

particiones geoquímicas. En términos generales, a pesar del potencial de fitoestabilización de las plantas, estas no habrían tenido una influencia relevante en el destino de los metales dentro de la Bahía dada la poca cobertura de zonas de marisma en el canal.

Finalmente, estos resultados ponen de manifiesto la importancia de llevar a cabo el plan de remediación sobre los residuos mineros. En particular, se resalta la necesidad de evitar la dispersión del material durante su manipulación, a los efectos de no incrementar el riesgo en el ecosistema.

ANEXO A: Metodología

Lectura de metales mediante EAA

La determinación de metales (Cd, Pb, Cu, Zn y Fe) en extractos de sedimentos (pseudototal y biodisponibles), vegetación e invertebrados se realizó mediante espectrofotómetro de absorción atómica (EAA), Modelo IL 457 (Figura A.1), utilizando llama de aire/acetileno y corrección de fondo con lámpara de deuterio. Las condiciones del equipo para cada elemento se detallan en la Tabla A.1. Se realizaron curvas de calibración polimetálicas a partir de patrones MERCK de 1000 mg/kg de cada metal (Tabla A.2).



Figura A.1: Espectrofotómetro de absorción atómica IL457

Tabla A.1: Condiciones del equipo de EAA IL 457 y límites de detección del instrumento (LDI) para cada elemento.

Metal	λ (nm)	Voltaje (mV)	Corriente (mA)	LDI (mg/L)
Cd	228,8	800	3	0,01
Pb	283,3	800	5	0,20
Cu	324,7	620	5	0,05
Zn	213,9	900	3	0,01
Fe	248,3	1000	8	0,10

Tabla A.2: Concentraciones de los estándares para las curvas de calibración (expresadas en mg/L).

Metal	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Cd	0,01	0,02	0,05	0,10	0,20	0,40
Pb	0,20	0,40	1,00	2,00	4,00	8,00
Cu	0,05	0,10	0,25	0,50	1,00	2,00
Zn	0,01	0,02	0,05	0,10	0,20	0,40
Fe	0,10	0,20	0,50	1,00	2,00	4,00

Lectura de metales mediante ICP-OES

La determinación de metales (Cd, Pb, Cu, Zn y Fe) para la extracción secuencial se realizó mediante espectrómetro de emisión por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES), Modelo Agilent 720 (Figura A.2) y las condiciones de operación del equipo se detallan en las Tablas A.3 y A.4. Se realizaron curvas de calibración polimetálicas a partir de patrones ICP-OES Standards Agilent de 1000 mg/kg de cada metal (Tabla A.5).



Figura A.2: Espectrofotómetro de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES), Modelo Agilent 720.

Tabla A.3: Condiciones de operación de ICP-OES.

Parámetro	Nivel
Power RF	1,0 kW
Flujo gas plasma	15 L/min
Flujo gas auxiliar	1,5 L/min
Velocidad de bomba	15 rpm
Tipo de nebulizador	
Presión del nebulizador	180 Kpa
Retraso de muestra	20 s
Tiempo de estabilización	15 s
Tiempo de lavado	60 s
Replicas	3
Tiempo de replicas	15 s

Tabla A.4: Longitudes de onda y límites de detección del instrumento (LDI) para cada elemento.

Metal	Línea (nm)	LDI (mg/L)
Cd	214,499	0,002
Pb	220,353	0,01
Cu	324,754	0,01
Zn	213,857	0,01
Fe	259,940	0,02

Tabla A.5: Concentraciones de los estándares para las curvas de calibración (expresadas en mg/L).

Metal	Concentraciones bajas					Concentraciones altas				
	E1	E2	E3	E4	E5	E1	E2	E3	E4	E5
Cd	0,005	0,01	0,02	0,05	0,1	0,005	0,01	0,025	0,05	0,5
Pb	0,025	0,05	0,125	0,25	0,5	0,05	0,1	0,25	0,5	5
Cu	0,025	0,05	0,125	0,25	0,5	0,05	0,1	0,25	0,5	5
Zn	0,025	0,05	0,125	0,25	0,5	0,05	0,1	0,25	0,5	5
Fe	0,5	1	2,5	5	10	50		100		200

Calidad de los datos analíticos

Para asegurar la calidad de los datos se utilizó material de referencia certificado (MRC) para cada matriz. A continuación, se detallan los porcentajes de recuperación para cada matriz y los límites de detección (LD) considerados en cada caso (Tabla A.6, A.7 y A.8).

Tabla A.6: Concentraciones de metales y porcentajes de recuperación en material de referencia para sedimento PACS-2 (media±DE, mg/kg, N=5).

Metal	Pseudototal			Biodisponibles		
	CC	CO	%R	CO	%R	LD
Cd	2,1	1,8±0,1	84	2,0±0,1	93	0,25
Pb	183	164,7±2,2	90	152,0±2,0	82	5,00
Cu	310	262,3±6,5	85	224,4±1,6	72	0,63
Zn	364	369,0±20,9	101	349,0±18,4	96	0,25
Fe (%)	4,1	3,2±0,1	78	1,22±0,04	30	1,00

Tabla A.7: Concentraciones de metales y porcentajes de recuperación en material de referencia: tejido vegetal (BCR-060) y tejido de ostras (SRM-1566b) (media±DE, mg/kg, N=5).

Metal	BCR-060			SRM-1566b			
	CC	CO	%R	CC	CO	%R	LD
Cd	2,2	2,1±0,2	95	2,5	2,6±0,1	104	0,10
Pb	64	53,2±5,3	83	0,3	<LD	sd	1,00
Cu	51,2	42,7±5,7	83	71,6	70,4±2,8	98	0,25
Zn	313	404,2±83,2	129	1424	1470,3±160,6	103	0,10
Fe	2378*	1958±430	82	205,8	218,5±21,6	106	0,50

*Calculado a partir de Fe₂O₃

Tabla A.8: Concentraciones de metales y porcentajes de recuperación en material de referencia para sedimento PACS-2 por el método BCR (media±DE, mg/kg, N=5).

Metal	ΣF _i	Pseudototal	% R	LD
Cd	2,49±0,18	2,12±0,62	117	0,08
Pb	150,1±1,3	163,7±1,8	92	0,4
Cu	255,6±3,6	260,7±3,2	98	0,4
Zn	302,4±5,8	298,7±3,2	101	0,4
Fe	28457±488	30254±268	94	0,8

ANEXO B: Concentraciones obtenidas en sedimentos con el método BCR y análisis Tucker

Tablas con las concentraciones de cada metal en las fracciones geoquímicas determinadas por el método BCR en sedimentos de marisma.

Tabla B.1: Concentraciones de Cd en cada fracción geoquímica del método BCR (N=12, mg/kg).

Sitio	Tipo		F1	F2	F3	F4	%F1	%F2	%F3	%F4
MA1	RIZO	Media±DE	<LD	0.07±0.04	<LD	0.18±0.04	<LD	21±11	<LD	54±10
		Rango	<LD	<LD-0.10	<LD	0.13-0.22	<LD	<LD-33	<LD	42-65
	SED	Media±DE	<LD	0.07±0.03	0.10±0.12	0.15±0.08	<LD	21±10	31±37	46±24
		Rango	<LD	<LD-0.10	<LD-0.28	<LD-0.24	<LD	<LD-30	<LD-98	<LD-58
MA3	RIZO	Media±DE	<LD	0.05±0.02	0.07±0.06	0.14±0.07	<LD	18±8	25±21	47±23
		Rango	<LD	<LD-0.09	<LD-0.16	<LD-0.20	<LD	<LD-30	<LD-56	14-62
	SED	Media±DE	<LD	<LD	0.06±0.04	0.14±0.05	<LD	<LD	20±14	46±13
		Rango	<LD	<LD	<LD-0.11	0.09-0.19	<LD	<LD	<LD-41	31-62
MA5	RIZO	Media±DE	<LD	<LD	0.06±0.04	<LD	<LD	<LD	21±13	51±12
		Rango	<LD	<LD	<LD-0.11	<LD	<LD	<LD	<LD-40	36-62
	SED	Media±DE	<LD	<LD	0.05±0.02	0.17±0.05	<LD	<LD	17±9	56±9
		Rango	<LD	<LD	<LD-0.08	0.11-0.21	<LD	<LD	<LD-31	44-63
MA5*	RIZO	Media±DE	<LD	0.09±0.01	0.09±0.01	0.11±0.05	<LD	30±3	26±26	34±17
		Rango	<LD	0.08-0.11	<LD-0.24	<LD-0.16	<LD	26-34	<LD-65	<LD-49
	SED	Media±DE	<LD	<LD	<LD	0.13±0.04	<LD	<LD	<LD	49±10
		Rango	<LD	<LD	<LD	0.09-0.18	<LD	<LD	<LD	36-60
MA8	RIZO	Media±DE	<LD	<LD	0.12±0.06	0.15±0.03	<LD	<LD	32±16	44±8
		Rango	<LD	<LD	<LD-0.19	0.12-0.20	<LD	<LD	<LD-51	37-52
	SED	Media±DE	0.07±0.03	<LD	0.12±0.15	0.14±0.07	19±5	<LD	31±36	41±21
		Rango	<LD-0.12	<LD	<LD-0.34	<LD-0.21	<LD-27	<LD	<LD-85	<LD-57

Tabla B.2: Concentraciones de Pb en cada fracción geoquímica del método BCR (N=12, mg/kg).

Sitio	Tipo		F1	F2	F3	F4	%F1	%F2	%F3	%F4
MA1	RIZO	Media±DE	0.42±0.16	28.46±11.23	2.07±1.51	0.80±0.73	2±1	89±9	6±2	5±7
		Rango	<LD-0.57	17.30-43.87	0.86-4.07	<LD-1.69	<LD-2	77-100	4-8	<LD-15
	SED	Media±DE	<LD	6.40±1.60	0.79±0.32	1.50±1.02	<LD	73±7	11±7	17±9
		Rango	<LD	4.89-8.17	0.52-1.22	<LD-2.65	<LD	67-82	5-19	<LD-23
MA3	RIZO	Media±DE	<LD	20.88±2.10	1.11±0.63	<LD	<LD	113±12	6±3	<LD
		Rango	<LD	18.73-23.67	0.47-1.84	<LD	<LD	100-127	2-10	<LD
	SED	Media±DE	<LD	25.36±4.34	1.32±0.62	<LD	<LD	112±8	6±3	<LD
		Rango	<LD	19.32-29.29	0.51-1.92	<LD	<LD	102-121	2-10	<LD
MA5	RIZO	Media±DE	<LD	7.37±0.27	0.79±0.23	<LD	<LD	96±3	10±3	<LD
		Rango	<LD	7.01-7.65	0.59-0.98	<LD	<LD	92-100	7-13	<LD
	SED	Media±DE	<LD	5.80±0.74	0.58±0.29	<LD	<LD	86±5	9±5	6±6
		Rango	<LD	5.18-6.82	<LD-0.84	<LD	<LD	84-90	3-13	<LD-11
MA5*	RIZO	Media±DE	<LD	7.48±0.38	0.78±0.32	<LD	<LD	98±6	10±4	<LD
		Rango	<LD	7.04-7.80	0.48-1.17	<LD	<LD	93-107	6-14	<LD
	SED	Media±DE	<LD	6.11±1.01	0.63±0.35	<LD	<LD	98±7	10±6	<LD

	Rango	<LD	4.96-7.18	<LD-0.94	<LD	<LD	89-105	<LD-16	<LD	
MA8	RIZO	Media±DE	<LD	3.02±0.36	0.48±0.02	0.51±0.38	<LD	73±9	12±1	12±8
		Rango	<LD	2.56-3.31	<LD-0.50	<LD-0.98	<LD	64-81	11-13	<LD-21
	SED	Media±DE	<LD	3.08±0.49	0.50±0.11	0.41±0.19	<LD	82±14	13±4	11±5
		Rango	<LD	2.41-3.49	<LD-0.66	<LD-64	<LD	66-97	<LD-19	<LD-24

Tabla B.3: Concentraciones de Cu en cada fracción geoquímica del método BCR (N=12, mg/kg).

Sitio	Tipo		F1	F2	F3	F4	%F1	%F2	%F3	%F4
MA1	RIZO	Media±DE	<LD	5.39±1.22	0.33±0.15	7.97±0.93	<LD	38±6	2±1	58±6
		Rango	<LD	3.69-6.45	<LD-0.46	7.28-9.25	<LD	31-43	<LD-3	53-65
	SED	Media±DE	<LD	2.91±0.21	<LD	6.00±0.20	<LD	31±1	<LD	65±1
		Rango	<LD	2.67-3.19	<LD	6.12-6.20	<LD	29-32	<LD	64-66
MA3	RIZO	Media±DE	<LD	2.44±0.33	<LD	5.92±0.30	<LD	28±3	<LD	68±3
		Rango	<LD	2.12-2.86	<LD	5.58-6.31	<LD	24-31	<LD	64-71
	SED	Media±DE	<LD	3.04±0.38	<LD	6.06±0.33	<LD	32±2	<LD	64±2
		Rango	<LD	2.64-3.48	<LD	5.60-6.36	<LD	29-34	<LD	62-66
MA5	RIZO	Media±DE	<LD	1.35±0.09	<LD	4.31±0.21	<LD	22±1	<LD	71±1
		Rango	<LD	1.25-1.43	<LD	4.08-4.58	<LD	22-23	<LD	70-71
	SED	Media±DE	<LD	1.54±0.16	<LD	4.74±0.26	<LD	24±1	<LD	70±1
		Rango	<LD	1.31-1.64	<LD	4.11-4.71	<LD	23-25	<LD	69-71
MA5*	RIZO	Media±DE	<LD	0.99±0.07	<LD	3.86±0.16	<LD	19±1	<LD	74±1
		Rango	<LD	0.88-1.05	<LD	3.70-4.03	<LD	17-20	<LD	72-75
	SED	Media±DE	<LD	0.87±0.15	<LD	3.33±0.53	<LD	19±2	<LD	72±2
		Rango	<LD	0.78-1.09	<LD	2.89-3.54	<LD	17-20	<LD	70-75
MA8	RIZO	Media±DE	<LD	1.07±0.83	0.48±0.20	4.41±0.47	<LD	16±11	8±4	72±7
		Rango	<LD	0.58-2.31	<LD-0.63	3.97-5.04	<LD	10-33	<LD-11	62-78
	SED	Media±DE	<LD	0.90±0.28	0.42±0.18	3.61±0.61	<LD	18±7	11±5	70±8
		Rango	<LD	0.66-1.30	<LD-0.63	2.71-4.03	<LD	12-28	<LD-11	59-76

Tabla B.4: Concentraciones de Zn en cada fracción geoquímica del método BCR (N=12, mg/kg).

Sitio	Tipo		F1	F2	F3	F4	%F1	%F2	%F3	%F4
MA1	RIZO	Media±DE	4.10±2.84	51.00±16.38	2.37±1.69	28.10±6.48	5±3	57±11	3±2	35±13
		Rango	0.91-6.98	28.41-65.09	0.90-3.96	18.41-31.81	1-7	43-70	1-4	20-52
	SED	Media±DE	1.26±0.47	15.80±2.18	1.56±0.77	27.89±3.20	3±1	33±3	3±2	61±2
		Rango	0.58-1.58	13.92-18.83	0.78-2.52	23.16-30.05	1-3	30-36	1-5	58-63
MA3	RIZO	Media±DE	3.38±1.03	19.86±1.18	1.22±1.04	25.15±1.79	7±2	40±2	3±2	51±2
		Rango	1.94-4.29	18.76-21.38	<LD-2.44	22.84-27.10	4-8	37-42	1-5	48-53
	SED	Media±DE	3.22±0.34	25.11±1.85	1.53±0.86	25.58±2.78	6±0	45±2	3±2	46±3
		Rango	2.93-3.67	23.24-27.63	0.41-2.47	21.73-28.38	5-6	43-47	1-4	44-51
MA5	RIZO	Media±DE	1.49±0.19	9.26±0.92	1.56±0.96	22.88±2.16	4±1	27±1	5±3	66±3
		Rango	1.31-1.71	7.92-9.97	<LD-2.32	20.43-25.68	4-5	25-28	<LD-7	63-70
	SED	Media±DE	2.48±2.22	8.32±1.31	1.60±0.92	22.70±0.60	7±6	24±4	5±3	66±2
		Rango	1.17-5.80	7.06-9.77	<LD-2.33	22.02-23.49	4-16	20-29	<LD-7	63-68
MA5*	RIZO	Media±DE	2.46±0.47	8.31±0.50	1.18±0.80	21.64±1.48	7±1	25±2	4±2	64±3
		Rango	2.05-3.11	7.71-8.92	0.47-2.19	20.60-23.78	7-9	22-26	1-7	61-67
	SED	Media±DE	3.28±0.36	6.80±1.67	1.78±1.41	18.68±2.43	11±2	22±4	6±5	61±5
		Rango	2.79-3.65	5.43-8.95	0.66-3.68	15.07-20.14	8-12	18-26	2-13	55-67
MA8	RIZO	Media±DE	2.64±0.76	5.22±0.82	3.67±2.11	19.55±1.80	10±1	17±1	11±5	63±7
		Rango	1.83-3.66	4.50-6.40	1.22-6.32	17.53-21.20	6-10	15-18	4-17	56-72

SED	Media±DE	2.88±0.35	6.06±1.92	2.63±1.44	17.74±4.26	10±1	21±8	9±5	61±11
	Rango	2.68-3.40	3.93-8.60	1.51-4.57	16.58-21.86	9-10	13-32	5-15	47-73

Tabla B.5: Concentraciones de Fe en cada fracción geoquímica del método BCR (N=12, mg/kg).

Sitio	Tipo		F1	F2	F3	F4	%F1	%F2	%F3	%F4
MA1	RIZO	Media±DE	1.32±0.36	2564±338	220±130	11805±431	<1	18±1	2±1	81±1
		Rango	0.80-1.62	2249-3006	109-358	11470-12437	<1	16-19	1-3	80-83
	SED	Media±DE	0.85±0.03	2474±519	247±111	11485±439	<1	17±3	2±1	81±3
		Rango	0.81-0.89	1990-3207	79-35	10948-12022	<1	15-21	1-2	77-85
MA3	RIZO	Media±DE	18.94±34.31	2135±214	203±169	10725±521	<1	16±1	2±1	82±2
		Rango	1.49-70.41	1883-2378	9-353	10119-11392	<1	16-17	0-3	81-84
	SED	Media±DE	10.19±18.15	2219±284	218±139	10817±584	<1	17±1	2±1	82±2
		Rango	0.80-37.41	1984-2599	25-331	10200-11605	<1	16-18	0-3	80-84
MA5	RIZO	Media±DE	0.93±0.13	1983±332	172±151	10601±896	<1	16±2	1±1	83±2
		Rango	0.80-1.04	1567-2264	37-306	9668-11824	<1	13-17	0-2	80-85
	SED	Media±DE	1.21±1.44	2076±240	173±126	10768±1522	<1	16±2	1±1	83±3
		Rango	0.84-3.82	1800-2351	60-290	9301-12822	<1	14-18	0-2	79-85
MA5*	RIZO	Media±DE	22±24	3618±808	253±187	9332±1172	<1	27±6	2±1	71±6
		Rango	2-56	2634-4595	51-429	8614-10979	<1	19-35	0-3	65-80
	SED	Media±DE	58±20	1269±560	283±236	8688±421	<1	12±5	3±2	85±5
		Rango	1-69	741-1911	54-599	8493-9299	<1	7-18	1-6	79-90
MA8	RIZO	Media±DE	98±25	2294±319	4759±1004	8156±2339	<1	17±2	31±6	55±8
		Rango	72-125	1891-2578	3961-5886	5736-11356	<1	13-18	26-37	44-64
	SED	Media±DE	102±38	2275±669	2330±2462	8839±2855	<1	17±6	15±15	78±16
		Rango	72-152	1650-3212	434-5903	6055-12790	<1	10-25	4-37	47-83

Desarrollo de técnicas quimiométricas: Tucker 4

Estos procedimientos permiten visualizar de forma sencilla información no accesible a primera vista en una tabla de datos. La matriz de datos resultante del fraccionamiento químico BCR es un cubo \underline{X} de tres dimensiones [muestras x metales x fracciones]. La mejor forma de extraer la información contenida en una matriz de datos N-dimensional es utilizar métodos N-vías que se aplican directamente a la matriz de datos original, en nuestro caso un hiper cubo \underline{X} de 4 dimensiones [muestras x metales x fracciones x estaciones] que contiene los resultados del fraccionamiento químico en el sedimento en las diferentes estaciones del año.

