



METALES PESADOS EN EL ESTUARIO DE BAHÍA BLANCA Y SU RELACIÓN CON LOS NIVELES DE METALOTIONEÍNAS EN *NEOHELICE GRANULATA*

HEAVY METALS IN THE BAHIA BLANCA ESTUARY AND ITS RELATION WITH METALLOTHIONEINS LEVELS IN *NEOHELICE GRANULATA*

Buzzi, Natalia S^{1,2}; Fernández Severini, Melisa D¹; Truchet, Daniela M^{1,2}; Villagrán, Diana^{1,2}; Fernández, Eleonora M^{1,3}; Spetter, Carla V^{1,3}

¹Instituto Argentino de Oceanografía (IADO), Universidad Nacional del Sur (UNS)-CONICET, Bahía Blanca – Argentina, ²Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina, ³Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina.

nbuzzi@criba.edu.ar

Resumen

En el Estuario de Bahía Blanca se ubican varios puertos, ciudades y uno de los complejos industriales más grandes de Sudamérica. En el presente trabajo se analizó la concentración de metales pesados en los sedimentos y en el material particulado en suspensión (MPS) y su relación con los niveles de metalotioneínas (MTs) en el cangrejo *Neohelice granulata* de dos sitios del estuario sometidos a diferente impacto antrópico. Los metales pesados luego de la digestión de la muestra en medio ácido, fueron leídos mediante ICP-OES y las MTs fueron determinadas por espectrometría UV-visible. Se encontraron diferencias altamente significativas en el contenido de MTs entre ambos sitios y entre cangrejos machos y hembras. Esto posiblemente se deba por un lado al distinto impacto antrópico recibido en cada sitio reflejado a su vez en la concentración de metales pesados en sedimentos y MPS; y naturalmente por el sexo.

Palabras clave: metales pesados, sedimentos, material particulado en suspensión, metalotioneínas.

Introducción

El Estuario de Bahía Blanca (EBB) (Argentina) se encuentra bajo una constante presión antrópica. Allí se ubican varios puertos (Pto. Ing. White, Pto. Galván y Pto. Rosales), ciudades (Bahía Blanca, Punta Alta, Gral. Cerri, etc.) y uno de los complejos industriales más grandes de Sudamérica (industrias químicas, petróleo, refinería, fertilizantes, etc). Desde el año 1978, en el mencionado estuario se han llevado a cabo estudios relacionados con la distribución y concentración de metales pesados en diferentes matrices bióticas y abióticas (Marcovecchio et al. 1988; Fernández Severini et al. 2009; Buzzi y Marcovecchio 2018). Entre ellas los sedimentos han sido descriptos como una fuente no puntual de contaminación y los metales unidos a ellos pueden ser liberados y afectar a los organismos acuáticos (Wang et al. 2004). El uso exclusivo de los métodos tradicionales de evaluación de metales es una herramienta útil para evaluar la contaminación ambiental pero tiene una aplicación limitada. Dado que el objetivo principal del monitoreo ambiental es proteger los sistemas biológicos / ecológicos, es necesario estudiar los efectos biológicos de la exposición a sustancias nocivas presentes en el ambiente (Langston et al. 2003). Hasta el momento nada se sabe sobre la inducción o expresión de *biomarcadores* en organismos del EBB. Las metalotioneínas (MTs) son pequeñas metaloproteínas citosólicas, su temprana inducción por metales traza en exceso hace que sean un potencial y útil biomarcador para evaluar el significado ecotoxicológico de los metales involucrados. Existen numerosos estudios que evalúan las variaciones en los niveles de MTs en crustáceos del hemisferio norte, por lo tanto, resulta interesante investigar el potencial uso de las MTs como biomarcador en una especie autóctona. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar y comparar la concentración de metales pesados de los sedimentos intermareales y del material particulado en suspensión (MPS) y su posible influencia biológica en dos sitios del estuario diferenciados por el grado de intervención antrópica. Para determinar el efecto sobre la

biota se medirá el contenido de MTs en una especie clave del EBB como lo es el cangrejo cavador *Neohelice granulata*.