El modelo Tucker4 utilizado tiene entonces 4 modos (I x J x K x L) correspondientes a muestras, metales, fracciones y estaciones, respectivamente, donde I=30, J=5, K=4 y L=4. El hiper cubo \underline{X} con elementos x_{ijkl} se descompone en 4 matrices **A** (I x P), **B** (J x Q), **C** (K x R) y **D** (L x S), con elementos a_{ip} , b_{jq} , c_{kr} y d_{ls} , respectivamente. El número de las columnas ortogonales en **A**, **B**, **C** y **D** están dadas

por P, Q, R y S que son el número de factores seleccionados en cada modo. El modelo puede escribirse como sigue:

$$x_{ijkl} = \sum_{p=1}^P \sum_{q=1}^Q \sum_{r=1}^R \sum_{s=1}^S a_{ip} b_{jq} c_{kr} d_{ls} g_{pqrs} + e_{ijkl} \quad (\text{Ec.1})$$

En la ecuación (Ec.1), e_{ijkl} es el elemento del hipercubo $\underline{\mathbf{E}}$ (I x J x K x L) que está compuesto por los residuales, es decir, la información no expresada por el modelo, y g_{pqrs} es el elemento del hipercubo (*core*) $\underline{\mathbf{G}}$ (P x Q x R x S), que contiene información acerca de la interrelación existente entre los elementos de los distintos modos. Específicamente, los elementos del núcleo juegan un rol de peso, la magnitud es proporcional a la importancia de la interacción entre el vector de carga p_i en el primer modo, el vector de carga q_i en el segundo modo, el vector de carga r_i en el tercer modo y el vector de carga s_i en el cuarto modo. La medida cuantitativa de la importancia de cada elemento del núcleo es llamada varianza del núcleo, y se calcula dividiendo g_{pqrs}^2 por la suma de cuadrados totales de los elementos del núcleo.

Aplicación del modelo Tucker4

Previo a la aplicación del modelo, los datos experimentales se escalan (autoescalado) de manera que cada columna de la matriz de datos tenga una media = 0 y una varianza = 1, obteniéndose una matriz normalizada. A continuación, mediante el programa informático Matlab se aplica el algoritmo Tucker4. Dado que este modelo permite utilizar distinto número de factores en cada modo, es necesario seleccionar el modelo más sencillo, que a la vez explique de la mejor forma posible los resultados del fraccionamiento químico. El modelo adecuado es aquel que posee una suma de cuadrados elevada o una suma de cuadrados residual pequeña (*deviance*). En este caso, se usó el criterio de Ceulemans-Kiers (Ceulemans y Kiers 2006) también llamado método de selección basado en casco numérico convexo (*convex hull*). La elección del modelo se basa en encontrar una baja *deviance*, un número relativamente pequeño de parámetros libres y un número de grados de libertad alto. Para cada modelo posible se calcula la *deviance* y los grados de libertad. Los grados de libertad se calculan como la diferencia entre el número de datos independientes y el número de parámetros libres (fp) como se describe a continuación (Ceulemans y Kiers 2006; Kroonenberg 2008):

$$fp = IxP + JxQ + KxR + LxS + PxQxRxS - P^2 - Q^2 - R^2 - S^2 \quad (\text{Ec.2})$$

A continuación se realiza un gráfico de puntos de la *deviance* versus los grados de libertad para cada modelo, como se observa en la figura B.1. Los puntos que corresponden a los modelos con menor *deviance* y grados de libertad más altos se ubican en el extremo de la figura, delimitando el llamado *convex hull*. Entre los modelos que componen el casco numérico convexo, se debe seleccionar el modelo más adecuado. Esto se realiza utilizando el llamado *criterio st*. Para ello se calculan los valores de *st* para cada modelo según la siguiente ecuación (Ceulemans y Kiers 2006):

$$st_i = \frac{(dev_{i-1} - dev_i)/(df_{i-1} - df_i)}{(dev_i - dev_{i+1})/(df_i - df_{i+1})} \quad (\text{Ec.3})$$

De estos modelos se elegirá aquel que posea el mayor valor de *st*. De esta manera se asegura obtener un modelo con una dimensionalidad pequeña y la mayor varianza explicada. Para el modelo seleccionado se realiza la descomposición según la Ec.1 obteniendo las correspondientes matrices **A**, **B**, **C**, **D** y el hipercubo **G**. Este último, indicará cuales son las interacciones significativas entre los distintos modos para explicar el comportamiento del sistema estudiado. La interpretación del modelo se realiza a través los gráficos de cargas (*loadings*) obtenidos para las matrices **A**, **B**, **C** y **D** y de la información brindada por los elementos de **G**.

Resultados

En nuestro caso, el modelo Tucker4: muestras, metales, fracciones y estaciones formando los modos del hipercubo de datos **X** (I x J x K x L) donde I=30, J=5, K=4 y L=4. El modelo Tucker4 aportó varios modelos que resultaban adecuados para explicar la información contenida en el fraccionamiento químico. La dimensionalidad se estudió hasta el valor [4, 4, 4, 4], ya que los modelos con mayor dimensionalidad resultan ser más complejos. Se graficó la *deviance* versus los grados de libertad para cada modelo (Figura B.1), extrayéndose 8 modelos que cumplen con las condiciones de menor *deviance* y altos grados de libertad. Para estos modelos se calculó el *st*-criterio (Tabla B.6).

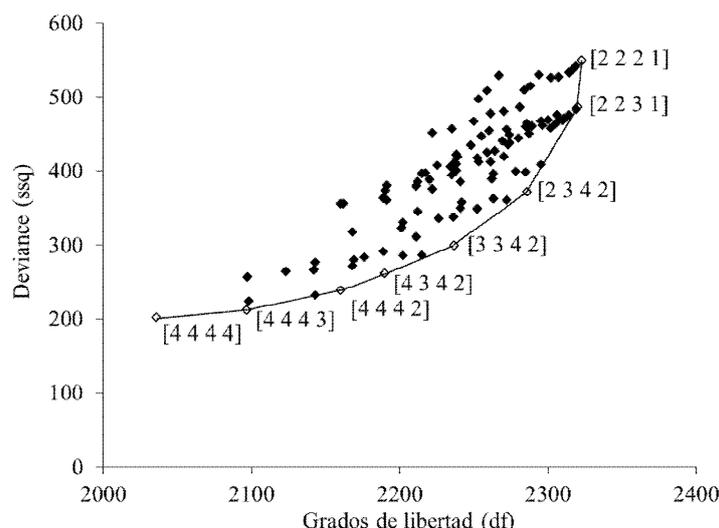


Figura B.1: Gráfico de la *deviance* versus grados de libertad para cada modelo Tucker4.

Tabla B.6: Modelos seleccionados y st-criterio.

Modelo	df	ssq	st-criterio
[2 2 2 1]	2323	549.89	
[2 2 3 1]	2320	485.54	6.37
[2 3 4 2]	2286	371.13	2.31
[3 3 4 2]	2237	299.70	1.76
[4 3 4 2]	2190	260.89	1.09
[4 4 4 2]	2160	238.2	1.79
[4 4 4 3]	2097	211.58	2.53
[4 4 4 4]	2036	201.39	

El análisis mediante Tucker4 muestra esta información de manera conjunta y más resumida. El modelo más adecuado fue [2 2 3 1], ya que presentó el mayor valor de st y explicó un 95% de la varianza de los datos experimentales. Por tanto, las muestras y los metales tendrán dos factores significativos para el modo A y modo B, respectivamente, las fracciones tendrán 3 factores para el modo C y las estaciones un factor para el modo D. (Figura B.2). Los elementos más significativos del hipercubo **G** para este modelo se muestran en la tabla B.7, que explicaron un 92,4% de la varianza recogida en el hipercubo **G**. La interpretación del modelo se realizó a través de la combinación de los factores y el signo que acompaña a cada elemento del *core*.

El primer elemento del *core* [1 1 1 1] explicó la relación de los factores A1, B1, C1 y D1, contribuyó con un 63,19 % de la varianza. En este caso se relacionaron las muestras (A1), los metales (B1) y las estaciones (D1), todas con cargas negativas, con los valores de carga positivos de las fracciones (C1), dado que el elemento del *core* fue negativo (-34,6). De esto, podemos concluir que la interacción indica que las muestras

presentaron, en general, el mayor contenido en metales en la fracción residual (F4), con menor proporción el Pb.

Tabla B.7: Elementos del hipercubo G.

Elementos del <i>core</i> (g)			
[A B C D]	<i>Core value</i>	<i>Core variation</i> %	<i>Acumulated</i> %
[1 1 1 1]	-34.6	63.19%	63.19%
[1 2 2 1]	-19.1	19.26%	82.44%
[2 1 2 1]	10.3	5.57%	88.02%
[2 2 2 1]	9.1	4.35%	92.37%

La segunda interacción relacionó los factores A1, B2, C2 y D1 y explicó un 19,26% de la variación ($g=-19,1$). Las muestras (A1) y estaciones (D1) con cargas negativas se relacionaron con las cargas negativas los metales (B2) y las cargas positivas de las fracciones (C2). Indicando en todas las muestras una fuerte relación del contenido de Pb y Zn con la fracción de oxi-hidróxidos de Fe y Mn (F2). Cu no se encontró asociado a ninguna fracción en particular. Cd y Fe se distribuyeron en las fracciones F1, F3, F4.

La tercer interacción combinó los factores A2, B1, C2 y D1 aportando con un 5,57% de la variación ($g=10,3$). Los metales (B1) y las estaciones (D1), presentaron cargas negativas y se relacionaron con las cargas positivas de las muestras (A2) y las fracciones (C2). En esta interacción se observó que los parches MA1-RIZO, MA3-RIZO y MA-SED presentaron un mayor contenido de metales en la fracción de oxi-hidróxidos de Fe y Mn (F2).

Por último, la interacción de los factores A2, B2, C2 y D1 explicó un 4,35% de la variación ($g=9,1$). Nuevamente mostró la diferenciación de los parches MA1-RIZO, MA3-RIZO y MA-SED con un mayor contenido de Pb y Zn asociados a la fracción reducible.

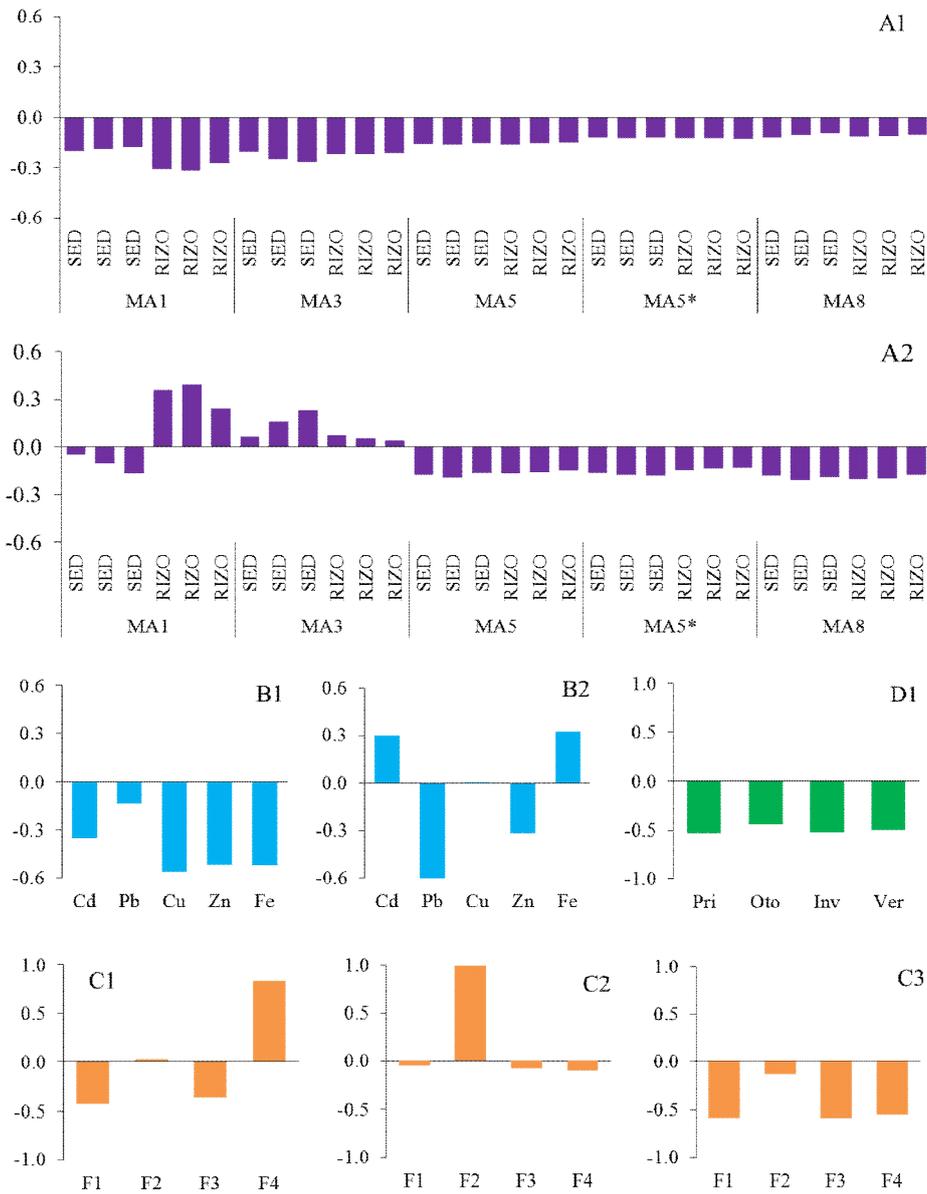


Figura B.2: Cargas de factores A, B, C y D.

ANEXO C: Caracterización del agua de mar

El agua de mar en la BSA fue media en dos sitios, dentro del canal Encerrado en el sitio PM3 y fuera del mismo en PM8. Las muestras se tomaron en marea baja en el intermareal. El sitio PM3 presentó mayor variabilidad estacional y, en general, mayores concentraciones de nitratos+nitritos, amonio, PRS y silicatos que el sitio PM8. Los fitopigmentos fueron similares, con una mayor relación de clorofila/feofitinas en PM8 respecto de PM3 (Figura C.1). La temperatura varió de acuerdo a la época estacional, siendo menores en invierno (7,9 y 10,0 °C) y mayores en verano (23,7 y 29,9 °C). La conductividad y salinidad fueron mayores en PM8, el oxígeno disuelto (OD) siempre fue superior a 100%, el pH fue similar en ambos sitios con 8,2-8,3 (Tabla C.1).

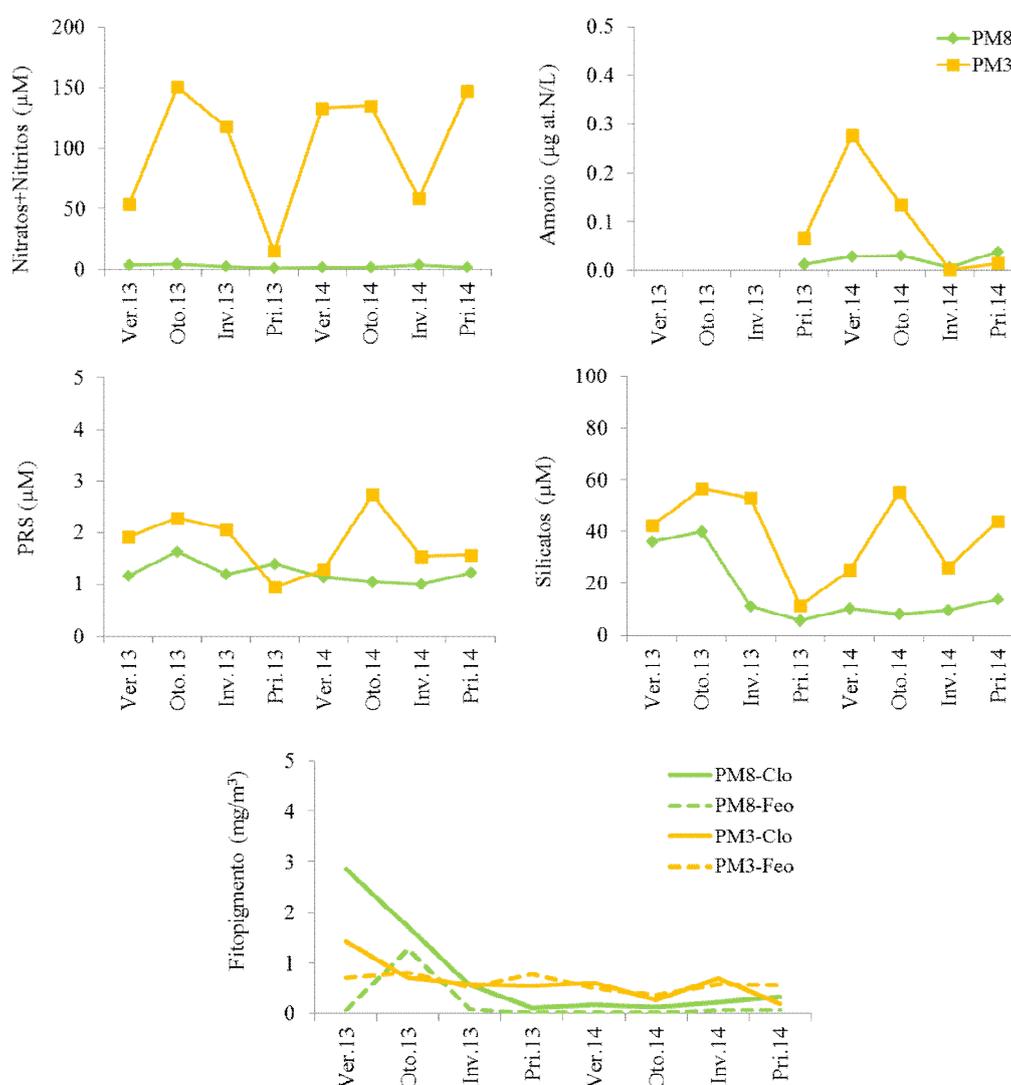


Figura C.1: Concentraciones de nutrientes y fitopigmentos en agua de mar de la BSA.

Tabla C.1: Parámetros medidos en agua de mar de la BSA (media±DE, N=8).

Parámetro	PM8	PM3
Nitrato+Nitrito (μM)	2,2±1,1	101,5±51,3
Amonio (μM)	0,02±0,01	0,13±0,10
PRS (μM)	1,2±0,2	1,8±0,6
Silicato (μM)	16,8±13,3	39,2±16,6
Clorofila <i>a</i> (mg/m^3)	0,8±1,0	0,6±0,4
Feofitina (mg/m^3)	0,2±0,4	0,6±0,2
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	10,0-29,9	7,9-23,7
Conductividad (mS/cm)	48780±8845	43959±5949
Salinidad	37,6±2,4	36,1±1,8
OD (%)	116±15	143±23
pH	8,2±0,2	8,3±0,3
Eh (mV)	129±56	148±72

Las concentraciones de metales en agua de mar presentaron concentraciones similares entre sitios, no presentaron diferencias significativas. En verano de 2014 presentaron un pico en las concentraciones de Cd, Pb, Cu y Fe.

Tabla C.2: Concentraciones de metales en agua de mar de la BSA (media±DE, $\mu\text{g}/\text{L}$, N=8).

Variable	PM8		PM3	
	Lábil	Total	Lábil	Total
Cd	0,10±0,03	0,13±0,04	0,11±0,02	0,13±0,06
Pb	2,18±0,57	3,96±2,43	2,16±0,79	3,09±0,62
Cu	1,38±0,51	3,45±1,44	1,84±1,31	4,81±2,94
Zn	4,18±2,18	6,25±3,28	3,58±0,84	6,11±1,98
Fe	11,95±8,05	64,63±70,64	39,86±75,15	91,88±95,81

Tabla C.3: Concentraciones pseudototales de metales en sedimentos de planicie de marea (fracción <63 μm) (media±DE, N=3).

Sitio	Cd	Pb	Cu	Zn	Fe
PM3	0,2±0,0	33,0±0,0	8,1±0,2	49,6±0,1	11327±542
PM8	<LD	8,4±0,1	5,6±0,0	36,2±0,0	14322±1086

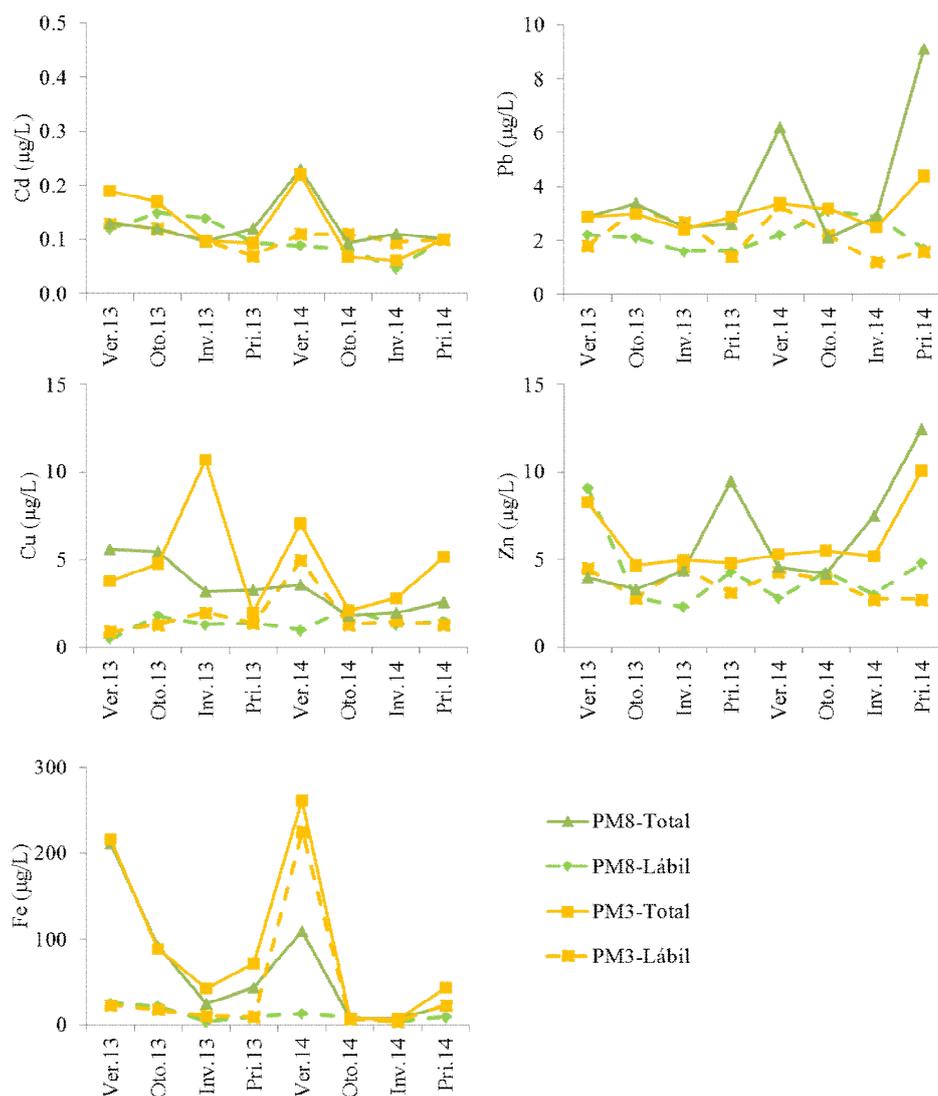


Figura C.2: Concentraciones de metales en agua de mar, línea continua concentraciones totales y línea punteada concentraciones lábiles, expresadas en µg/L.

ANEXO D: Publicaciones vinculadas a ésta tesis**Presentaciones en congreso:**

- Marinho CH**, Esteves JL, Gil MN (2014) Metales traza asociados a residuos mineros en la bahía de San Antonio. III Taller Argentino de Ciencias Ambientales (TACA). Córdoba, Córdoba, Argentina. Exposición oral.
- Giarratano E, Malanga G, **Marinho CH**, Gil MN (2014) Respuesta bioquímica del cangrejo excavador *Neohelice granulata* proveniente de una zona afectada por la actividad minera en la bahía de San Antonio. Vº Congreso Argentino Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC). Neuquén, Argentina. Exposición Póster.
- Giarratano E, **Marinho C**, Malanga G, Gil MN (2015) *Buccinanops globulosus* como bioindicador de contaminación por metales en la zona costera patagónica. IX Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar. Tierra del Fuego, Argentina. Exposición Oral.
- Giarratano E, **Marinho CH**, Malanga G, Gil MN (2015) Impact of metals derived from passive mining wastes on crabs *N. granulata* from the Natural Protected Area San Antonio bay, Río Negro, Argentina. SETAC Latin America 11 th Biennial Meeting. Buenos Aires, Argentina Exposición Póster.
- Marinho CH**, Giarratano E, Narvarte AM, Gil MN (2016) Invertebrados de la Bahía de San Antonio como biomonitores de metales. VI Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental de Argentina (SETAC). Córdoba, Córdoba, Argentina. Exposición Póster.
- Marinho CH**, Giarratano E, Gil MN (2016) Partición geoquímica de metales en sedimentos por el método BCR en la marisma de la Bahía de San Antonio, Argentina. IV Reunión Argentina de Geoquímica de la Superficie (RAGSU). Puerto Madryn, Chubut, Argentina. Exposición Póster.

Publicaciones en revistas:

- Giarratano E, Gil MN, **Marinho CH**, Malanga G (2016) Metal from mine waste as potential cause of oxidative stress in burrowing crab *Neohelice granulata* from San Antonio bay. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 132: 68-76.
- Marinho CH**, Giarratano E, Esteves JL, Narvarte MA, Gil MN (2017) Hazardous metal pollution in a protected coastal area from Northern Patagonia (Argentina). *Environmental Science and Pollution Research* doi: 10.1007/s11356-017-8393-y

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta JA, Jansen B, Kalbitz K, Faz A, Martínez S (2011) Salinity increases mobility of heavy metals in soils. *Chemosphere* 85:1318–24.
- ACS, RFF (1998) *Understanding Risk Analysis (A Short Guide for Health, Safety and Environmental Policy Making)*. A Publication of the American Chemical Society (ACS) and Resources for the Future (RFF) - written by M. Boroush, ACS, Washington, DC.
- Agemian H, Chau A (1976) Evaluation of extraction techniques for the determination of metals in aquatic sediments. *The Analyst*, 101(1207): 761-767.
- Alberti J, Escapa M, Daleo P, Iribarne O, Silliman B, Bertness M (2007) Local and geographic variation in grazing intensity by herbivorous crabs in SW Atlantic salt marshes. *Mar Ecol Prog Ser* 349:235-243.
- Alberts JJ, Price MT, Kania M (1990) Metal concentrations in tissues of *Spartina alterniflora* (Loisel) and sediments of Georgia salt marshes. *Estuar Coast Shelf Sci* 30: 47-58.
- Alderete S, Esteves JL, Carabajal M, Narvarte M (2009) Informe de la evolución de la contaminación con plomo en la localidad de San Antonio Oeste, Provincia de Río Negro y análisis de otros casos similares. Fundación Patagonia Natural. Proyecto: Consolidación e Implementación del Plan de Manejo de la Zona Costera Patagónica para la Conservación de la Biodiversidad. ARG/02/G31 GEF – PNUD.
- Aliotta S, Schnack EJ, Isla FI, Lizasoain GO (2000) Desarrollo secuencial de forma de fondo en un régimen macromareal. *Asociación Argentina de Sedimentación*, 7(1-2): 95-107.
- Almeida CMR, Mucha AP, Vasconcelos MT (2011) Role of different salt marsh plants on metal retention in an urban estuary (Lima estuary, NW Portugal). *Estuar Coast Shelf Sci* 91: 243-249.
- Al-Mohanna SY, Subrahmanyam MNV (2001) Flux of heavy metal accumulation in various organs of the intertidal marine blue crab, *Portunus pelagicus* (L.) from the Kuwait coast after the Gulf War. *Environ Int* 27: 321-326.
- Amín O, Ferrer L, Marcovecchio J (1996) Heavy metal concentrations in littoral sediments from the Beagle Channel, Tierra del Fuego, Argentina. *Environ Monit Assess* 41:219-231.
- Angelelli V (1984) Yacimientos metalíferos de la República Argentina. Volumen II. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, 704 pp.
- Anjum NA, Ahmad I, Válega M, Mohmood I, Gill SS, Tuteja N, Duarte AC, Pereira E (2013) Salt marsh halophyte services to metal-metalloid remediation: Assessment of the processes and underlying mechanisms. *Environ Sci Technol* 44: 2038-2106.
- Ansari TM, Marr IL, Tariq N (2004) Heavy metals in marine pollution perspective. A mini review. *Journal Applied Sciences* 4 (1):1-20.
- AOAC (1995) *Official Methods of Analyses of Association of Analytical Chemist*. 16th ed. Washington, DC.
- APHA, AWWA, WEF (2012) *Standard Methods for examination of water and wastewater*. 22nd ed. Washington: American Public Health Association, 1360 pp. ISBN 978-087553-013-0.
- Appenroth KJ (2010) Chapter II: Definition of “Heavy Metals” and Their Role in Biological Systems. In: *Soil Heavy Metals, Soil Biology*. Volume XVIII N pp 492. Sherameti I, Varma A (Eds) Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp 19-29. ISBN 978-3-642-02435-1.
- Aprile FM, Bouvy M (2008) Distribution and enrichment of heavy metals in sediments at the Tapacurá River Basin, Northeastern Brazil. *Braz J Aquat Sci Technol* 12(1):1-8. ISSN 1808-7035.
- Avaca MS, Narvarte MA, Martín PR (2010) Description of the radula of *Buccinanops globulosus* (Neogastropoda: Nassariidae) and an assessment of its variability among Northern Patagonian Gulfs. *Malacologia* 53(1):175–184.
- Avaca MS, Narvarte MA, Martín PR (2013a) Age, growth and mortality in *Buccinanops globulosus* (Gastropoda: Nassariidae) from Golfo Nuevo (Argentina). *Mar Biol Res* 9:208–219.

- Avaca MS, Narvarte MA, Martín PR, van der Molen S (2013b) Shell shape variation in the nassariid *Buccinanops globulosus* in northern Patagonia. *Helgol Mar Res* 67(3):567–577.
- Baeyens W, Monteny F, Leermakers M, Bouillon S (2003) Evaluation of sequential extractions on dry and wet sediments. *Anal Bioanal Chem* 376: 890-901.
- Baker AJM (1981) Accumulators and excluders – strategies in the response of plants to heavy metals. *J Plant Nutr* 3:64-654.
- Barceló J, Poschenrieder C (2003) Phytoremediation: principles and perspectives. *Contrib. Sci.* 2:333–344.
- Bargagli R (1998) Trace elements in terrestrial plants e an ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery. Springer, Berlin. 324 pp.
- Barron MG (2002) Chapter 32: Bioaccumulation and bioconcentration in aquatic organisms. In: Handbook of ecotoxicology. Hoffman DJ et al. (Eds) 2 Ed. Boca Raton London New York Washington, D.C.
- Barutot RA, D’Incao F, Fonseca DB (2011) Natural diet of *Neohelice granulata* (Dana, 1851) (Crustacean, Varunidae) in two salt marshes of the estuarine region of the Lagoa dos Patos Lagoon. *Braz Arch Biol Technol* 54(1):91-98.
- Bas C, Luppil T, Spivak E (2005) Population structure of the South American Estuarine crab, *Chasmagnathus granulatus* (Brachyura: Varunidae) near the southern limit of its geographical distribution: comparison with northern populations. *Hydrobiologia* 537: 217-228.
- Bastami AA, Khoei JK, Esmailian M (2012) Bioaccumulation of heavy metals in sediment and crab, *Portunus pelagicus* from Persian Gulf, Iran. *Middle East J Sci Res* 12(6):886-892.
- Beltrame MO, De Marco SG, Marcovecchio EJ (2010) Influences of sex, habitat, and seasonality on heavy metal concentrations in the burrowing crab (*Neohelice granulata*) from a coastal lagoon in Argentina. *Arch Environ Contam Toxicol* 58: 746–756.
- Beltrame MO, De Marco SG, Marcovecchio EJ (2011) The burrowing crab *Neohelice granulata* as potential bioindicator of heavy metals in estuarine systems of the Atlantic coast of Argentina. *Environ Monit Assess* 172:379–389.
- Bigatti G, Primost M, Cledo’n M, Averbuj A, Theobald N, Gerwinski W, Arntz W, Morriconi E, Penchaszadeh PE (2009) Contamination by TBT and imposex biomonitoring along 4700 km of Argentinean shoreline (SW Atlantic: from 38S to 54S). *Mar Environ Res* 58(5):695–701.
- BOE (1991) Normas microbiológicas, límites de contenido en metales pesados y métodos analíticos para su determinación en los productos de la pesca y acuicultura con destino al consumo humano. *Boletín Oficial del Estado, España*, 195:5937-41.
- Bonanno G, Lo Giudice R (2010) Heavy metal bioaccumulation by the organs of *Phragmites australis* (common reed) and their potential use as contamination indicators. *Ecol Indic* 10:639-645.
- Bonuccelli R, Malán J, Luna L, Torres L (2004) Contaminación por metales pesados derivados de la lixiviación de escorias de fundición. San Antonio Oeste. Río Negro. IBMP Serie Publicaciones 3:63-66.
- Bordas F, Bourg ACM (1998) A critical evaluation of sample pretreatment for storage of contaminated sediments to be investigated for the potential mobility of their heavy metal load. *Water Air Soil Pollut* 103:137-149.
- Bordbar L, Dassenakis M, Catsiki VA, Megalofonou P (2015) Influence of a ferronickel smelting plant activity on the coastal zone through investigation of metal bioaccumulation on two gastropod species (*Patella caerulea* and *Phorcus turbinatus*). *J Environ Anal Toxicol* S7 002.
- Bordon ICAC, Sarkis JES, Tomás ARG, Salco A, Lima M, Hortellani MA, Andrade NP (2012) Assessment of metal concentrations in muscles of the Blue crab *Callinectes danae* S., from the Santos Estuarine system. *Bull Environ Contam Toxicol* 89:484-488.
- Bortolus A (2006) The austral cordgrass *Spartina densiflora* Brong: its taxonomy, biogeography and natural history. *J Biogeogr* 33:158–168.

- Bortolus A, Iribarne O (1999) The effect of the southwestern Atlantic burrowing crab *Chasmagnathus granulata* on a *Spartina* salt marsh. *Mar Ecol Prog Ser* 178:79–88.
- Bortolus A, Laterra P, Iribarne O (2004) Crab mediated phenotypic changes in *Spartina densiflora* Brong. *Estuar Coast Shelf Sci* 59:97-107.
- Bortolus A, Schwindt E, Iribarne O (2002) Positive plant-animal interactions in the high marsh of an Argentinean coastal lagoon. *Ecology* 83(3):733-742.
- Boschi EE (1964) Los Crustáceos Decápodos Brachyura del litoral Bonaerense. *Boletín del Instituto de Biología Marina (Mar del Plata; Argentina)* 6:1-99.
- Botsou F, Godelitsas A, Kaberi H, Mertzimekis TJ, Goettlicher J, Steininger R, Scoullou M (2015) Distribution and partitioning of major and trace elements in pyrite-bearing sediments of a Mediterranean coastal lagoon. *Chemie der Erde* 75:219-236.
- Botto F, Valiela I, Iribarne O, Martineto P, Alberti J (1995) Impact of burrowing crabs on C and N sources, control, and transformations in sediments and food webs of SW Atlantic estuaries. *Mar Ecol Prog Ser* 293:155-164.
- Botto JL, Irigoyen HR (1980) Bioecología de la comunidad del cangrejal: I Contribución al conocimiento biológico del cangrejo de estuario *Chasmagnathus granulata* Dana (Crustacea Decapoda, Grapsidae) en la desembocadura del Río Salado, Provincia de Buenos Aires. Seminario Latinoamericano de Ecología Bentónica y Sedimentología de la Plataforma Continental del Atlántico Sur. UNESCO, Montevideo: 161-169.
- Branco JO (1991) Aspectos ecológicos dos Brachyura (Crustacea: Decapoda) no manguezal do Itacorubi, SC Brasil. *Rev bras Zool* 7(1-2):165-179.
- Brown CE, Pezeshki SR, De Laune RD (2006) The effects of salinity and soil drying on nutrient uptake and growth of *Spartina alterniflora* in a simulated tidal system. *Environ Exp Bot* 58:140-148.
- Burke DJ, Weis JS, Weis P (2000) Release of metals by the leaves of the salt marsh grasses *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis*. *Estuar Coastal Shelf Sci* 51:153-159.
- Byers SC, Mills EL, Stewart PL (1978). A comparison of methods of determining organic carbon in marine sediments, with suggestions for a standard method. *Hydrobiologia*, 58(1):43-47.
- Caçador I, Caetano M, Duarte B, Vale C (2009) Stock and losses of trace metals from salt marsh plants. *Mar Environ Res* 67:75-82.
- Caetano M, Vale C, Cesário R, Fonseca N (2008) Evidence for preferential depths of metal retention in roots of salt marsh plants. *Sci Total Environ* 390:466-474.
- Cambrollé J, Mateos-Naranjo E, Redondo-Gómez S, Luque T, Figueroa ME (2011) The role of two *Spartina* species in phytostabilization and bioaccumulation of Co, Cr, and Ni in the Tinto-Odiel estuary (SW Spain). *Hydrobiologia* 671:95-103.
- Cambrollé J, Redondo-Gómez S, Mateos-Naranjo E, Figueroa ME (2008) Comparison of the role of two *Spartina* species in terms of phytostabilization and bioaccumulation of metals in the estuarine sediment. *Mar Pollut Bull* 56: 2037–42.
- Canepuccia Ad, Alberti J, Daleo P, Pascual J, Farina JL, Iribarne OO (2010) Ecosystem engineering by burrowing crabs increases cordgrass mortality caused by stem boring insects. *Mar Ecol Prog Ser* 404:151-159.
- Carbone ME, Melo WD, Piccolo MC (2014) Procesos ambientales que afectan la bahía de San Antonio y su área de adyacencia (Prov. De Río Negro). *Huellas* 18 ISSN: 0329-0573 (impresa) / 2362-5643 (en línea).
- Castellanos ZA (1996) Los invertebrados. Tomo III. Primera Parte - Moluscos. Los celomados (excluido Artrópodos). Estudio Sigma SRL, 43–112.
- CCME (2001a) Canadian Council of Ministers of the Environment. Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: Introduction. Updated. In: Canadian environmental quality guidelines, 1999, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.
- CCME (2001b) Canadian Council of ministers of the Environment [online] Disponible en: http://www.ccme.ca/en/resources/canadian_environmental_quality_guidelines [Acceso Febrero 2016].

- CCME (2007) Canadian Council of Ministers of the Environment. 2007. Canadian soil quality guidelines for the protection of environmental and human health: Summary tables. Updated September, 2007. In: Canadian environmental quality guidelines, 1999, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.
- Ceulemans E, Kiers HKL (2006) Selecting among three-mode principal component models of different types and complexities: A numerical convex hull based method. *Br J Math Stat Psychol* 56:133-150.
- Chapman PM, Wang F (2001) Assessing sediment contamination in estuaries. *Environ Toxicol Chem* 20:3-22.
- Chapman PM, Wang F, Adams W, Green A (1999) Appropriate applications of sediment quality values for metals and metalloids. *Environ Sci Technol* 33:3937-41.
- Chapman PM, Wang F, Janssen C, Persoone G, Allen HE (1998) Eco-toxicology of metals in aquatic sediments: Binding and release, bioavailability, risk assessment and remediation. *Can J Fish Aquat Sci* 55: 2221-43.
- Clark RB (1992) *Marine Pollution*. Clarendon Press-Oxford. Third Edition. 172 pp.
- Clements SM, Palmgren MG, Krämer U (2002) A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant Sci* 7(7):309-315.
- Clevenger TE (1990) Use of sequential extraction to evaluate the heavy metals in mining wastes. *Water Air Soil Pollut* 50:241-254.
- Cobbett C, Goldsbrough P (2002) Phytochelatins and metallothioneins: Roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu Rev Plant Biol* 53:159-82.
- Comisión Multisectorial por la problemática del plomo en San Antonio Oeste (2017) [online] Disponible en: <https://multisectorialplomo.org/> [Acceso Febrero 2017].
- CONAMA (2009) Resolução CONAMA Nº 420/2009 - "Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas." - Data da legislação: 28/12/2009 - Publicação DOU nº 249, de 30/12/2009, pp 81-84.
- Conti ME, Iacobucci M, Mecozzi M, Cecchetti G (2006) Trace metals in soft tissues of two marine gastropod molluscs: *Monodonta turbinata* B. and *Patella caerulea* L. collected in a marine reference ecosystem. In *Environmental Problems in Coastal Regions VI*. Brebbia CA (Ed), pp 3-11.
- Costa CSB, Marangoni JC, Azevedo AMG (2003) Plant zonation in irregularly flooded salt marshes: relative importance of stress tolerance and biological interactions. *J Ecol* 91:951-965.
- Couto T, Duarte B, Barroso D, Caçador I, Marques JC (2013) Halophytes as sources of metals in estuarine systems with low level of contamination. *Funct Plant Biol* 40(9):931-939.
- Cubadda F, Conti ME, Campanella L (2001) Size dependent concentrations of trace metals in four Mediterranean gastropods. *Chemosphere* 45:561-569.
- Cuong D, Obbard JP (2006) Metal speciation in coastal marine sediments from Singapore using a modified BCR sequential extraction procedure. *Appl Geochem* 21:1335-46.
- Curado G, Rubio-Casal AE, Figueroa E, Castillo JM (2014) Potential de *Spartina maritima* in restored salt marshes for phytoremediation of metals in a highly polluted estuary. *Int J Phytoremediation* 16: 1209-20.
- Daleo P, Escapa M, Isacch JP, Ribeiro P, Iribarne O (2005) Trophic facilitation by the oystercatcher *Haematopus palliatus* Temminck on the scavenger snail *Buccinanops globulosum* Kiener in a Patagonian bay. *J Exp Mar Biol Ecol* 325:27-34.
- Davidson CM, Duncan AL, Littlejohn D, Ure AM, Garden LM (1998) A critical evaluation of the three-stage BCR sequential extraction procedure to assess the potential mobility and toxicity of heavy metals in industrially-contaminated land. *Anal Chim Acta* 363:45-55.
- Davies BE (1974) Loss on ignition as an estimate of soil organic matter. *Soil Sci* 38:150-151
- De Lacerda LD, Carvalho CEV, Tanizaki KF, Ovalle ARC, Rezende CE (1993) The Biogeochemistry and trace metals distribution of mangrove rhizospheres. *Biotropica*, 25(3):252-257.