Materiales y métodos

Durante abril de 2014 se relevaron dos sitios localizados en el EBB ($38^{\circ}45' - 39^{\circ}25' S$ y $61^{\circ}45' - 62^{\circ}30' O$; costa SO de la prov. de Buenos Aires), la selección de los mismos se realizó en base a conocimientos previos de cada uno (Figura 1). Puerto Cuatrerros (PC): adyacente a la ciudad de Gral. Cerri, está ubicado a 15 km aproximadamente de la zona del Polo Industrial, en la zona más interna del EBB. Puerto Rosales (PR): influenciado por las actividades portuarias y el ingreso de aguas residuales urbanas sin previo o escaso tratamiento de la ciudad de Punta Alta.

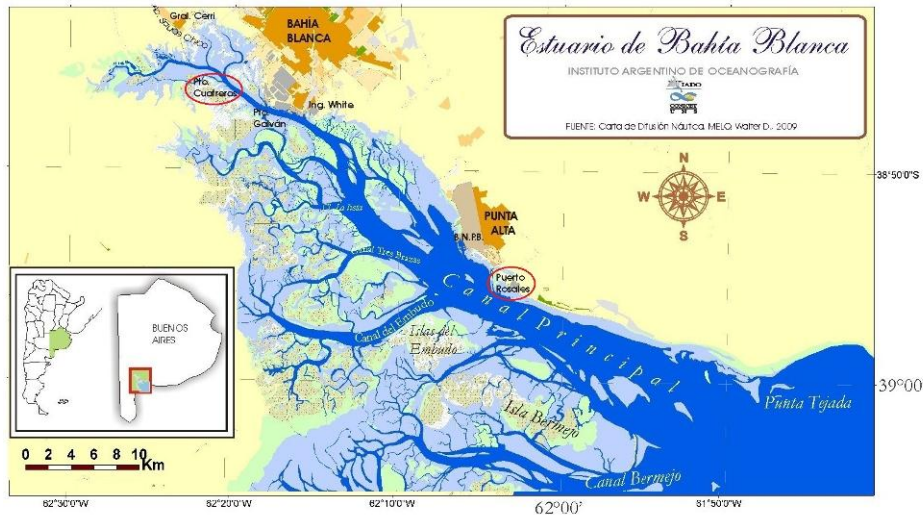


Figura 1. Localización de los sitios de muestreo, Puerto Cuatrerros y Puerto Rosales, en el EBB

En ambos sitios se tomaron muestras de sedimentos ($n=2$), MPS ($n=2$) y cangrejos machos ($n=9$) y hembras ($n=9$) de la especie *N. granulata*. Se seleccionaron cangrejos maduros en la etapa de intermuda con un ancho de caparazón entre 20 y 30 mm para hembras y entre 25 y 35 mm para machos. Simultáneamente, la temperatura, conductividad/salinidad, pH, turbidez y oxígeno disuelto (OD) se midió *in situ* utilizando una sonda multisensor Horiba U-10.

Determinación de metales pesados: las muestras de sedimentos se secaron en estufa a $50 \pm 5^{\circ}C$, hasta peso constante, se homogeneizaron y se tamizaron con el objetivo de obtener la fracción fina ($< 63 \mu m$) (FF). Por otro lado, las muestras de agua (1L) se filtraron a través de una membrana de ésteres de celulosa de $0,45 \mu m$ de poro empleando un equipo de filtración Millipore® y una bomba de vacío a una presión aprox. de a 750 mm de Hg. Los filtros con el MPS obtenido se secaron a $50 \pm 5^{\circ}C$ hasta peso constante, se pesaron y se almacenaron en desecador hasta su tratamiento analítico. Las concentraciones de metales (Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, Zn, Mn y Fe) en la FF y en el MPS se analizaron de acuerdo con la metodología de Marcovecchio y Ferrer (2005). Finalmente, la concentración de cada metal se determinó mediante espectrometría de plasma inducido acoplado con resolución óptica ICP-OES Optima 2100 DV Perkin Elmer.

Determinación de metalotioneínas: se realizaron *pooles* de 3 hepatopáncreas según sexo y sitio de muestreo. Para la cuantificación de MTs se aplicó el método espectrofotométrico de Viarengo et al. (1997). Los resultados se expresan en función de la concentración de glutatión reducido (GSH) como nmol MT/g tejido húmedo (th).

Resultados

Los parámetros fisicoquímicos registrados en la columna de agua en ambos sitios se observan en la tabla 1. En general, los valores son similares entre los sitios y se encuentran dentro del rango reportado en trabajos previos (Spetter et al. 2015 referencias allí citadas).