- De Lacerda LD, Freixo JL, Coelho SM (1997) The effect of *Spartina alterniflora* Loisel on trace metals accumulation in inter-tidal sediments. *Mangroves and Salt Marshes*, 1:201-209.
- Delgado J, Barba-Brioso C, Nieto JM, Boski T (2011) Speciation and ecological risk of toxic elements in estuarine sediments affected by multiple anthropogenic contributions (Guadiana saltmarshes, SW Iberian Peninsula): I. Superficial sediments. *Sci Tot Environ* 409:3666-79.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW (2008) InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Di Toro DM, McGrath JA, Hansen DJ, Berry WJ, Paquin PR, Mathew R, et al. (2005) Predicting sediment metal toxicity using a sediment biotic ligand model: methodology and initial application. *Environ Toxicol Chem* 24:2410-27.
- D'Incao F, Silva KG, Rutiño ML, Braga AC (1990) Hábito alimentar do caranguejo *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 na barra de Rio Grande, RS (Decapoda, Grapsidae). *Atlántica*, Rio Grande, Vol. 12, pp. 85-93.
- Dong Y, Ma LQ, Rhue RD (2000) Relation of enhanced Pb solubility to Fe partitioning in soils. *Environ Pollut* 110:515-522.
- Du Laing G, De Vos R, Vandecasteele B, Lesage E, Tack FMG, Verloo MG (2008) Effect of salinity on heavy metal mobility and availability in intertidal sediments of the Scheldt estuary. *Estuar Coastal Shelf Sci* 77:589-602.
- Du Laing G, Rinklebe J, Vandecasteele B, Meers E, Tack FM (2009) Trace metal behaviour in estuarine and riverine floodplain soils and sediments: a review. *Sci Total Environ* 407:3972-85.
- Duarte B, Almeida PR, Caçador I (2009) *Spartina maritima* (cordgrass) rhizosediment extracellular enzymatic activity and its role in organic matter decomposition processes and metal speciation. *Mar Ecol* 30(1):65-73.
- Duffus JH, Nordberg M, Templeton DM (2007) Glossary of terms used in toxicology (IUPAC Recommendations 2007). 2nd Edition. *Pure Appl Chem* 79 (7): 1153-1344.
- EPA US Environmental Protection Agency (1986). Air Quality Criteria for Lead. Vol. I of IV. Environmental Criteria and Assessment Office, Research Triangle Park, NC. EPA-600/8-83/028aF. Available from NTIS, Springfield, VA; PB87-142378.
- Escofet AM, Orensanz JM, Olivier S, Scarabino V (1977) Biocenología bentónica del Golfo San Matías (Río Negro, Argentina): metodología, experiencias y resultados del estudio ecológico de un gran espacio geográfico en América Latina. *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología*
- Ferrer L (2001) Tesis Doctoral: Estudio de diversos metales pesados en sedimentos del estuario de Bahía Blanca y sus efectos tóxicos sobre el cangrejo *Chasmagnathus granulata*. Universidad Nacional del Sur 212 pp.
- Ferrer L, Andrade S, Asteasuain R, Marcovecchio J (2006) Acute toxicities of four metals on the early life stages of the crab *Chasmagnathus granulata* from Bahía Blanca estuary, Argentina. *Ecotoxicol Environ Saf* 65:209-217.
- Filgueiras AV, Lavilla I, Bendicho C (2002) Chemical sequential extraction for metal partitioning in environmental solid samples. *J Environ Monit* 4:823-857.
- Fitzgerald EJ, Caffrey JM, Nesaratnam ST, McLoughlin P (2003) Copper and lead concentration in salt marsh plants on the Suir Estuary, Ireland. *Environ Pollut* 123:67-74.
- Fucks EE, Scalise AH, Schnack EJ (2011) Evaluación de alternativas para la conservación y manejo del frente costero en Las Grutas, Río Negro. Informe Final. Provincia de Río Negro y Consejo Federal de Inversiones.
- Gay D, Maher W (2003) Natural variation of copper, zinc, cadmium and selenium concentration in *Bembicium nanum* and their potential use as a biomonitor of trace metals *Water research* 37:2173-85.
- Ghosh M, Singh SP (2005) A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Appl Ecol Environ Res* 3:1-18.

- Giarratano E, Gil MN, Malanga G (2013) Assessment of antioxidant responses and trace metal accumulation by digestive gland of ribbed mussel *Aulacomya atra atra* from Northern Patagonia. *Ecotoxicol Environ Saf* 92:39-50.
- Giarratano E, Gil MN, Marinho CH, Malanga G (2016) Metal from mine waste as potential cause of oxidative stress in burrowing crab *Neohelice granulata* from San Antonio bay. *Ecotoxicol Environ Saf* 132:68-76.
- Gibbons RD, Coleman DE (2001) *Statistical Methods for Detection and Quantification of Environmental Contamination*, John Wiley & Sons, NY, pp. 139.
- Gil MN, Harvey M, Esteves JL (1999) Heavy Metals in Intertidal Sediments from Patagonian coast, Argentina. *Bull Environ Cont Toxicol* 63:52-58
- Gil MN, Torres A, Harvey M, Esteves JL (2006) Metales pesados en organismos marinos de la zona costera de la Patagonia Argentina Continental. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 41 (2):167-176.
- González PM (1996) Food, feeding, and refuelling of Red Knots during northward migration at San Antonio Oeste, Río Negro, Argentina. *J Field Ornithol* 67(4):575-591.
- González PM (2007) Áreas importantes para la conservación de las aves en Río Negro. En *Áreas importantes para la conservación de las aves en Argentina*. Di Giacomo AS, De Francesco MG, Coconier EG (Eds). Aves Argentinas/ Asociación ornitológica del Plata, Buenos Aires. Pp.341-344.
- González Trilla G (2010) Tesis Doctoral: Patrones de biomasa de *Spartina* spp. en dos marismas costeras de la provincia de Buenos Aires. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Pp 145.
- Hakanson L (1980) Ecological risk index for aquatic pollution control, a sediment logical approach. *Water Res* 14:975-1001.
- Harvey MA, Gil MN (1988) Concentrations of some trace elements in recent sediments from the San José and Nuevo Gulfs, Patagonia Argentina. *Mar Pollut Bull* 19:394-396.
- Hatje V, Payne TE, Hill DM, McOrist G, Birch GF, Szymczak R (2003) Kinetics of trace element uptake and release by particles in estuarine waters: effects of pH, salinity, and particle loading. *Environ Int* 29:619-629.
- Hempel M, Botté SE, Negrin VL, Chiarello MN, Marcovecchio J E (2008) The role of the smooth cordgrass *Spartina alterniflora* and associated sediments in the heavy metal biogeochemical cycle within Bahía Blanca estuary salt marshes. *J Soils Sediments* 8:289-297.
- Hung G, Chmura G (2007) Metal accumulation in surface salt marsh sediments of the Bay of Fundy, Canada. *Estuar Coast* 30:725-734.
- Idaszkin YL, Bouza PJ, Marinho CH, Gil MN. 2014. Trace metal concentrations in *Spartina densiflora* and associated soil from a Patagonian salt marsh. *Mar Pollut Bull* 89: 444-450.
- Idaszkin YL, Lancelotti JL, Bouza PJ, Marcovecchio JE (2015) Accumulation and distribution of trace metals within soils and the austral cordgrass *Spartina densiflora* in a Patagonian salt marsh. *Mar Pollut Bull* 101(1): 457-65.
- INDEC 2014 Censo Nacional 2001 (2017) [online] Disponible en: <http://www.indec.gov.ar> [Acceso Febrero 2017].
- Ip CCM, Li XD, Zhang G, Wai OWH, Li YS (2007) Trace metal distribution in sediments of the Pearl River Estuary and the surrounding coastal area, South China. *Environ Pollut* 147:311-323.
- Iribarne O (Ed) (2001) *Reserva de Biosfera Mar Chiquita: Características físicas, biológicas y ecológicas*. Editorial Martín. Mar del Plata, Argentina. 320 pp.
- Iribarne O, Bortolus A, Botto F (1997) Between-habitat differences in burrow characteristics and trophic modes in the southwestern Atlantic burrowing crab *Chasmagnathus granulata*. *Mar Ecol Prog Ser* 155:137-145.
- Isacch JP, Costa CSB, Rodríguez-Gallego L, Conde D, Escapa M, Gagliardini DA, Iribarne OO (2006) Distribution of saltmarsh plant communities associated with environmental factors along a latitudinal gradient on the south-west Atlantic coast. *J. Biogeogr* 33:888-900.

- ISO International Organization for Standardization (1995) Soil quality, Extraction of Trace Elements Soluble in Aqua Regia. ISO 11466, pp. 1–6.
- Ituarte R, Spivak E, Luppi T (2004) Female reproductive cycle of the Southwestern Atlantic estuarine crab *Chasmagnathus granulatus* (Brachyura: Grapsoidae: Varunidae). *Sci Mar* 68:127–137.
- Ituarte RB, Bas C, Luppi T, Spivak ED (2006) Interpopulational differences in the female reproductive cycle of the southwestern Atlantic estuarine crab *Chasmagnathus granulatus* Dana, 1851 (Brachyura: Grapsoidae: Varunidae). *Sci Mar* 70(4):709–718.
- Jacob DL, Otte ML (2003) Conflicting processes in the wetland plant rhizosphere: metal retention or mobilization? *Water Air Soil Pollut* 3:91–104.
- Jones DL (1998) Organic acids in the rhizosphere - a critical review. *Plant Soil* 205:25–44.
- Kabata Pendias A (2011) Trace Elements in soils and plants. 4th Edition. pp 505.
- Kalender L, Uçar SC (2013) Assessment of metal contamination in sediment in the tributaries of the Euphrates River, using pollution indices and the determination of the pollution source, Turkey. *J Geochem Explor* 134:73–84.
- Kobayashi H (2008) Ion secretion via salt glands in Poaceae. *Japanese Journal of Plant Science* 2(1):1–8.
- Kogan M, López Greco LS, Romano LA, Rodríguez EM (2000) Effects of cadmium on somatic and gonadal growth of juvenile females of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata*. *Zool Stud* 39(4):344–350.
- Kraus ML, Weis P, Crow JH (1986) The excretion of heavy metals by the salt marsh cord grass, *Spartina alterniflora* and *Spartina*'s role in mercury cycling. *Mar Environ Res* 20:307–316.
- Kroonenberg PM (2008) Applied multiway data analysis (Vol. 702). John Wiley & Sons.
- Larner BL, Palmer AS, Seen AJ, Townsend AT (2008) A comparison of an optimized sequential extraction procedure and dilute acid leaching of elements in anoxic sediments, including the effects of oxidation on sediment metal partitioning. *Anal Chim Acta* 608:147–157.
- Larner BL, Seen AJ, Townsend AT (2006) Comparative study of optimized BCR sequential extraction scheme and acid leaching of element in the certified reference material NIST 2711. *Anal Chim Acta* 556:444–449.
- Lavradas RT, Hauser-Davis RA, Calvancanti Lavandier R, Chávez Rocha RC, Saint'Pierre TD, Seixas T, Kehrig HA, Moreira I (2014) Metal, metallothionein and glutathione levels in blue crab (*Callinectes* sp.) specimens from southeastern Brazil. *Ecotoxicol Environ Saf* 107:55–60.
- Ley Nacional N° 24051/91. Residuos Peligrosos. Sancionada: 12/17/91. Promulgada: 01/08/92.
- Ley Provincial N° 2670. Creación del ANP Bahía San Antonio. Sancionada: 29/07/93. Promulgada: 26/08/93.
- Liao C, Luo Y, Fang C, Chen J, Li B (2008) Litter pool sizes, decomposition, and nitrogen dynamics in *Spartina alterniflora*-invaded and native coastal marshlands of the Yangtze estuary. *Oecologia* 156, 589–600.
- Lo Russo V (2012) Tesis de Doctorado: Comparación de comunidades de nematodos de marismas de San Antonio Oeste (Río Negro) y San Julián (Santa Cruz). Universidad Nacional del Comahue. Pp 202.
- López Greco L, Sánchez M, Nicoloso G, Medesani D, Rodríguez E (2001) Toxicity of cadmium and copper on larval and juvenile stages of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Brachyura, Grapsidae). *Arch Environ Contam Toxicol* 41:333–338.
- Luoma SN, Rainbow PS (2008) Metal contamination in aquatic environments: Science and Lateral Management. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 573.
- Luppi T, Bas C, Méndez-Casariego A, Albano M, Lancia J, Kittlein M, Rosenthal A, Farias N, Spivak N, Iribarne O (2013) The influence of habitat, season and tidal regime in the activity of the intertidal crab *Neohelice* (= *Chasmagnathus*) *granulata*. *Helgol Mar Res* 67:1–15.
- Luppi T, Spivak E, Anger K (2001) Experimental studies of predation and cannibalism in recruits of *Chasmagnathus granulata* and *Cyrtograpsus angulatus* (Brachyura: Grapsidae). *J Exp Mar Biol Ecol* 265:29–48.

- Luppi TA, Spivak ED, Bas CC, Anger K (2004) Molt and growth of an estuarine crab, *Chasmagnathus granulatus* (Brachyura:Varunidae), in Mar Chiquita coastal lagoon, Argentina. *J Appl Ichthyol* 20:333–344.
- Luque CJ, Castellanos EM, Castillo JM, Gonzalez M, Gonzalez-Vilchez M, Figueroa ME. (1999) Metals in halophytes of a contaminated Estuary (Odiel Saltmarshes, SW Spain). *Mar Pollut Bull* 38(1):49-51.
- MacFarlane GR, Booth DJ, Brown KR (2000) The Semaphore crab, *Heloeccius cordiformis*: bio-indication potential for heavy metals in estuarine systems. *Aquat Toxicol* 50:153–166.
- MacFarlane GR, Booth DJ, Brown KR (2000) The Semaphore Crab, *Heloeccius cordiformis*: bio-indication potential for heavy metals in estuarine systems. *Aquat Toxicol* 50:153–166.
- MacGrath SP, Cunliffe CH (1985) A simplified method for the extraction of the metals Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co and Mn from soils and sludges. *J Sci Food Agric* 36:794–798.
- Machado Lauer M, Bento de Olivera C, Yano NLI, Bianchini A (2012) Copper effects on key metabolic enzymes and mitochondrial membrane potential in gills of the estuarine crab *Neohelice granulata* at different salinities. *Comp Biochem Physiol Part C* 156:140-147.
- Mahar A, Wang P, Ali A, Awasthi MK, Lahori AH, Wang Q, Li R, Zhang Z. (2016) Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review. *Ecotoxicol Environ Saf* 126:111–121.
- Mahon S, Carman KR (2008) The influence of salinity on the uptake, Distribution, and excretion of metals by the smooth cordgrass, *Spartina alterniflora* (Loisel), grown in sediment contaminated by multiple metals. *Estuar Coasts* 31:1089–97.
- Manavi PN (2013) Heavy metals in water, sediment and macrobenthos in intertidal zone of Hormozgan Province, Iran. *Marine Science* 3(2):39-47.
- Marchand L, Mench M, Jacob DL, Otte ML (2010) Metal and metalloid removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of plants and standardized measurements: A review. *Environ Poll* 158:3447-61.
- Maricle BR, Koteyeva NK, Voznesenskaya EV, Thomasson JR, Eduards GE (2009) Diversity in leaf anatomy, and stomatal distribution and conductance, between salt marsh and freshwater species in the C4 genus *Spartina* (Poaceae). *New Phytologist* 184:216-233.
- Marin B, Valladon M, Polve M, Monaco A (1997) Reproducibility testing of a sequential extraction scheme for the determination of trace metal speciation in a marine reference sediment by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 342(2–3):91–112.
- Marinho CH, Gil MN, Esteves JL (2011) Distribution and origin of trace metals in sediments of a marine park (Northern San Jorge Gulf) from Argentina. *Mar Pollut Bull* 72:260-263.
- Markert B (2007) Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals in the environment. *J Trace Elem Med Biol* 21 S1:77-82.
- Mertens J, Luysaert S, Verheyen K (2005) Use and abuse of trace metal concentrations in plant tissue for biomonitoring and phytoextraction. *Environ Pollut* 138:1-4.
- Miskon MF, Shazili NAM, Mohamad F, Yunus K (2015) Nerita chameleon as biomonitoring agent for Pb, Cd, Cu and Zn in Malaysian intertidal rocky shore environment. *Oriental Journal of Chemistry* 31(2):1013-20.
- Mohamed N (2008) Tesis de grado: Evaluación de la concentración de metales pesados en moluscos bivalvos, material particulado y sedimentos de la zona costera del Chubut. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Sede Puerto Madryn.
- Montemayor DI, Addino M, Fanjul E, Escapa M, Alvarez MF, Botto F, Iribarne O (2011) Effect of dominant *Spartina* species on salt marsh detritus production in SW Atlantic estuaries. *J Sea Res* 66:104–110.
- Montemayor DI, Canepuccia AD, Pascual J, Iribarne OO (2014) Aboveground biomass pattern of dominant *Spartina* species and their relationship with selected abiotic variables in Argentinian SW Atlantic marshes. *Estuar Coasts* 37:411-420.

- Morillo J, Usero J, Gracia I (2004) Heavy metal distribution in marine sediments from the southwest coast of Spain. *Chemosphere* 55:431-442.
- Mossop KF, Davidson CM (2003) Comparison of original and modified BCR sequential extraction procedures for the fractionation of copper, iron, lead, manganese and zinc in soils and sediments. *Anal Chim Acta* 478:111-118.
- Mucha AP, Almeida CMR, Bordalo AA, Vasconcelos MT (2005) Exudation of organic acids by a marsh plant and implications on trace metal availability in the rhizosphere of estuarine sediments. *Estuar Coast Shelf Sci*, 65:191-198.
- Müller G (1969) Index of geoaccumulation in sediments of the Rhine River. *Geoj* 2:108–118.
- Narvarte M, Willers V, Avaca MS, Echave ME (2008) Population structure of the snail *Buccinanops globulosum* (Prosobranchia, Nassariidae) in San Matías Gulf, Patagonia Argentina: Isolated enclaves? *J Sea Res* 60:144–150.
- Narvarte MA (2006) Biology and fishery of the whelk *Buccinanops globulosum* (Kiener, 1834) in northern coastal waters of the San Matías Gulf (Patagonia, Argentina). *Fish Res* 77:131-137.
- Nicolaidou A, Nott JA (1990) Mediterranean Pollution from a ferro-nickel smelter: Differential uptake of metals by some gastropods. *Mar Pollut Bull* 21(3):137-143.
- Nicolaidou A, Nott JA (1998) Metals in sediments, seagrass and gastropods near a nickel smelter in Greece: Possible interactions. *Mar Pollut Bull* 36(5):360-365.
- Nieboer E, Richardson DHS (1980) The replacement of the nondescript term heavy metals by a biologically and chemically significant classification of metals ions. *Environ Pollut Series B* 1:3-26.
- Nikolaidis C, Zafiriadis I, Mathioudakis V, Constantinidis T (2010) Heavy metal pollution associated with an abandoned lead-zinc mine in the Kirki Region, NE Greece. *Bull Environ Contam Toxicol* 85:307-312.
- Niyogi S, Blewett TA, Gallegher T, Fehsenfeld S, Wood C (2015) Effects of salinity on short-term waterborne zinc uptake, accumulation and sub-lethal toxicity in the green shore crab (*Carcinus maenas*). *Aquat Toxicol* 178:132-140.
- Oehlmann J, Stroben E, Fioroni P (1991) The morphological expression of imposex in *Nucella lapillus* (Linnaeus) (Gastropoda: Muricidae). *J Molluscan Stud* 57:375–390.
- Ogunkunle CO, Fatoba PO, Ogunkunle MO, Oyedeji AA (2013) Potential health risk assessment for soil heavy metal contamination of Sagamu, South-west Nigeria due to Cement Production. *Int J Appl Sci Technol* 3(2):89-96.
- Otero XL, Macías F (2002) Fraccionamiento de Fe en fluvisoles de las marismas de la Ría de Ortigueira (Galicia). *Edafología*. Vol. 9 (3):257-272.
- Otte ML, Bestebroer SJ, van der Linden JM, Rozema J, Broekman RA (1991) A survey of zinc, copper and cadmium concentrations in salt marsh plants along the Dutch coast. *Environ Pollut* 72:175-189.
- Passos EA, Alves JPH, Garcia CAB, Costa ACS (2011) Metal Fractionation in Sediments of the Sergipe River, Northeast, Brazil. *J Braz Chem Soc* 22:828-835.
- Pastorino G (1993) The taxonomic status of *Buccinanops* d'Orbigny, 1841 (Gastropoda: Nassariidae). *Veliger* 32(2):160–165.
- Pedro S, Duarte B, Almeida PR, Caçador I (2015) Metal speciation in salt marsh sediments: influence of halophyte vegetation in salt marshes with different morphology. *Estuar Coast Shelf Sci* 167:248-255.
- Penchaszadeh P (1971) Aspectos de la embriogénesis de algunos gasterópodos del género *Buccinanops* d'Orbigny, 1841 (Gastropoda, Buccinidae, Prosobranchia). *Physis* 81:475–483.
- Peng JF, Song YH, Yuan P, Cui XY, Qiu GL (2009) The remediation of heavy metals contaminated sediment. *J Hazard Mater* 161:633–40.
- Perillo GME (1995) Definitions and geomorphologic classifications of estuaries. Chapter 2. En: Perillo GME (Ed) *Geomorphology and Sedimentology of Estuaries*. Developments in Sedimentology 53 Elsevier Science pp.17-47.