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos del agua

Parámetros fisico-químicos	PC	PR
Temperatura (C°)	14.20	13.80
Turbidez (ntu)	51.00	—
Conductividad (CD) (mS)	49.00	—
Salinidad (%)	2.95	3.72
pH	7.97	8.20
Oxígeno Disuelto (OD) (mg/l)	9.30	—

La concentración media de los metales pesados evaluados en la FF y en el MPS de ambos sitios, demostró el siguiente orden: Fe > Mn > Zn > Cu > Cr > Ni > Pb > Cd. Sólo en los sedimentos de PR la concentración de Pb fue mayor que la de Ni (Tabla 2). Considerando ambos sitios (PC y PR), aunque no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.1$), los valores de Cd, Cu, Pb, Zn y Fe tendieron a ser mayores en la FF de PR y los de Mn en PC. Por otro lado, en el MPS se observó un patrón casi contrario, sólo la concentración de Pb tendió a ser mayor en PR (Tabla 2).

Tabla 2. Concentración media de metales pesados en la FF de sedimentos y en el MPS de Puerto Cuatrerros y Puerto Rosales (* se dispone del valor de un filtro, el valor del otro filtro fue descartado debido a las diferencias con respecto a valores históricos) ($\mu\text{g g}^{-1}$; mg g^{-1} en el caso de Fe en peso seco; n.d.: no detectable).

	Sedimentos		MPS	
	PC	PR	PC *	PR
Cd	0.043 ± 0.011	0.090 ± 0.027	0.756	n.d.
Cu	11.132 ± 0.578	20.593 ± 3.933	14.170	12.61 ± 1.525
Pb	4.664 ± 0.905	6.302 ± 0.729	4.492	6.975 ± 0.787
Zn	28.085 ± 4.825	33.095 ± 6.330	53.750	49.1 ± 0.37
Mn	309.875 ± 21.325	261.875 ± 12.525	482.500	398.15 ± 18.05
Ni	5.800 ± 0.596	5.327 ± 0.575	8.095	7.236 ± 0.017
Cr	7.286 ± 0.829	7.288 ± 1.304	11.180	10.77 ± 0.32
Fe	21.205 ± 0.805	26.642 ± 3.298	24.510	20.53 ± 795

El análisis de la inducción de las MTs en hepatopáncreas del cangrejo *N. granulata* mostró diferencias significativas entre ambos sitios ($p < 0.01$) y entre cangrejos hembras y machos ($p < 0.005$), luego la interacción entre ambos factores no fue significativa ($p > 0.05$) (Figura 2).

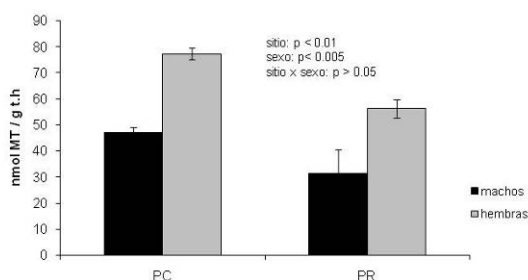


Figura 2. Síntesis de metalotioneínas (media ± ES) en el hepatopáncreas de *N. granulata* de ambos sitios

La síntesis de MTs fue mayor en el hepatopáncreas de los cangrejos de PC (62.23 ± 7.93 nmol MT/g th) que en los de PR (43.81 ± 5.89 nmol MT/g th). Relacionado con el sexo, los niveles de MTs en hembras adultas (66.81 ± 6.41 nmol MT/g th) fueron 1.7 veces más altos que en machos adultos (39.23 ± 3.78 nmol MT/g th) (Tabla 3).

Tabla 3. Resumen de la concentración de metalotioneínas en el hepatopáncreas de *Neohelice granulata* (nmol MT / g th) de Puerto de Cuatrerros y Puerto Rosales y en cangrejos hembras y machos.

	Sitio de muestreo		Sexo	
	PC	PR	Hembras	Machos
Media ± ES	62.23 ± 7.93	43.81 ± 5.89	66.81 ± 6.41	39.23 ± 3.78
Mínimo	43.33	27.14	50.45	27.14
Máximo	88.23	62.55	88.23	49.21