- Perillo GME, Iribarne OO (2003) Processes of tidal channel development in salt and freshwater marshes. *Earth Surf Process Landforms* 28:1473-82.
- Phillips DJH, Rainbow PS (1993) *Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants*, Elsevier Science, London, pp.371.
- Phillips DP, Human LRD, Adams JB (2015) Wetland plants as indicators of heavy metal contamination. *Mar Pollut Bull*, 92(1-2):227-232.
- Prasad MNV, Sajwan KS, Naidu R (Eds) (2006) *Trace elements in the environment: biogeochemistry, biotechnology, and bioremediation*. 1st Edition. pp. 706.
- Pratolongo PD, Kirby JR, Plater A, Brinson MM (2009) Temperate coastal wetlands: morphology, sediment processes, and plant communities. En: Perillo GME, Wolanski E, Cahoon DR, Brinson MM (Eds) *Coastal Wetlands: An Integrated Ecosystem Approach* (1°Ed) Elsevier, pp.89-118.
- Primost MA (2014) Tesis Doctoral: Ecotoxicología y alteraciones morfo-funcionales en gasterópodos marinos expuestos a contaminación por Tributilestaño (TBT) y metales. Universidad Nacional de la Plata. 165 pp.
- Prüss-Üstün A, Fewtrell L, Landrigan PJ, Ayuso-Mateos (2004) Chapter 19: Lead exposure. In: *Comparative Quantification of Health Risks*. Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, Murray CJL (Eds.) Volume II.
- Quan WM, Han JD, Shen AL, Ping XY, Qian PL, Li CJ, Shi LY, Chen YQ (2007) Uptake and distribution of N, P and heavy metals in three dominant salt marsh macrophytes from Yangtze River Estuary, China. *Mar Environ Res* 64:21–37.
- Rainbow PS (1990) Heavy metal levels in marine invertebrates. In: Furness RW, Rainbow PS, (Ed) *Heavy metals in the marine environment*. Boca Raton, Florida: CRC Press. pp. 67–79.
- Rainbow PS (1995) Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Mar Pollut Bull* 31:183–192.
- Rainbow PS (1997) Ecophysiology of trace metal uptake in crustaceans. *Estuar Coast Shelf Sci*. 44, 169–175.
- Rainbow PS (2002) Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environ Pollut* 120:497–507.
- Rainbow PS (2007) Trace metal bioaccumulation: Models, metabolic availability and toxicity. *Environ Int* 33:576-582.
- RAIS (2008) Risk Assessment Information System (2017) [online] Disponible en: http://rais.ornl.gov/tools/tox_profiles.html [Acceso Marzo 2016]
- Ramsar (2013) Secretaría de la Convención de Ramsar. *Manual de la Convención de Ramsar: Guía a la Convención sobre los Humedales* (Ramsar, Irán, 1971), 6a. edición. Secretaría de la Convención de Ramsar, Gland (Suiza). Rascio & Navari-Izzo, 2011.
- Rao CRM, Sahuquillo A, Lopez Sanchez JF (2008) A review of the different methods applied in environmental geochemistry for single and sequential extraction of trace elements in soils and related materials. *Water Air Soil Pollut* 189:291-333.
- Rascio N, Navari-Izzo F (2011) Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Sci* 180:169–181.
- Raskin I, Nanda Kumar PBA, Dushenkov S, Salt DE (1994) Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr Opi Biotechnol* 5(3):285-290.
- Rauret G, López Sánchez JF, SahuquilloA, Rubio R, Davidson C, Ure A, Quevauviller Ph (1999) Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials. *J Environ Monit* 1:57-61.
- Reboreda R, Caçador I (2007a) Halophyte vegetation influences in salt marsh retention capacity for heavy metals. *Environ Pollut* 146:147-154.
- Reboreda R, Caçador I (2007b) Copper, zinc and lead speciation in salt marsh sediments colonized by *Halimione portulacoides* and *Spartina maritima*. *Chemosphere* 69:1655-61.

- Redondo Gómez S (2013) Bioaccumulation of heavy metals in *Spartina*. *Funct Plant Biol* 40:913-921.
- Redondo Gómez S, Andrades Moreno L, Mateos Naranjo E, Parra R, Valera Burgos J, Arcoa R (2011) Synergic effect of salinity and zinc stress on growth and photosynthetic responses of the cordgrass, *Spartina densiflora*. *J Exp Botany* 62(15):5521-30.
- Riba I, García-Luque E, Blasco J, DelValls TA (2003) Bioavailability of heavy metals bound to estuarine sediments as a function of pH and salinity values. *Chemical Speciation & Bioavailability* 15(4):101-114.
- Ríos I (2016) Tesis Doctoral: Relaciones edafo-geomorfológicas y geo-ecología de plantas vasculares en marismas patagónicas: propiedades morfológicas, físicas, químicas y biogeoquímicas. Universidad Nacional de Córdoba.
- Roy S, Chakraborty U (2014) Salt tolerance mechanisms in salt tolerant grasses (STGs) and their prospects in cereal crop improvement. *Botanical Studies* 55:31.
- Rozema J, Buys E, Otte M, Broekman RA, Ernst WHO (1991) Ion content and ion excretion of *Spartina anglica* in relation to salinity and redox potential of salt marsh soil. *J plant Nutri Soil Sci* 154(4):307-313.
- Rule JH (1998) Trace metal cation adsorption in soils: selective chemical extractions and biological availability. In: Adsorption and its applications in industry and environmental protection. Studies in surface science and catalysis, Vol 120. Dabrowski (Ed) Elsevier Science BV, pp 319-349.
- Sa MG, Valenti WC, Zanotto FP (2008) Dietary copper absorption and excretion in three semi-terrestrial grapsoid crabs with different levels of terrestrial adaptation. *Comp Biochem Physiol Part C* 148:112-116.
- Sabatini SE, Chaufan G, Juárez AB, Coalova I, Bianchi L, Eppis MR, Ríos de Molina MC (2009) Dietary copper effects in the estuarine crab, *Neohelice (Chasmagnathus) granulata*, maintained at two different salinities. *Comp Biochem Physiol C* 150:521-527.
- Sadiq M (1992) Toxic metal chemistry in marine environments. Marcel Dekker. New York. 390 pp.
- Sal Moyano MP, Gavio MA, Luppi TA (2012) Mating system of the burrowing crab *Neohelice granulata* (Brachyura: Varunidae) in two contrasting environments: effect of burrow architecture. *Mar Biol* 159:1403-16.
- Saleem M, Iqbal J, Shah MH (2015) Geochemical speciation, anthropogenic contamination, risk assessment and source identification of selected metals in freshwater – A case study Mangla Lake, Pakistan. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* 4:27-36.
- Salla V, Hardaway CJ, Sneddon J (2011) Preliminary investigation of *Spartina alterniflora* for phytoextraction of selected heavy metals in soils from Southwest Louisiana. *Microchem J* 97:207–212.
- Salomons W, Förstner U (1984) Metals in the Hydrocycle. Berlin Springer-Verlag.
- Schiff KC, Weisberg SB (1999) Iron as a reference element for determining trace metal enrichment in southern California coastal shelf sediments. *Mar Environ Res* 48:161-176.
- Sheoran AS, Sheoran V (2006) Heavy metals removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: A critical review. *Minerals Engineering* 19:105-11.
- Silliman BR, Bortolus A (2003) Underestimation of *Spartina* productivity in western Atlantic marshes: marsh invertebrates eat more than just detritus. *OIKOS* 101:549-554.
- Simonett P, Botté SE, Fiori SM, Marcovecchio JE (2011) Heavy-metal concentrations in soft tissues of the burrowing crab *Neohelice granulata* in Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Arch Environ Contam Toxicol* DOI 10.1007/s00244-011-9692-9.
- Simonetti P, Botté SE, Fiori SM, Marcovecchio JE (2013) Burrowing crab (*Neohelice granulata*) as a potential bioindicator of heavy metals in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Arch Environ Contam Toxicol* 64:110–118.
- Skalar (2005a) Skalar Methods. Analysis: Nitrate+nitrate. Catalogue number 461-031+DIAMOND. Issue 081505/MH/99235956. Breda, 10 pp.

- Skalar (2005b) Skalar Method. Analysis: Phosphate. Catalogue number 503-010w/r+DIAMOND. Issue 081505/MH/99235956. Breda, 9 pp.
- Skalar (2005c) Skalar Method. Analysis: Silicate. Catalogue number 563-051+DIAMOND. Issue 081505/MH/99235956. Breda, 8 pp.
- Smith SK (2007) Strategies to predict metal mobility in surficial mining environments. The Geological Society of America. Reviews in Engineering Geology, Volume XVII: 25-45.
- Spivak E, Anger K, Luppi T, Ismael D (1994) Distribution and habitat preferences of two grapsid crab species in Mar Chiquita Lagoon (Province of Buenos Aires, Argentina). *Helgoländer Meeresuntersuchungen* 48(1):59-78.
- Spivak ED (1997) Cangrejos estuariales del Atlántico sudoccidental (25°-41°S). (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *Invest Mar Valparaíso* 25:105-120.
- Strickland J, Parsons T (1972) A practical handbook of seawater analysis. Bulletin 167 2° Edition. Fishery Research Board, Canada.
- Sutherland RA (2002) Comparison between non-residual Al, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb and Zn released by a three-step sequential extraction procedure and a dilute hydrochloric acid leach for soil and road deposited sediment. *Appl Geochem* 17:353–365.
- Sutherland RA, Tack FMG, Ziegler AD, Bussen JO (2004) Metal extraction from road deposited sediments using nine partial decomposition procedures. *Appl Geochem* 19:947-944.
- Sutherland TF, Petersen SA, Levings CD, Martin AJ (2007) Distinguishing between natural and aquaculture derived sediment concentrations of heavy metals in the Broughton Archipelago, British Columbia. *Mar Pollut Bull* 54:1451–60.
- Tangahu BV, Sheikh Abdullah SR, Basri H, Idris M, Anuar N, Mukhlisin M (2011) A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*, doi:10.1155/2011/939161.
- Taylor A, Maher W (2003) The use of two marine gastropods, *Austrocochlea constricta* and *Bembicium auratum* as biomonitors of zinc, cadmium and copper exposure: effect of mass, within and between site variability and net accumulation relative to environmental exposure. *J Coastal Res* 19(3):541-549.
- Templeton DM, Ariese F, Cornelis R, Danielsson LG, Muntau H, VanLeeuwen HP, Lobinski R (2000) Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements: Definitions, structural aspects, and methodological approaches. *Pure Appl Chem* 72:1453–70.
- Tessier A, Campbell GC, Bisson M (1979) Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal Chem* 51(7):844-851.
- Titley-O'Neal CP, MacDonald BA (2011) The relationship between imposex and Tributyltin (TBT) concentration in *Strombus gigas* from the British Virgin Islands. *Bull Mar Sci* 87(3):421–435.
- Tokalioglu S, Kartal S, Elci L (2000) Determination of heavy metals and their speciation in lake sediments by flame atomic absorption spectrometry after a four-stage sequential extraction procedure. *Anal Chim Acta* 413:33-40.
- Tsakovski S, Kudlak B, Simeonov V, Wolska L, Garcia G, Dassenakis M, Namiesnik J (2009) N-way modelling of sediment monitoring data from Mar Menor lagoon, Spain. *Talanta* 80:935-941.
- Turner A, Millward GE (2000) Particle dynamics and trace metal reactivity in estuarine plumes. *Estuar Coast Shelf Sci* 50:761-774.
- Ure AM, Quevauviller PH, Muntau H, Griepink B (1993) Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of Commission of the European Communities. *Int J Environ Anal Chem* 51(1-4):135-151.
- US EPA (2016) United States Environmental Protection Agency. Regional Screening Levels (RSLs) <https://www.epa.gov/risk/regional-screening-levels-rsls-generic-tables-may-2016>
- Vale C, Catarino FM, Cortesao C, Cacador MI (1990) Presence of metal-rich rhizoconcretions on the roots of *Spartina maritima* from the salt marshes of the Tagus Estuary, Portugal. *Sci Total Environ* 97/98:617-626.

- van der Ent A, Baker AJM, Reeves RD, Pollard AJ, Schat H (2013) Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant Soil* 362(1):319-334.
- Van Loon JC (1980) Analytical Atomic Absorption Spectroscopy. Academic Press: New York.
- Vázquez N, Gil MN, Esteves JL, Narvarte M (2007) Monitoring Heavy Metal Pollution in San Antonio Bay, Río Negro, Argentina. *Bull Environ Contam Toxicol* 79:121-125.
- Viarengo A, Nott JA (1993) Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates. *Comp Biochem Physiol* 104 C (3):355-372.
- Vinci MC (2004) Los humedales de la costa patagónica de la Provincia de Río Negro. En: Documentos del curso-taller: Bases ecológicas para la clasificación e inventario de humedales en Argentina. Malvárez AI, Bó RF (Comps) Buenos Aires. pp 71-75.
- Vitale AM, Monserrat JM, Castillo P, Rodríguez EM (1999) Inhibitory effects of cadmium on carbonic anhydrase activity and ionic regulation of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Grapsidae). *Comp Biochem Physiol Part C* 122:121-129.
- Wang WX (2002) Review: Interactions of trace metals and different marine food chains. *Mar Ecol Prog Ser* 243:295-309.
- Wang WX, Ke C (2002) Dominance of dietary of cadmium and zinc by two marine predatory gastropods. *Aquat Toxicol* 56:153-165.
- Wang X, Fang CH, Hong H, Wang WX (2010) Gender differences in TBT accumulation and transformation in *Thais clavigera* after aqueous and dietary exposure. *Aquat Toxicol* 99:413-422.
- Weis J, Weis P (2004) Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environ Int* 30:685-700.
- Weis J, Windham L, Weis P (2003) Patterns of metal accumulation in leaves of the tidal marsh plants *Spartina alterniflora* Loisel and *Phragmites australis* Cav. Trin Ex Steud. over the growing season. *Wetlands* 3(2):459-465.
- Willers V, Narvarte M, Gil M, Esteves JL (2004) Imposen en *Buccinanops globulosum* y su utilización como bioindicador de contaminación por tributil estaño (TBT) en la Bahía de San Antonio (Río Negro, Patagonia Argentina). *IBMP Serie Publicaciones* 3:61-62.
- Williams TP, Bubb JM, Lester JN (1994) Metal accumulation within salt marsh environments: A review. *Mar Pollut Bull* 28(5):277-290.
- Windham L, Weis JS, Weis P (2001) Patterns and processes of mercury (Hg) release from leaves of two dominant salt marsh macrophytes, *Phragmites australis* and *Spartina alterniflora*. *Estuaries* 24:787-795.
- Windham L, Weis JS, Weis P (2003) Uptake and distribution of metals in two dominant salt marsh macrophytes, *Spartina alterniflora* (cordgrass) and *Phragmites australis* (common reed). *Estuar Coastal Shelf S* 56:63-72.
- Wuana RA, Okieimen FE, Imborvungu JA (2010) Removal of heavy metals from a contaminated soil using organic chelating acids. *Int J Environ Sci Tech* 7(3):485-496.
- Yang C, Lung W, Kuo J, Lai J, Wang Y, Hsu C (2012) Using an integrated model to track the fate and transport of suspended solids and heavy metals in the tidal wetlands. *International Journal of Sediments Research* 27: 201-212.
- Yoon J, Cao X, Zhou Q, Ma LQ (2006) Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plant growing on a contaminated Florida site. *Sci Total Environ* 368:456-464.
- Yoong KS (1998) Determination of Cadmium, Chromium, Cobalt, Lead, and Nickel in plant tissue. In: Handbook of reference methods for plant analysis. Kalra YP (Ed) CRC Press, pp 193-199.
- Yorio, P (1998) Región 4. Zona costera patagónica. En: Los Humedales de la Argentina. Clasificación, Situación Actual, Conservación y Legislación. Wetlands International. Canevari P, Blanco DE, Bucher EH, Castro G, Davidson I (Ed) Buenos Aires, Argentina pp 137-167.

- Zabin SA, Howladar SM (2015) Heavy metals contamination and its health risk assessment in the sediments of water reservoir dams at Al-Baha Region, KSA. *Environmental Science: An Indian Journal* 10(6):224-230.
- Zhang C, Yu Z, Zeng G, Jiang M, Yang Z, Cui F, Zhu M, Shen L, Hu L (2014) Effects of sediments geochemical properties on heavy metal bioavailability. *Environ Int* 73:270-281.
- Zhao S, Feng C, Wang D, Liu Y, Shen Z (2013) Salinity increases the mobility of Cd, Cu, Mn, and Pb in the sediments of Yangtze Estuary: relative role of sediments properties and metal speciation. *Chemosphere* 91:977-984.
- Zhou Q, Zhang J, Fu J, Shi J, Jiang G (2008) Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Anal Chim Acta* 606:153-150.

ARTÍCULO DE RESPALDO

Hazardous metal pollution in a protected coastal area from Northern Patagonia (Argentina)

C. H. Marinho¹ · E. Giarratano^{1,2} · J. L. Esteves¹ · M. A. Narvarte³ · M. N. Gil^{1,2}

Received: 9 May 2016 / Accepted: 4 January 2017
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2017

Abstract The San Antonio Bay is a protected natural coastal area of Argentina that has been exposed to mining wastes over the last three decades. Iron and trace metals of potential concern to biota and human health (Cd, Pb, Cu, and Zn) were investigated in the sediments from the bay and in the soils of the Pile (mining wastes). Concentrations of Cd (45 mg kg^{-1}), Pb ($42,853 \text{ mg kg}^{-1}$), Cu ($24,505 \text{ mg kg}^{-1}$), and Zn ($28,686 \text{ mg kg}^{-1}$) in the soils Pile exceeded guidelines for agricultural, residential, and industrial land uses. Risk assessment due to exposure to contaminated soils (Pile) was performed. Hazard quotients were superior to non-risk ($\text{HQ} > 1$) for all trace metals, while accumulative hazard quotient index indicated a high risk for children ($\text{HI} = 93$) and moderate for adults ($\text{HI} = 9$). In the bay, sediments closest to the Pile (mudflat and salt marsh) exceeded sediment quality guidelines for protection of biota. Results of different acid extraction methods suggest that most of the pseudototal content was potentially mobile. Principal component analysis indicated that the sites near the Pile (Encerrado channel) were more

polluted than the distal ones. Tissues of *Spartina* spp. located within Encerrado channel showed the highest metal levels among all studied sites. These results show that the problem still persists and the mining wastes are the sources of the pollution. Furthermore, the Encerrado channel is a highly impacted area, as it is shown by their metal enriched sediments.

Keywords Heavy metals · Mining wastes · *Spartina densiflora* · *Spartina alterniflora* · Salt marsh

Introduction

Pollution of the environment with “heavy metals” is a serious problem all over the world. Mining activities extract metals of commercial interest and simultaneously generate wastes with high pollutant loading. These residues usually remain in open air and can become an important source of toxic elements including As, Cd, Pb, Hg, Cu, and Zn in the surface (Clevenger 1990; Lee et al. 2001). Once released, uptake by organisms depends on bioavailability, which depends on environmental variables. Metals with non-essential role to biological functioning (e.g., Cd, Hg, and Pb) can be toxic at relatively low concentrations, while others essential to plants and/or animals (e.g., Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, and Zn) can exert negative effects by being either too high or too low in concentration (Smith 2007).

The San Antonio Bay (SAB), located in the northwest extreme of San Matías Gulf (Patagonia, Argentina) (Fig. 1), constitutes a case of study which, despite its ecological importance, suffers from chronic metal pollution. The system is used as a resting, feeding, and nesting area for many migratory birds and it has been declared an International Site for Western Hemisphere Shorebird Reserve Network (WHSRN) and Natural Protected Area by the Province of Río Negro in 1993 (Law N° 2670 1993). A dense crab population

Responsible editor: Philippe Garrigues

✉ C. H. Marinho
marinho@cenpat-conicet.gob.ar

¹ Centro para el Estudio de Sistemas Marinos (CESIMAR-CONICET), Bvd. Brown, 2915 Puerto Madryn, Argentina

² Laboratorio de Química General y Análisis de Elementos (CCT-CENPAT-CONICET), Bvd. Brown, 2915 Puerto Madryn, Argentina

³ Instituto de Biología Marina y Pesquera Almirante Storni, Escuela Superior de Ciencias Marinas, Universidad Nacional del Comahue – CONICET, San Martín 247, 8520 San Antonio Oeste, Río Negro, Argentina

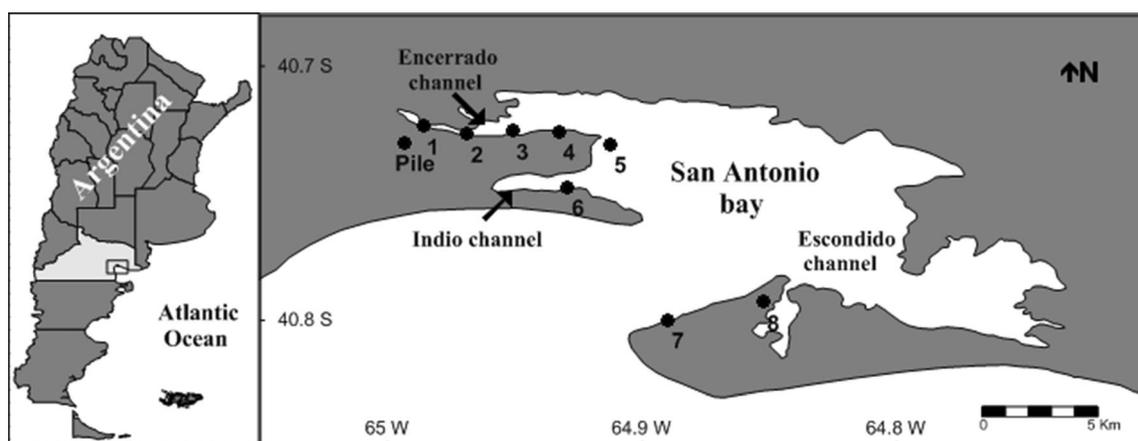


Fig. 1 Sites sampled in the San Antonio Bay. Measurements in mudflat were performed in sites 1 to 8, while in salt marsh, in sites 1, 3, and 5 for *S. densiflora* and in sites 5 and 8 for *S. alterniflora*

(*Neohelice granulata*) coexists with an extensive salt marsh of the *Spartina alterniflora* Loesel and *Spartina densiflora* Brong, favored by the very high tidal amplitude and the large sandy plain crossed by channels that is exposed at low tide. This gives the landscape a special physiognomy called “cangrejal” or “espartillar,” depending on the crab or cordgrass dominance, respectively (Bortolus et al. 2004; Bas et al. 2005; Isacch et al. 2006; Luppi et al. 2013).

Surprisingly, during the last six decades, SAB has been coexisting with mining wastes that have been abandoned close to the coast and near the low dense populated town of San Antonio Oeste. By the mid nineties, it was detected for the first time the existence of hazardous metal contamination in the inner part of the bay (Encerrado channel) (Gil et al. 1999). Further studies identified mining wastes covering a total area of 95,000 m² and a total volume of 22,500 m³ as the principal source (Bonuccelli et al. 2004).

The responsible mining industry operated between the 1960s and 1980s, extracting principally minerals of Pb, Zn, Ag, and V. Subsequent research reported high levels of metals in invertebrates, such as the crab *N. granulata* (Gil et al. 2006) and the bivalve *Brachidontes rodriguezii* (Vázquez et al. 2007), suggesting not only metal remobilization from the pile due to chemical-related processes (acidity and/or oxidation-reduction) and/or physical-related processes (wind/rain/flood) but also its bioavailability within the bay. More recently, research on *S. densiflora* informed that below-ground structures reflect the soil metal concentration pattern but is not so evident in above-ground structures (Idaszkin et al. 2015).

It is widely known that metal behavior and mobility in coastal environments highly depend on complex biogeochemical reactions that are influenced by metal speciation, salinity, pH, redox potential (Eh), organic matter, and particle size of the sediment (Fitzgerald et al. 2003; Smith 2007; Zhang et al. 2014). Interactions of these factors influence the percentage of

lability (and hence the potential bioavailability) of the total metal concentration in the sediments. The finest particles of the sediment play a significant role in these processes, because they are the principal carriers of functional groups capable of trapping metals (Jayaprakash et al. 2008) and because of their importance not only in resuspension and general transportation of sediments but also in the exchange of contaminants across the sediment-water interface (Zhang et al. 2014). Furthermore, in salt marsh environments like in SAB, plants may also have a dominant role in metal cycling given its high capacity to modify the surrounding sediment through different processes (Weis and Weis 2004). Some plants can transport oxygen down to the roots via aerenchyma tissue and release it to the sediment, thus generating an oxidizing environment in the rhizosphere capable of oxidizing the metal sulfides (Burke et al. 2000). Moreover, the roots can produce exudates of organic substances capable of complexing metals and changing their bioavailability (Mucha et al. 2005). Other plant species are able to form rhizoconcretions of Fe and Mn oxyhydroxides on the roots, with high capacity to adsorb metals (Vale et al. 1990; Sundby et al. 1998). Usually, only a small amount of non-essential metals are absorbed by the root tissue and transported to the aerial parts (Marchand et al. 2010). In this way, plants can modify their surrounding environment causing a redistribution of metals in the sediment.

There are several studies to date that have assessed the pollution extent in SAB (Gil et al. 1999; Bonuccelli et al. 2004; Gil et al. 2006; Vázquez et al. 2007; De Pietri et al. 2008; Idaszkin et al. 2015), but none of them made a risk assessment. In this research, we performed a screening-level ecological risk assessment by (a) examining the concentrations of metals in soils from the pile and in sediments from the mudflat and the salt marsh; (b) comparing them with background and/or guideline values and, in addition, making an approach to human risk health through the exposition to pile-

soils; and (c) quantifying concentrations in plants to assess retention in the salt marsh.

Materials and methods

Study area

The San Antonio Bay (40° 46' S, 064° 50' W) is located in a semi-arid region (average rainfall 240 mm/year) without any river input. It has a semidiurnal macrotidal regime (up to 9 m amplitude) with extensive sand-cobble intertidal flats, leaving it exposed up to 85% of its total surface during low tide (Fucks et al. 2012). The shoreline contains large rocky flats, shells, and tidal channels. Among the later, the most important are the Encerrado channel (northbound from San Antonio Oeste city with 4-km length and a mean of 0.9-m depth), the Indio channel (southbound from San Antonio Oeste city with 2-km length and 0.8-m depth), and the Escondido channel (N-S direction with 7-km length and 1.2-m depth) (Carbone et al. 2014) (Fig. 1). The upper zones are characterized by the presence of salt marsh, dominated by *S. alterniflora*, *S. densiflora*, and *Sarcocornia perennis* (P. Mill) A. J. Scott (Isacch et al. 2006) and the mid and low intertidal are distinguished by the presence of the burrowing crab *N. granulata* (Bas et al. 2005).

The extensive salt marsh of BSA includes two genera: *Spartina* (*S. alterniflora* and *S. densiflora*) and *Sarcocornia* (*S. perennis*) (Bortolus 2006; Isacch et al. 2006; Montemayor et al. 2014). The former has been widely cited in the literature as a good heavy metal phytostabilizer (Reboreda and Caçador 2007; Cambrollé et al. 2008; Redondo Gómez 2013; Curado et al. 2014), and for that reason, it was selected in this study. Even though *S. densiflora* is the plant with less coverage in the bay, it was also included because it is the only species of *Spartina* that grows inside the Encerrado channel. Outside the channel, *S. alterniflora* shows a remarkable predominance over *S. densiflora* (Isacch et al. 2006).

Sampling and analysis of soils and sediments: environmental variables and trace elements

In November 2012 (spring), in the mining wastes (Pile) and mudflats sites (1 to 8) (Fig. 1), one composite sediment sample was collected in each site in order to minimize localized variability. It consists in five individual subsamples separated 1 m approximately from each other and 10 cm in depth. They were placed into a single plastic container and thoroughly mixed to form one homogeneous composite sample.

In salt marsh (sites 1, 3, 5, and 8) (Fig. 1), three sediment samples were collected (20 × 20 × 15 cm) in each site associated to the roots of *Spartina* plants.

In each site, the Eh and pH were recorded in situ using a portable pH/mV meter, after a period of 10-min stabilization

($N = 3$). In the laboratory, samples were oven dried at 60 °C until constant weight and then sieved through a plastic sieve in order to discard particles larger than 2 mm. The retained sample (hereafter *bulk*) was used to determine percentages of sandy and silt-clay fraction (sieving through a 63- μ m plastic mesh); organic matter content (OM) (calcination at 450 °C for 4 h, according to Byers et al. 1978) and metal burdens differentiate both pseudototal and labile contents with strong and weak acid extractions, respectively.

For the strong acid extraction, 1 g of the bulk sample was digested using 10 ml of aqua regia (HCl:HNO₃ proportion 3:1) at 85 °C (MacGrath and Cunliffe 1985; ISO 1995). This type of digestion extracts between 70 and 90% of the total content of metals (pseudototal content) (Hung and Chmura 2007) and it is suitable for samples containing less than about 20% (*m/m*) of organic carbon (ISO 1995) as expected for these samples. For the weak acid extraction, 1 g of the bulk sediment was used to make a cold extraction with 25 ml of 0.5 N HCl. This method is an approach to quantify labile or potentially bioavailable metals (Agemian and Chau 1976). Weak extraction was also performed on the finest fraction (silt-clay grains), not only because of its importance in metal cycling and transport but also to compensate for grain-size effects that occur in the bulk samples (Beck et al. 2013).

Human risk of non-carcinogenic toxic effects due to exposure to contaminated soils

To assess the potential non-carcinogenic toxic effect of metals from the Pile, a hazard quotient (HQ) was calculated as the ratio of the concentration of a metal in the environmental matrix to the recommended safety level: $HQ = CDI/RfD$, where $CDI = (C_s * IR * ED * EF) / (BW * AT)$, CDI is the chronic daily intake, RfD is the reference dose ($mg\ kg^{-1}\ day^{-1}$), C_s is the metal concentration in soil ($mg\ kg^{-1}$), IR is the ingestion rate ($mg\ day^{-1}$), ED is the exposure duration (years), EF is the exposure frequency (days/year), BW is the body weight (kg), and AT is the average exposure time (days). The Risk Assessment Information System (RAIS 2008) was used to calculate reference values considering a recreational use and differentiating between children and adults.

To assess the overall potential effects posed by all metals, the HQ estimated for each metal was summed up (assuming an additive effect) and expressed as the hazard index (HI) (ACS, RFF 1998). A $HQ < 1$ was considered a safe lifetime of exposure. If $HQ > 1$, then a chronic non-cancer effect is likely to occur (Lemly 1996; Zabin and Howladar 2015).

Sampling and analysis of trace elements in plants

Three plots of *Spartina* sp. (20 × 20 × 15 cm) were collected in each site depending on plant presence: *S. densiflora* in sites 1, 3, and 5 and *S. alterniflora* in sites 5 and 8. Plants were placed

in bags and thereafter transported to the laboratory. In the laboratory, they were separated into shoot tissues (stems and green leaves) and root tissues (rhizomes and roots), which were then washed with deionized water and oven dried at 60 °C until constant weight. After grinding up with a Butt mill, aliquots of 1 g of powdered tissue were calcined in a furnace during 6 h at 400 °C and then placed on a hot plate at 85 °C with concentrated HNO₃ until dryness. The last two steps were repeated until white ashes were obtained (Yoong 1998).

The response of plants to the presence of metals in their surrounding sediments was evaluated in terms of bioconcentration and translocation factors (BCF and TF, respectively). BCF was calculated as the metal concentration in root tissue relative to labile concentration in the surrounding bulk sediment. TF was calculated as the metal concentration in shoot tissue in relation to the concentration in root tissue (Yoon et al. 2006; Gupta et al. 2008).

Quality control of metal analysis

All samples for metal analysis (soils, sediments, and plant tissues) were processed by duplicate including blanks. Analytical grade reagents (Merck® or Baker®) were used. Measurements of metals Cd, Cu, Pb, Fe, and Zn were carried out using an Atomic Absorption Spectrophotometer IL 754 (Instrumentation Laboratory, USA) with air-acetylene flame. Results are reported on a dry weight basis. The accuracy of the methods was checked by the analysis of reference material of marine sediment (PACS-2) and aquatic plants (BCR-060 *Lagarosiphon major*). Percentages of recoveries and detection limits of the methods are shown in Table 1. The variation coefficients tested for five replicates were always below 10%.

Statistical analysis

Principal component analysis (PCA) with varimax rotation was used in order to integrate all information obtained in the

sediments. To compensate for strongly skewed distribution and/or to avoid the dominance of high concentrations in the mathematical model, all data were log-transformed. Statistical tests were performed to compare (a) mean metal concentrations between inside (impacted area by mining wastes) and outside (unimpacted area) the Encerrado channel (for mudflat as well as for salt marsh sediments) (Student's *t* test), (b) mean metal concentrations in tissues and sites for *S. densiflora* (two-way ANOVA), and (c) mean metal concentrations between tissues and species two-way ANOVA). The Shapiro-Wilk and Levene tests were used to assess normality and homogeneity of variance, respectively. Metal concentrations of sediments and plants were transformed using log function when necessary. Tukey's multiple comparisons were used after significant ANOVA tests. All statistical analyses were carried out using Infostat (version 2015).

Results and discussion

Actual concentrations of metals in soils from the pile and their risks to human health

The soils from the Pile were mainly composed of fine sand particles (88.7%) with 11.3% of grain-size below 63 μm. Concentrations of the studied elements in this substrate are shown in Table 2, where Argentinean and Canadian soil quality guidelines were included for comparison purposes. The order of metal concentrations was Fe > Pb > Zn > Cu > Cd for pseudototal concentrations (pc) and Fe > Zn > Cu > Pb > Cd for labile concentrations (lc). The percentages of labile with respect to pseudototal concentrations presented the following orden: Cd 82%, Zn 57%, Cu 32%, Fe 7% and Pb 5%. It is interesting to highlight that even labile concentrations exceeded the reference values for agricultural, residential, and industrial land uses (Law N° 24.051 1992; CCME 2001). According to this, the pile can still be considered a metal hotspot and a health risk for biota and humans, as it was previously reported (Gil et al. 1999;

Table 1 Percentages of metal recovery (%R) from two reference materials: PACS-2 (marine sediment) and BCR-060 (aquatic plant *Lagarosiphon major*). Concentrations are expressed in milligrams per kilogram dry weight, except for Fe which is in % (*N* = 5)

Element	PACS-2				BCR-060			
	OC	CC	%R	DL	OC	CC	%R	DL
Cd	1.8 ± 0.1	2.1	84	0.25	2.1 ± 0.1	2.2	97	0.10
Pb	164.7 ± 2.2	183	90	5.00	56.3 ± 1.0	64	88	1.00
Cu	262.3 ± 6.5	310	85	0.63	46.2 ± 1.2	51	90	0.25
Zn	369.0 ± 20.9	364	101	0.25	316.2 ± 12.2	313	101	0.10
Fe	3.2 ± 0.1	4.1	78	1.25	2342.7 ± 255.6	2378*	99	0.50

OC obtained concentration, CC certified concentration, DL detection limit

*Calculated from Fe₂O₃

Table 2 Pseudototal and labile metal concentrations in soil of the Pile (composite sample, mg kg⁻¹) and Soil Quality Guidelines for different land uses

Element	Pile		Agricultural		Residential		Industrial	
	Pseudototal	Labile	AHWL	CEQG	AHWL	CEQG	AHWL	CEQG
Cd	45	37	3	1.4	5	10	20	22
Pb	42,853	2301	375	70	500	140	1000	600
Cu	24,505	7955	150	63	100	63	500	91
Zn	28,686	16,235	600	200	500	200	1500	360
Fe	340,485	23,832	nd	nd	nd	nd	nd	nd

AHWL Argentinean Hazardous Waste Law 24.051 (1992), CEQG Canadian Environmental Quality Guidelines (CCME 2001), nd no available data

Bonuccelli et al. 2004; Vázquez et al. 2007). Fine particles, which are known to provide a larger relative surface area and thus high cation exchange capacity for contaminants (Zhang et al. 2014), may be easily spread out by wind. In addition, acid drainage may produce metal leaching from the Pile to the Encerrado channel (Bonuccelli et al. 2004).

Considering children exposition, HQ indexes were higher than the unity for all metals (Cd = 1.2, Pb = 58.7, Cu = 16.8, Zn = 2.6, and Fe = 13.3) and the HI index was 92.7, which suggests a high risk for this sector of the population. For adults instead, risk would be lower (HQ Cd = 0.1, Pb = 5.5, Cu = 1.6, Zn = 0.2 and Fe = 1.2; HI = 8.7). It is interesting to note that the greatest contribution to HI corresponded to Pb in both cases. This highlights the hazard that this deposit represents for people living near the Pile.

Actual concentrations of metals in sediments from the mudflat and the salt marsh

All the studied sediments were impoverished in fine particles (<9%) and OM (0.7–3.0%), thus suggesting a limited affinity for metal retention. The pH ranged from 5.8 to 7.2 in the mudflat and from 7.1 to 8.0 in the salt marsh, while the redox potential was above -100 mV in most cases. Less oxidized

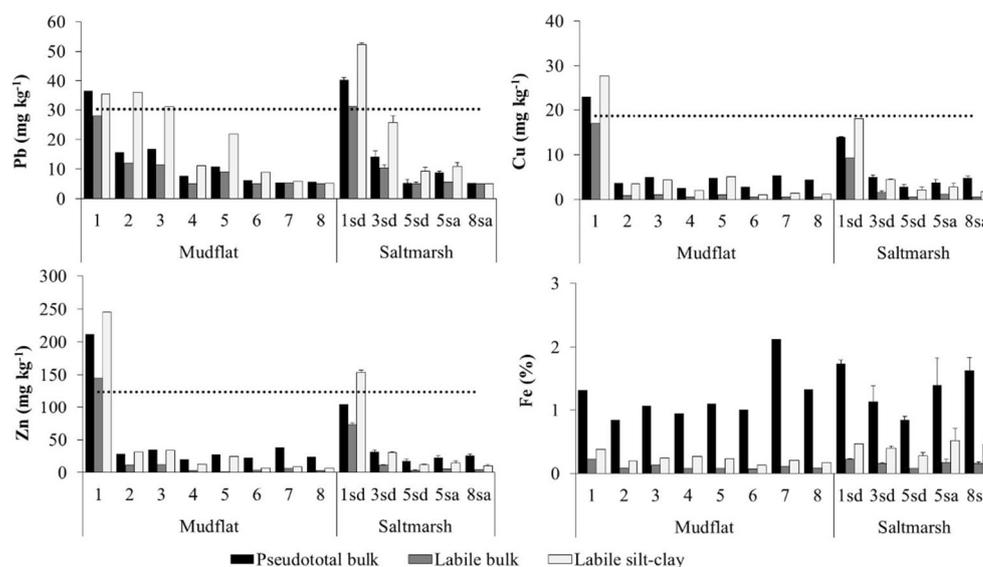
conditions were found in sediments nearby *S. alterniflora* than *S. densiflora*, probably influenced by their different locations (low and medium-high salt marsh, respectively) (Table 3).