Conclusiones

Si bien se observa una tendencia contraria en la concentración de metales pesados en el MPS y en la FF de sedimentos entre PC y PR, estadísticamente las diferencias entre ambos sitios no fueron significativas. El comportamiento de los metales en ambas matrices podría deberse a las diferentes características de cada puerto: PC, pequeño puerto dedicado a la pesca artesanal, afectado por el dragado del Canal Principal, por las industrias presentes en Puerto Ingeniero White y por la descarga cloacal "Tercera Cuenca" (> 350000 hab); y PR, cercano a la Base Naval, al sector de reserva de combustible "Baterías", afectado también por la descarga cloacal de Punta Alta (~ 60000 hab). Por otro lado, la presencia de biofilms en PR (Fernández et al. 2016) junto con la materia orgánica existente en los sedimentos estarían reteniendo a estos contaminantes impidiendo su liberación al ambiente. A su vez, la concentración de metales pesados hallados en el MPS de PC puede estar relacionado con la composición del mismo (tipo de sedimento y composición planctónica, Fernández Severini et al. 2018). La inducción de las MTs en *N. granulata* fue mayor en PC lo que podría estar relacionado con el tiempo de permanencia del MPS en la columna de agua en ese sector (Angeletti 2017) que posibilitaría la adsorción de los metales y luego la decantación de los mismos hacia el sedimento que estarían consumiendo los cangrejos. Los resultados preliminares de este trabajo resultan interesantes y valiosos, ya que es la primera vez que se realiza un estudio integrado de estas características en el EBB. Finalmente, el uso de estos biomarcadores en *N. granulata* puede considerarse una herramienta relativamente sencilla para complementar las metodologías de monitoreo actuales y clásicas. De todas formas la inclusión de las MTs en *N. granulata* como un potencial biomarcador en los programas de biomonitoreo requiere cierta cautela con respecto al sexo de los organismos. Esta información sienta las bases para futuros estudios relacionados con metales pesados y futuros programas de seguimiento en éste y otros sistemas acuáticos similares.

Bibliografía

- Angeletti S., 2017. Efecto bioturbador del cangrejo *Neohelice granulata* sobre la distribución y transporte de sedimento en ambientes intermareales próximos al límite sur de su distribución geográfica: un estudio poblacional comparado. Tesis Doctoral. UNS.
- Buzzi N.S. y Marcovecchio J.E., 2018. Heavy metal concentrations in sediments and in mussels from Argentinean coastal environments, South America. *Environmental Earth Sciences*. 77-321. <https://doi.org/10.1007/s12665-018-7496-1>.
- Fernandez E.M., Spetter C.V., Martinez A.M., Cuadrado D.G., Avena M.J., Marcovecchio J.E., 2016. Carbohydrate production by microbial mats communities in tidal flat from Bahía Blanca Estuary (Argentina). *Environmental Earth Sciences* 75 (641): 1 - 14.
- Fernández Severini M.D., Botté S.E., Hoffmeyer M.S. y Marcovecchio J.E., 2009. Spatial and temporal distribution of cadmium and copper in water and zooplankton in the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. (85): 57-66.
- Fernández Severini M.D., Carbone M.E., Villagran D.M., Marcovecchio J.E., 2018. Toxic metals in a highly urbanized industry-impacted estuary (Bahía Blanca Estuary, Argentina): spatio-temporal analysis based on GIS. *Environmental Earth Sciences* (2018) 77:393 <https://doi.org/10.1007/s12665-018-7565-5>.
- Langston W.J., Chesman B.S., Burt G.R., Hawkins S.J., Readman J., Worsfold P., 2003. Site Characterization of the South West European Marine Sites—Poole Harbour SPA. Plymouth marine science partnership on behalf of the environment agency and English nature.
- Marcovecchio J.E., Ferrer L.D., 2005. Distribution and geochemical partitioning of heavy metals in sediments of the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *J. Coast. Res.* 21:826–834.
- Marcovecchio J.E., Moreno V. y Pérez A., 1988. Determination of heavy metal concentrations in biota of Bahía Blanca, Argentina. *Science of the Total Environment*. 75: 181-190.
- Spetter C.V., Buzzi N.S., Fernández E.M., Cuadrado D.G., and Marcovecchio J.E., 2015. Assessment of the physicochemical conditions sediments of a polluted tidal flat colonized by microbial mats in Bahía Blanca Estuary (Argentina). *Marine Pollution Bulletin*. 91:491-505.
- Viarengo A., Ponzano E., Dondero F. y Fabbri R., 1997. A simple spectrophotometric method for MT evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Marine Environmental Research*. 44:69-84.
- Wang H., Wang C.X., Wang Z.J., Cao Z.H., 2004. Fractionation of heavy metals in surface sediments of Taihu Lake, East China. *Environ. Geochem. Health*. 26:303–309.