Results of metal analysis performed on bulk sediments (pseudototal and labile concentrations) and on silt-clay particles (labile concentration) are shown in Fig. 2. Pseudototal metal concentrations in bulk sediments showed the following general pattern: Fe (0.8–21.3%) > Zn (15.1–211.9 mg kg⁻¹) > Pb (<5.0–41.2 mg kg⁻¹) > Cu (2.4–22.9 mg kg⁻¹) > Cd (undetectable). As expected, labile concentrations in the bulk sediments (Fig. 2) were lower than that in pseudototal contents. For Cu and Zn, the former accounted for around 80% of the pseudototal concentration in site 1 and 20% in the remaining sites. For Pb, percentages varied between 70 and 95% within the Encerrado channel and in the East Harbor (7) and below 10% in the other sites. Finally, Fe yielded the least lability (10–20% in all sites). Considering the importance of the labile fraction as an index of potential mobility and bioavailability of the total load, it is clear that sediments from the innermost site of the channel and from its adjacent *Spartina* salt marsh (sites 1 and 1sd) should be considered as risky, not only due to Pb but also due to Cu and Zn. This is in agreement with our findings of excessive pseudototal concentrations compared to safety guidelines in these sites.

Table 3 General characteristics of the sediments from SAB (mudflat N = 1 and salt marsh N = 3, mean ± SD)

Site	Zone	Plant species	%OM	% sand	% silt-clay	Eh	pH
Pile	Soil		8.8	88.7	11.3		
1	Mudflat		3.0	92.5	7.5	-100 ± 16	7.0 ± 0.1
2	Mudflat		0.9	98.1	1.9	-69 ± 11	7.0 ± 0.1
3	Mudflat		1.4	96.6	3.4	-214 ± 21	6.2 ± 0.1
4	Mudflat		1.0	97.7	2.3	50 ± 8	6.9 ± 0.2
5	Mudflat		1.2	98.7	1.3	133 ± 13	7.4 ± 0.1
6	Mudflat		0.8	99.3	0.7	55 ± 6	5.8 ± 0.3
7	Mudflat		3.0	95.9	4.1	77 ± 10	7.2 ± 0.1
8	Mudflat		0.7	99.4	0.6	98 ± 13	6.6 ± 0.1
1sd	Salt marsh	<i>S. densiflora</i>	2.0 ± 0.2	91.7 ± 0.2	8.3 ± 0.2	238 ± 9	8.0 ± 0.2
3sd	Salt marsh	<i>S. densiflora</i>	1.7 ± 0.2	97.6 ± 0.4	2.4 ± 0.4	193 ± 12	8.0 ± 0.2
5sd	Salt marsh	<i>S. densiflora</i>	0.9 ± 0.2	98.9 ± 0.3	1.1 ± 0.3	156 ± 9	8.0 ± 0.1
5sa	Salt marsh	<i>S. alterniflora</i>	1.5 ± 0.4	96.6 ± 0.6	3.4 ± 0.6	-59 ± 14	7.1 ± 0.1
8sa	Salt marsh	<i>S. alterniflora</i>	2.0 ± 0.7	95.7 ± 1.3	4.3 ± 1.3	-217 ± 13	7.2 ± 0.3

Fig. 2 Mean metal concentrations in sediments for the study site (mudflats: $N = 1$; salt marsh: mean \pm SD, $N = 3$). Dotted line represents the Interim Sediment Quality Guidelines (ISQG) Canadian (CCME 2001)



Labile concentrations in silt-clay were higher than in bulk sediments, where sandy particles produce a dilution effect. The following ranges were obtained: Fe 0.13–0.52%, Zn 6.8–245.5 mg kg⁻¹, Cu <1.0–27.7 mg kg⁻¹, Pb < 5.0–52.3 mg kg⁻¹ (Fig. 2). It is observed that Canadian guideline values for protection of aquatic life (CCME 2001) were exceeded by Pb, Cu, and Zn inside the Encerrado channel (Fig. 2). The highest values were registered in site 1 (close to the Pile), both mudflat and salt marsh, except for Fe, which was maximum in site 7 (eastern harbor).

In order to compare pollution status of mudflat sediments inside and outside the Encerrado channel, sampling sites in the mudflat were separated in two groups: sites 1, 2, 3, and 4 and sites 5, 6, 7, and 8, respectively. The same was done for sites in the salt marsh: sites 1sd and 3sd for inside and sites 5sd, 5sa, and 8sa for outside. In the mudflat, Pb was significantly higher inside the channel for pseudototal concentrations in bulk sediments (t test, gl 6, $p = 0.047$) and for labile concentrations in silt-clay (t test, gl 6, $p = 0.045$). In the salt marsh, pseudototal concentrations of Pb, Cu, and Zn in bulk sediments were higher inside than outside the channel (t test, gl 13, $p_{Pb} < 0.001$, $p_{Cu} = 0.002$, and $p_{Zn} = 0.016$). The same was observed for labile concentrations in bulk sediments (t test, gl 13, $p_{Pb} = 0.004$, $p_{Cu} = 0.009$, and $p_{Zn} = 0.007$) and for labile concentrations in silt-clay (t test, gl 13, $p_{Pb} < 0.001$, $p_{Cu} = 0.005$, and $p_{Zn} = 0.005$).

In comparison with available historical data, the potentially bioavailable metal concentrations in silt-clay particles seem to have decreased; however, levels in the Pile still remain high compared to values of previous studies (Gil et al. 1999; Vázquez et al. 2007; Lo Russo 2012) (Fig. 3). Although the metals in the slag seem to be stabilized, any physical or chemical alteration of the soil may remobilize them, with a high environmental risk.

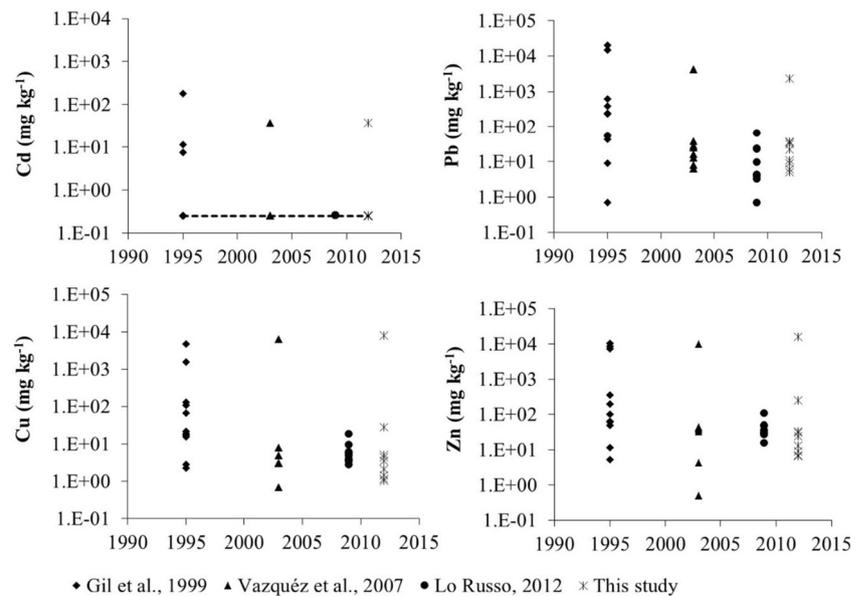
Integration of environmental and metal results in sediments through a PCA, allowed extracting two new variables (PC1 and PC2) that explained 88% of the total variance (57 and 31%, respectively) (Table 4). PC1 exhibited high positive relationships with Zn, Cu, and Pb (both pseudototal and labile contents in the bulk sediments as well as labile contents in silt-clay particles), while PC2 was positively associated to the percentage of silt-clay particles, OM contents, and Fe concentrations.

Position of factor scores (Fig. 4) shows that sites located closer to the Pile (1, 2, 3, 1sd, and 3sd) are positioned towards the positive PC1 axis (most metal-polluted sediments) with the highest score for site 1, whereas negative signs were scored for all the other cases (less-polluted sediments) with the highest negative score corresponding to the site 8sa.

In relation to PC2, positions towards the positive axis are occupied by sites 1, 7, 1sd, 5sa, and 8sa (the most enriched in silt-clay, OM, and Fe). Sediments nearby *S. alterniflora* (sites 5sa and 8sa) notably exhibited higher PC2 scores than their adjacent mudflat sediments (sites 5 and 8, respectively). In coexisting *S. alterniflora* and *S. densiflora* sediments (sites 5sa and 5sd), higher PC2 scores were observed for the former as expected in sediments related to lower salt marsh plants.

This integrative analysis shows that sediment metal pollution in SAB is actually restricted to the Encerrado channel, being the Pile the principal source. Metal retention capacity of sediments from the salt marsh does not seem to be different from adjacent mudflat sediments. Furthermore, general distribution of metals within the bay would not strongly depend on fine particles and OM distribution. In this sense, physical process (such as wind and ebb currents) would be critical factors that contribute to the dispersion of particles enriched with metals, since they set a net transport of material out of the bay (Aliotta et al. 2000).

Fig. 3 Labile metal concentrations in silt-clay particles (mg kg^{-1}) from sediments in SAB at different years. Dotted line in Cd indicates detection limit (0.25 mg kg^{-1})



Metal concentrations in shoot and root tissues of *Spartina* spp.

Metal results in plant tissues showed that roots from the five sites are capable of absorbing all the metals detected in the sediments, with the essentials in higher levels than non-essential ones ($\text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Cd}$). Cadmium, which was not detected in either sediment sample, was found in roots of *S. alterniflora* ($0.15\text{--}0.16 \text{ mg kg}^{-1}$). Low salt marsh is subject to daily tidal flooding, determining fluctuations in the oxidation-reduction conditions. Under anaerobic

conditions, Cd could be retained as sulfide in the rhizosphere, and eventually be oxidized by oxygen released by the roots themselves, favoring its absorption by plants (Sundby et al. 1998; Burke et al. 2000). Pb was detected in plants located closest to the Pile in root ($7.0 \pm 4.5 \text{ mg kg}^{-1}$) and shoot ($3.0 \pm 1.8 \text{ mg kg}^{-1}$), while in others sites, it was measured only in roots tissues near or under the detection limit (Table 5). It was observed that Cu, Zn, and Fe were higher in root than in shoot.

Inside the Encerrado channel, metal concentrations in *S. densiflora* were compared among sites and tissues (two-way ANOVA) (Table 6), obtaining a significant interaction for the three metals. Post hoc comparisons showed that differences between shoot-root were higher in site 1sd than in sites 3sd and 5sd for Cu and Fe (Tukey, $p < 0.05$). For Zn, the differences were higher in sites 1sd and 5sd than in site 3sd (Tukey, $p < 0.05$).

Comparison between species was only possible in site 5 (5sd and 5sa). No significant differences were found for Zn, while Cu ($p = 0.035$) and Fe ($p = 0.016$) were higher in *S. alterniflora* than in *S. densiflora*. Comparing between tissues, Cu ($p = 0.001$) and Zn ($p < 0.001$) were higher in root than in shoot for both species and Fe showed no differences (Table 6).

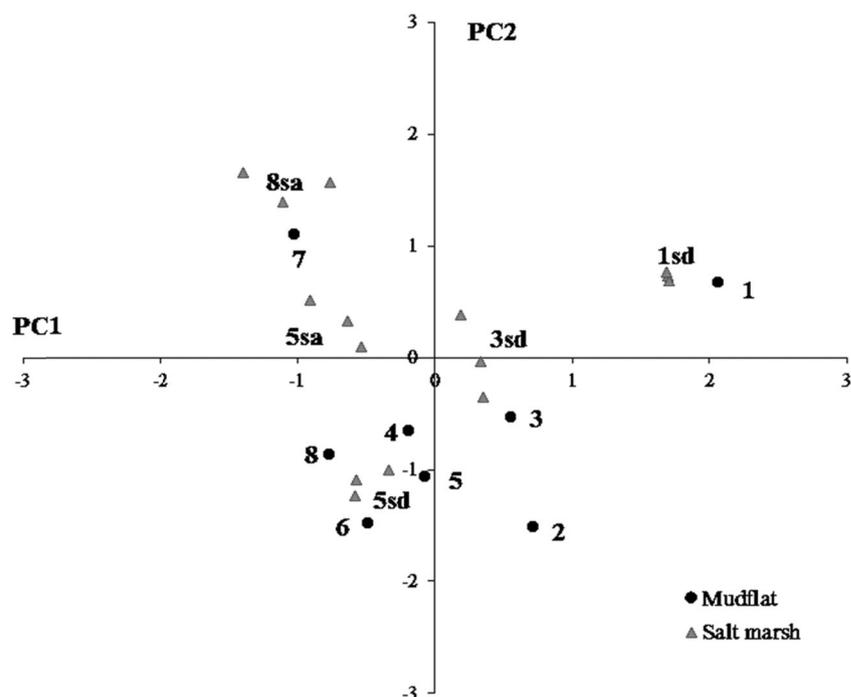
As reported in the literature, the metal levels in tissues were below phytotoxic levels (Table 7) (Prasad et al. 2006; Kabata-Pendias 2011). Compared to other salt marshes, the results obtained for *S. densiflora* in this study were similar to those reported for *S. densiflora* from Rawson (Chubut Province, Argentina), which has been considered as non-polluted (Idaszkin et al. 2014). The only exception was site 1sd, where concentrations of Pb, Zn, and Fe in roots were twice as Rawson records. A recent study in SAB in

Table 4 Factor loadings for PCA

	PC1	PC2
OM%	0.264	<i>0.871</i>
Silt-clay%	0.494	<i>0.800</i>
Pb pc	<i>0.955</i>	0.211
Cu pc	<i>0.777</i>	0.531
Zn pc	<i>0.846</i>	0.421
Fe pc	0.042	<i>0.882</i>
Pb lc	<i>0.955</i>	0.216
Cu lc	<i>0.913</i>	0.336
Zn lc	<i>0.887</i>	0.384
Fe lc	0.474	<i>0.825</i>
Pb lf	<i>0.934</i>	-0.057
Cu lf	<i>0.923</i>	0.277
Zn lf	<i>0.960</i>	0.237
Fe lf	0.156	<i>0.777</i>
Expl. var	7.975	4.408
Prp. total	0.70	0.315

Significant values are indicated in italics

Fig. 4 Principal component analysis with PC1 (Pb, Cu, and Zn contents) and PC2 (fine particles, OM, and Fe content)



S. densiflora showed a similar level in shoots and roots (Idaszkin et al. 2015). In the case of *S. alterniflora*, the values found in SAB were in the same order of magnitude than those reported by Hempel et al. (2008) for the salt marsh of Villa del Mar (Buenos Aires Province, Argentina), which is subjected to several sources of pollution. On the other hand, results in SAB are lower than those reported in *S. maritima* and *S. densiflora* from highly metal-polluted places like estuary of the Odiel and Tinto rivers (Spain) (Cambrollé et al. 2008; Curado et al. 2014), *S. alterniflora* from Hackensack Meadowlands in New Jersey (Burke et al. 2000; Windham et al. 2003) and *S. maritima* from Swartkops estuary in South Africa (Phillips et al. 2015), among others (Table 7).

Overall, the BCF was above the unit for Cu and Zn and below the unit for Pb and Fe (Table 8). Due to levels below

detection limit, BCF for Cd could not be calculated; nevertheless, Cd was uptaken for roots of *S. alterniflora*. It is known that mechanisms of metal uptake differ with each metal. Essential elements like Cu and Zn are actively absorbed, while non-essential elements like Pb and Cd are passively absorbed with a reduced uptake rate (Kabata-Pendias 2011). Zn and Cd have similar chemical properties. Compounds released by the plant for facilitating Zn uptake may promote Cd uptake too (Almeida et al. 2011). The geochemistry of Fe plays an important role controlling its own uptake, as well as those of other elements. In this sense, low BCF for Fe was in accordance with the high concentrations found in the sediments surrounding roots, probably as Fe oxyhydroxide. Low BCF for Fe is expected in plants capable to release oxygen from roots, like *Spartina* spp. (Vale et al. 1990; Williams et al.

Table 5 Metal concentrations in *Spartina* tissues ($N = 3$, mean \pm SD, mg kg^{-1})

Species	Site	Tissue	Cd	Pb	Cu	Zn	Fe
<i>S. densiflora</i>	1sd	Shoot	nd	3.0 ± 1.8	2.2 ± 0.8	20.7 ± 3.4	476 ± 174
		Root	nd	7.0 ± 4.5	8.4 ± 1.0	81.0 ± 13.3	2274 ± 556
	3sd	Shoot	nd	nd	2.6 ± 0.9	34.1 ± 17.5	519 ± 115
		Root	nd	1.2 ± 0.3	4.3 ± 0.6	50.8 ± 6.6	605 ± 376
	5sd	Shoot	nd	nd	1.7 ± 0.6	17.1 ± 3.0	158 ± 23
		Root	nd	nd	2.7 ± 0.1	60.6 ± 9.6	250 ± 86
<i>S. alterniflora</i>	5sa	Shoot	nd	nd	1.9 ± 0.5	19.9 ± 2.6	351 ± 104
		Root	0.16 ± 0.05	1.4 ± 0.2	4.5 ± 0.5	55.6 ± 18.9	303 ± 84
	8sa	Shoot	nd	nd	2.8 ± 1.2	10.4 ± 3.0	556 ± 78
		Root	0.15 ± 0.04	nd	5.2 ± 0.6	24.1 ± 10.0	1300 ± 759

nd no detected

Table 6 Two-way ANOVA results for metal concentrations in plants

Comparisons among sites and tissues for <i>S. densiflora</i>							
	Cu			Zn		Fe	
	df	F	p	F	p	F	p
Site	2	11.64	0.002	1.89	0.193	31.38	<0.001
Tissue	1	45.54	<0.001	82.19	<0.001	15.93	0.002
Site*tissue	2	5.45	0.021	6.13	0.015	7.42	0.008
Error	12						
Comparisons between species and tissues for site 5							
Species	1	6.48	0.035	0.03	0.868	9.22	0.016
Tissue	1	28.07	0.001	78.85	<0.001	0.75	0.412
Species*tissue	1	1.63	0.237	1.19	0.307	3.09	0.117
Error	8						

p < 0.05; significant differences are indicated in italics

1994). In addition, the rhizoconcretions formed on the roots have a large capacity to retain other metals, thus could be limiting their uptake into the tissue (Vale et al. 1990; Otte et al. 1991; De Lacerda et al. 1993).

With respect to TF, it was below the unit for all elements in all sites, except for Fe in site 5sa (Table 8). This pattern suggests an avoidance of metal translocation, keeping the metals in roots and surrounding sediments, accordingly to previous studies performed in different *Spartina* species (Windham et al. 2003; Duarte et al. 2009; Cambrollé et al. 2011; Almeida et al. 2011). Possible physiological mechanisms responsible for restricted uptake and translocation within plants include cell wall immobilization, complexation with substances such as phytochelatins, and barriers at the root endodermis (Vale et al. 1990; Clements et al. 2002; Mucha et al. 2005; Anjum et al. 2013). Even when this pattern explains a low upward transport, excretion mechanisms through leaves

Table 7 Metal concentrations in *Spartina* genus from different sites (mg kg⁻¹)

Species	Tissue	Cd	Pb	Cu	Zn	Fe
Phytotoxic range (1, 2)	Leaves	5–30	30–300	20–100	100–400	
<i>S. densiflora</i> (3)	Shoot	<1	<2	6	18–22	0.75%
	Root	<1	<2	4–6	20–25	1–1.5%
<i>S. densiflora</i> (4)	Shoot	<0.1	2–12	1–3	10–60	200–500
	Root	<0.1	6–18	3–17	20–120	500–2800
<i>S. densiflora</i> (5)	Leaf		25–40	100–500	100–200	
	Root		100–150	500–2000	500–1000	
<i>S. alterniflora</i> (6)	Shoot	0.10–0.8	<0.12	5–13	19–27	199–365
	Root	<0.01–0.1	<0.12–2.0	12–37	46–63	239–510
<i>S. alterniflora</i> (7)	Leaves		1.6 ± 1.1	3.7–6.5	4.2–26.5	
	Stems		0.9 ± 0.8	0.9–7.1	12.9–32.2	
	Root		120.6 ± 54.8	100.8–212.3	236–898	
	Rhizome		19.7 ± 20.8	6.3–52.8	29.5–168.0	
<i>S. alterniflora</i> (8)	Shoot		0.9	6.8	29.77	
<i>S. alterniflora</i> (9)	Leaves			4.2–6.3	6–14	128–385
	Stem			4.3–7.7	6–47	39–372
	Root			4.7–13.5	16–173	417–3030
<i>S. alterniflora</i> (10)	Shoot		2–10	5–30	25–80	
	Root		5–25	20–100	25–200	
<i>S. maritima</i> (5)	Leaf		30–60	100–800	100–400	
	Root		50–175	400–4500	400–1500	
<i>S. maritima</i> (11)	Leaves	0.4 ± 0.0	4.5 ± 0.7	83 ± 5	102 ± 9	1513 ± 137
	Stems	0.7 ± 0.2	<LD	36 ± 4	33 ± 11	270 ± 22
	Root	2.4 ± 0.5	6.0 ± 2.4	348 ± 58	193 ± 54	4160 ± 945
	Rhizome	1.0 ± 0.2	0.4 ± 0.1	74 ± 10	48 ± 14	636 ± 83
<i>S. maritima</i> (12)	Leaves	0.60–0.79	2.7–5.2	6.7–10.1	22.0–30.3	
	Stems	0.73–0.74	0.9–5.2	6.2–7.0	13.3–34.0	
	Root	1.36–1.79	8.1–37.3	18.1–25.8	48.7–57.2	
<i>S. maritima</i> (13)	Shoot	0.02–0.03		2.8–3.8	17–21	0.00–0.01%
	Root	2.5–19		48–287	743–4185	2.2–14%
<i>S. maritima</i> (13)	Shoot	0.00–0.01		3.4–6.1	17.0–20	0.01–0.04%
	Root	0.19–1.9		17–105	14–174	2.5–7.8%
<i>S. maritima</i> (14)	Shoot	1–5	5–20	10–20	10–50	
	Root	1–5	10–50	10–50	50–150	
<i>S. anglica</i> (15)	Shoot	0.1–1.1		2–6	24–50	
	Root	0.5–16		3–37	40–190	

References: 1—Prasad et al. 2006; 2—Kabata-Pendias 2011; 3—Idaszkin et al. 2014; 4—Idaszkin et al. 2015; 5—Cambrollé et al. 2008; 6—Hempel et al. 2008; 7—Windham et al. 2003; 8—Burke et al. 2000; 9—Alberts et al. 1990; 10—Quan et al. 2007; 11—Curado et al. 2014; 12—Phillips et al. 2015; 13—Caetano et al. 2008; 14—Couto et al. 2013; 15—Otte et al. 1991

Table 8 Bioconcentration (BCF) and translocation (TF) factors for *Spartina* spp. ($N = 3$, mean \pm SD)

Specie	Site	BCF				TF			
		Pb	Cu	Zn	Fe	Pb	Cu	Zn	Fe
<i>S. densiflora</i>	1sd	0.2 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1	1.0 \pm 0.2	0.5 \pm 0.3	0.3 \pm 0.1	0.3 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0
	3sd	0.1 \pm 0.0	2.9 \pm 0.3	5.3 \pm 0.8	0.4 \pm 0.2	–	0.6 \pm 0.2	0.7 \pm 0.3	1.0 \pm 0.4
	5sd	–	4.6 \pm 0.2	19.6 \pm 2.5	0.3 \pm 0.1	–	0.6 \pm 0.2	0.3 \pm 0.1	0.7 \pm 0.2
<i>S. alterniflora</i>	5sa	0.3 \pm 0.0	6.2 \pm 2.2	10.5 \pm 1.3	0.2 \pm 0.1	–	0.4 \pm 0.1	0.4 \pm 0.2	1.3 \pm 0.6
	8sa	–	8.7 \pm 1.0	5.5 \pm 1.3	0.9 \pm 0.5	–	0.5 \pm 0.2	0.5 \pm 0.1	0.5 \pm 0.2

– not calculated due to values below the detection limit

and subsequent metal return through senescent leaves to sediments should be taken into account. *S. alterniflora* can release large quantities of metals into the salt marsh environment through both excretion and deposition of leaves. In fact, it has been reported that salt-tolerant plants can excrete large amount of metals in salt crystals produced by salt glands of leaves (Burke et al. 2000; Weis and Weis 2004).

According to these results, metal distributions in tissues of plants from SAB are in agreement with the expected patterns reported in the literature for *Spartina* genus, showing higher metal concentrations in below-ground structures such as rhizomes and roots than shoots as a consequence of reduced metal translocation (Quan et al. 2007; Caetano et al. 2008; Cambrollé et al. 2008; Caçador et al. 2009; Almeida et al. 2011; Redondo Gómez 2013). However, their influence on the global distribution of metals within the bay would not be relevant, due to the following facts: the most metal enriched area (inside the Encerrado channel) is dominated by high salt marsh (Isacch et al. 2006), where metal retention is less likely to occur than in the low salt marsh (Otte et al. 1991; Luque et al. 1999; Weis and Weis 2004). In oxidized sediment, as in high salt marsh, metals are exposed to air and they are present in oxyhydroxide form. Whereas in low salt marsh, the time of inundation is longer and the anoxic sediment favors the formation of insoluble sulfur and less bioavailable forms of metals (Weis and Weis 2004). On the other hand, the area of the bay where large low salt marsh is developed (outside the Encerrado channel) is subject to a very low level of contamination.

Conclusions

For the first time a screening-level risk-assessment approach has been conducted in the protected area of the San Antonio Bay. Comparisons of values with environmental guidelines and with natural concentrations help us to conclude that hazardous metal levels would be restricted to the innermost area of the Encerrado channel. Concentrations decrease rapidly

with increasing distance to the Pile and, regarding historical evolution, a decline has been observed at the scale of the complete bay. This shows a clear washing of the system probably influenced by its hydrological characteristics.

Given the remobilization and resuspension of sediments and their distribution due to the tidal hydrodynamics, all organisms could be affected, regardless of their location in the studied area. Furthermore, the use of different extraction procedures showed that Zn, Cu, and particularly Pb in sediments from the Encerrado channel were associated to the more unstable fraction. Thus, under physical and chemical changes, they would be susceptible to increase their potential for remobilization and pass into the water column.

Nevertheless, plants located within the Encerrado channel seem to be able to deal with pollution, probably because of its high location, where oxidized conditions favored mobility of metals. Under these conditions, the metals could be dispersed into the bay by seawater instead of being retained in the sediment. High concentrations of metals in salt marsh sediments not necessarily lead to elevated concentrations in plant tissues, maybe because of its high position in the contaminated channel (*S. densiflora* inside the channel) or due to growth in the area less polluted (*S. densiflora* as well as *S. alterniflora* outside the channel). Studies on other substrates such as water, atmospheric dust, and biota would help to understand the cycle of metals in this ecosystem.

In contrast, trace metal concentrations in the soils from Pile were the highest. These soils contain concentrations of Cd, Pb, Cu, and Zn that exceed the values for agricultural, residential, and industrial land uses and represent a human health risk. It is noteworthy that the mining wastes still coexist with the population of San Antonio Oeste. Only recently, a remediation strategy has been initiated. A containment cell will be built, far from the urban zone, to hold the contaminated mining wastes from the Pile. The removal and transport of contaminated material must be carefully done to avoid releasing the contaminated particles.

Acknowledgements This work has been carried out in the framework of the doctoral thesis of the B.S. Carmen Marinho (Universidad Nacional

del Comahue). C.M. was supported by a doctoral scholarship from CONICET. Mr. Bernabé Urtubey kindly has reviewed the English version of this manuscript. We thank anonymous reviewers for their valuable suggestions and corrections on previous versions of this manuscript.

References

- ACS, RFF (1998) Understanding risk analysis. A short guide for health, safety and environmental policy making. Internet Edition. A Publication of the American Chemical Society (ACS) and Resources for the Future (RFF) - written by M. Boroush, ACS, Washington, DC.
- Agemian H, Chau A (1976) Evaluation of extraction techniques for the determination of metals in aquatic sediments. *Analyst* 101(1207): 761–767
- Alberts JJ, Price MT, Kania M (1990) Metal concentrations in tissues of *Spartina alterniflora* (Loisel) and sediments of Georgia saltmarshes. *Estuar Coastal Shelf S* 30:47–58
- Aliotta S, Schnack EJ, Isla FI, Lizasoain GO (2000) Desarrollo secuencial de forma de fondo en un régimen macromareal. *Asociación Argentina de Sedimentación* 7(1–2):95–107
- Almeida CMR, Mucha AP, Vasconcelos MT (2011) Role of different saltmarsh plants on metal retention in an urban estuary (Lima Estuary, NW Portugal). *Estuar Coast Shelf S* 91:243–249
- Anjum NA, Ahmad I, Válega M, Mohmood I, Gill SS, Tuteja N, Duarte AC, Pereira E (2013) Salt marsh halophyte services to metal-metalloid remediation: assessment of the processes and underlying mechanisms. *Environ Sci Technol* 44:2038–2106
- Bas C, Luppi T, Spivak E (2005) Population structure of the South American estuarine crab, *Chasmagnathus granulatus* (*Brachyura: Varunidae*) near the southern limit of its geographical distribution: comparison with northern populations. *Hydrobiologia* 537:217–228
- Beck M, Böning P, Schükel U, Stiehl T, Schnetger B, Rullkötter J, Brumsack HJ (2013) Consistent assessment of trace metal contamination in surface sediments and suspended particulate matter: a case from the Jade Bay in NW Germany. *Mar Pollut Bull* 70:100–111
- Bonuccelli R, Malán J, Luna L, Torres L (2004) Contaminación por metales pesados derivados de la lixiviación de escorias de fundición. San Antonio Oeste. Río Negro. IBMP Serie Publicaciones N° 3: 63–66.
- Bortolus A (2006) The austral cordgrass *Spartina densiflora* Brong: its taxonomy, biogeography and natural history. *J Biogeogr* 33:158–168
- Bortolus A, Lartera P, Iribarne O (2004) Crab-mediated phenotypic changes in *Spartina densiflora* Brong. *Estuar Coast Shelf S* 59:97–107
- Burke DJ, Weis JS, Weis P (2000) Release of metals by the leaves of the salt marsh grasses *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis*. *Estuar Coast Shelf S* 51:153–159
- Byers SC, Mills EL, Stewart PL (1978) A comparison of methods of determining organic carbon in marine sediments, with suggestions for a standard method. *Hydrobiologia* 58:43–47
- Caçador I, Caetano M, Duarte B, Vale C (2009) Stock and losses of trace metals from salt marsh plants. *Mar Environ Res* 67:75–82
- Caetano M, Vale C, Cesário R, Fonseca N (2008) Evidence for preferential depths of metal retention in roots of salt marsh plants. *Sci Total Environ* 390:466–474
- Cambrollé J, Mateos-Naranjo E, Redondo-Gómez S, Luque T, Figueroa ME (2011) The role of two *Spartina* species in phytostabilization and bioaccumulation of Co, Cr, and Ni in the Tinto-Odiel estuary (SW Spain). *Hydrobiologia* 671:95–103
- Cambrollé J, Redondo-Gómez S, Mateos-Naranjo E, Figueroa ME (2008) Comparison of the role of two *Spartina* species in terms of phytostabilization and bioaccumulation of metals in the estuarine sediment. *Mar Pollut Bull* 56:2037–2042
- Carbone ME, Melo WD, Piccolo MC (2014) Procesos ambientales que afectan la bahía San Antonio y su área de adyacencia (Prov. de Río Negro). *Huellas* n°18: 132–144.
- CCME, Canadian Council of Ministers of the Environment (2001) Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life. In: Canadian Environmental Quality Guidelines, 1999. http://www.ccme.ca/en/resources/canadian_environmental_quality_guidelines. Winnipeg. Summary Table Last Updated 2002. Accessed March 2016.
- Clements SM, Palmgren MG, Krämer U (2002) A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant Sci* 7(7):309–315
- Clevenger TE (1990) Use of sequential extraction to evaluate the heavy metals in mining wastes. *Water Air Soil Poll* 50:241–254
- Couto T, Duarte B, Barroso D, Caçador I, Marques JC (2013) Halophytes as sources of metals in estuarine systems with low levels of contamination. *Funtional Plant Biology*. doi: 10.1071/FP12300
- Curado G, Rubio-Casal AE, Figueroa E, Castillo JM (2014) Potential of *Spartina maritima* in restored salt marshes for phytoremediation of metals in a highly polluted estuary. *International Journal of Phytoremediation* 16:1209–1220
- De Lacerda LD, Carvalho CEV, Tanizaki KF, Ovale ARC, Rezende CE (1993) The biogeochemistry and trace metals distribution of mangrove rhizospheres. *Biotropica* 25(3):252–257
- De Pietri DE, García S, Rico O (2008) Modelos geo-espaciales para la vigilancia local de la salud. *Rev Panam Salud Pública* 23(6):394–402
- Duarte B, Almeida PR, Caçador I (2009) *Spartina maritima* (cordgrass) rhizosediment extracellular enzymatic activity and its role in organic matter decomposition processes and metal speciation. *Mar Ecol* 30(1):65–73
- Fitzgerald EJ, Caffrey JM, Nesaratnam ST, McLoughlin P (2003) Copper and lead concentrations in salt marsh plants on the Suir Estuary, Ireland. *Environ Poll* 123:67–74
- Fucks EE, Schnack EJ, Charó M (2012) Aspectos geológicos y geomorfológicos del sector N del Golfo San Matías, Río Negro, Argentina. *Rev Soc Geol España* 25(1–2):95–105
- Gil MN, Harvey M, Esteves JL (1999) Heavy metals in intertidal sediments from Patagonian coast, Argentina. *Bull Environ Cont Toxicol* 63:52–58
- Gil MN, Torres AI, Harvey M, Esteves JL (2006) Metales pesados en organismos marinos de la zona costera de la Patagonia Argentina Continental. *Rev Biol Mar Ocean* 41(2):167–176
- Gupta S, Nayek S, Saha RN, Satpati S (2008) Assessment of heavy metal accumulation in macrophyte, agricultural soil, and crop plants adjacent to discharge zone of sponge iron factory. *Environ Geol* 55:731–739
- Hempel M, Botté SE, Negrin VL, Chiarello MN, Marcovecchio JE (2008) The role of the smooth cordgrass *Spartina alterniflora* and associated sediments in the heavy metal biogeochemical cycle within Bahía Blanca estuary salt marshes. *J Soils Sediments* 8:289–297
- Hung GA, Chmura GL (2007) Metal accumulation in surface salt marsh sediments of the Bay of Fundy, Canada. *Estuar Coasts* 30(4):725–734
- Idaszkin YL, Bouza PJ, Marinho CH, Gil MN (2014) Trace metal concentrations in *Spartina densiflora* and associated soil from a Patagonian salt marsh. *Mar Pollut Bull* 89:444–450
- Idaszkin YL, Lancelotti JL, Bouza PJ, Marcovecchio JE (2015) Accumulation and distribution of trace metals within soils and the austral cordgrass *Spartina densiflora* in a Patagonian salt marsh. *Mar Pollut Bull* 101(1):457–465
- Isacch JP, Costa CSB, Rodríguez Gallego L, Conde D, Escapa M, Gagliardini DA, Iribarne OO (2006) Distribution of salt marsh plant communities associated with environmental factors along a

- latitudinal gradient on the south-west Atlantic coast. *J Biogeogr* 33: 888–900
- ISO, International Standard (1995) ISO 11466. Soil quality: extraction of trace elements soluble in aqua regia.
- Jayaprakash M, Jonathan MP, Srinivasalu S, Muthuraj S, Ram-Mohan V, Rajeshwara-Rao N (2008) Acid-leachable trace metals in sediments from an industrialized region (Ennore Creek) of Chennai City, SE coast of India: an approach towards regular monitoring. *Estuar Coast Shelf S* 76:692–703
- Kabata-Pendias A (2011) Trace elements in soils and plants. 4th Edition. pp 505.
- Law N° 24051 (1992) Hazardous wastes. Sanctioned: 12/17/1991. Enacted: 01/08/1992.
- Law N° 2670 (1993) Sanctioned: 07/29/1993. Enacted: 08/28/1993- Decree N° 1258. Official Bulletin: N° 3091.
- Lee CG, Chon HT, Jung MC (2001) Heavy metal contamination in the vicinity of the Daduk Au-Ag-Pb-Zn mine in Korea. *Appl Geochem* 16:1377–1386
- Lemly AD (1996) Evaluation of the hazard quotient method for risk assessment of selenium. *Ecotox Environ Safe* 35:156–162
- Lo Russo V (2012) Tesis de Doctorado: Comparación de comunidades de nematodos de marismas de San Antonio Oeste (Río Negro) y San Julián (Santa Cruz). Universidad Nacional del Comahue. Pp 202.
- Luppi T, Bas C, Mendez-Casariago A, Albano M, Lancia J, Kittlein M, Rosenthal A, Farias N, Spivak N, Iribarne O (2013) The influence of habitat, season and tidal regime in the activity of the intertidal crab *Neohelice (Chasmagnathus) granulata*. *Helgol Mar Res* 67:1–15
- Luque CJ, Castellanos EM, Castillo JM, Gonzalez M, Gonzalez-Vilchez MC, Figueroa ME (1999) Metals in halophytes contaminated estuary (Odiel saltmarshes, SW Spain). *Mar Pollut Bull* 38(1):49–51
- MacGrath SP, Cunliffe CH (1985) A simplified method for the extraction of the metals Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co and Mn from soils and sludges. *J Sc Food Agr* 36:794–798
- Marchand L, Mench M, Jacob DL, Otte ML (2010) Metal and metalloid removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of plants and standardized measurements: a review. *Environ Pollut* 158:3447–3461
- Montemayor DI, Canepuccia AD, Pascual J, Iribarne OO (2014) Aboveground biomass pattern of dominant *Spartina* species and their relationship with selected abiotic variables in Argentinian SW Atlantic marshes. *Estuar Coasts* 37:411–420
- Mucha AP, Almeida CMR, Bordalo AA, Vasconcelos MT (2005) Exudation of organic acids by a marsh plant and implications on trace metal availability in the rhizosphere of estuarine sediments. *Estuar Coast Shelf S* 65:191–198
- Otte ML, Bestebroer SJ, van der Linden JM, Rozema J, Broekman RA (1991) A survey of zinc, copper and cadmium concentrations in salt marsh plants along the Dutch coast. *Environ Pollut* 72:175–189
- Phillips DP, Human LRD, Adams JB (2015) Wetland plants as indicators of heavy metal contamination. *Mar Pollut Bull* 92(1–2):227–232
- Prasad MNV, Sajwan KS, Naidu R (Eds) (2006) Trace elements in the environment: biogeochemistry, biotechnology, and bioremediation. 1st Edition. pp. 706.
- Quan WM, Han JD, Shen AL, Ping XY, Qian PL, Li CJ, Shi LY, Chen YQ (2007) Uptake and distribution of N, P and heavy metals in three dominant salt marsh macrophytes from Yangtze River estuary, China. *Mar Environ Res* 64:21–37
- RAIS, Risk Assessment Information. System, 2008. http://rais.ornl.gov/tools/tox_profiles.html. Accessed March 2016.
- Reboreda R, Caçador I (2007) Halophyte vegetation influences in salt marsh retention capacity for heavy metals. *Environ Pollut* 146: 147–154
- Redondo Gómez S (2013) Bioaccumulation of heavy metals in *Spartina*. *Funct Plant Biol* 40:913–921
- Smith KS (2007) Strategies to predict metal mobility in surficial mining environments. In DeGraff, J.V. (Ed.), Understanding and responding to hazardous substances at mine sites in the Western United States: Geological Society of America Reviews in Engineering Geology, v. XVII. pp. 25–45.
- Sundby B, Vale C, Caçador I, Catarino F, Madureira M, Caetano M (1998) Metal-rich concretions on the roots of salt marsh plants: mechanism and rate of formation. *Limnol Oceanogr* 43:245–252
- Vale C, Catarino FM, Cortesão C, Caçador MI (1990) Presence of metal-rich rhizoconcretions on the roots of *Spartina maritima* from the salt marshes of the Tagus Estuary, Portugal. *Sci Total Environ* 97(98): 617–626
- Vázquez N, Gil MN, Esteves JL, Narvarte M (2007) Monitoring heavy metal pollution in San Antonio Bay, Río Negro, Argentina. *Bull Environ Cont and Toxicol* 79:121–125
- Weis JS, Weis P (2004) Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environ Int* 30:685–700
- Williams TP, Bubb JM, Lester JN (1994) Metal accumulation within salt marsh environments: a review. *Mar Pollut Bull* 28(5):277–290
- Windham L, Weis JS, Weis P (2003) Uptake and distribution of metals in two dominant salt marsh macrophytes, *Spartina alterniflora* (cordgrass) and *Phragmites australis* (common reed). *Estuar Coastal Shelf S* 56:63–72
- Yoon J, Cao X, Zhou Q, Ma LQ (2006) Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plant growing on a contaminated Florida site. *Sci Total Environ* 368:456–464
- Yoong K (1998) Chapter 24: determination of cadmium, chromium, cobalt, lead, and nickel in plant tissue. In Handbook of reference methods for plant analysis. Kalra YP (Ed.). pp. 193–198.
- Zabin SA, Howladar SM (2015) Heavy metals contamination and its health risk assessment in the sediments of water reservoir dams at Al-Baha Region, KSA. *Environmental Science: An Indian Journal* 10(6):224–230
- Zhang C, Yu Z, Zeng G, Jiang M, Yang Z, Cui F, Zhu M, Shen L, Hu L (2014) Effects of sediment geochemical properties on heavy metal bioavailability. *Environ Int* 73:270–281