

# BIOACUMULACIÓN DE CR-CU-PB EN *Zilchiopsis oronensis*, PRETZMANN 1978 (DECAPODA, TRICHODACTYLIDAE) EN CONDICIONES EXPERIMENTALES

GEORGINA TUMINI<sup>1</sup>, ANA MARÍA GAGNETEN<sup>1</sup>,  
ALBA IMHOF<sup>1</sup> y SUSANA GERVASIO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Ecotoxicología (FHUC-UNL). <sup>2</sup>Instituto de desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC-CONICET-UNL). PTLC. E-mail: georginatumini@yahoo.com.ar

## RESUMEN

Entre las sustancias tóxicas de mayor impacto en los ecosistemas acuáticos se encuentran los metales pesados. Estudios previos mostraron a los cangrejos como biomonitores de estas sustancias. Para determinar la posible relevancia de *Zilchiopsis oronensis* como biomonitor de la mezcla Cr-Cu-Pb se planteó investigar el potencial de acumulación de diferentes concentraciones de dichos metales en ejemplares bajo condiciones experimentales. Para ello, los cangrejos fueron expuestos individualmente durante 15 días a uno de cuatro tratamientos. La acumulación de Cr y Pb fue dependiente de las concentraciones de exposición; las branquias fueron las estructuras corporales que acumularon los metales en mayor medida; las hembras bioacumularon más Cu que los machos y la acumulación de Pb se relacionó negativamente con el peso corporal. La bioacumulación de metales pesados en *Z. oronensis* representa un potencial método de monitoreo de cuerpos de agua impactados por metales pesados.

### Palabras clave:

Ecotoxicología, metales pesados, cangrejos.

**BIOACUMULATION OF CR–CU–PB  
IN *Zilchiopsis oronensis*,  
PRETZMANN 1978 (DECAPODA,  
TRICHODACTYLIDAE) UNDER  
EXPERIMENTAL CONDITIONS**

**GEORGINA TUMINI<sup>1</sup>, ANA MARÍA GAGNETEN<sup>1</sup>,  
ALBA IMHOF<sup>1</sup> & SUSANA GERVASIO<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Ecotoxicología (FHUC–UNL). <sup>2</sup>Instituto de desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC–CONICET–UNL). PTLC. E–mail: georginatumini@yahoo.com.ar

**ABSTRACT**

Heavy metals are among the toxic compounds with the greatest impact on aquatic systems. Previous studies showed that crabs could be biomonitors of heavy metal contamination. In order to explore the relevance of *Zilchiopsis oronensis* as a biomonitor of the mixture Cr–Cu–Pb we investigated the bioaccumulation potential of these crabs when exposed under experimental conditions to different concentrations of the three metals. To this aim, crabs were individually exposed to one of the four treatments for 15 days. The accumulation of Cr and Pb depended on exposure concentration; gills accumulated higher levels of metal than other body structures; females bioaccumulated more Cu than males and the accumulation of Pb was negatively associated with body weight. The level of heavy metal bioaccumulation observed in *Z. oronensis* represents a potential method of monitoring heavy metal contamination in the wetlands they inhabit.

**Key words:**

Ecotoxicology, heavy metals, crabs.

## INTRODUCCIÓN

Como consecuencia de diferentes actividades con impacto antrópico, en el ambiente se han ido incorporando elementos tóxicos y contaminantes previamente inexistentes o presentes en concentraciones relativamente bajas. Entre los de gran impacto en los ecosistemas acuáticos se encuentran los metales pesados, que al no ser biodegradables presentan un elevado potencial de bioacumulación (Rosenberg & Resh, 1993; Amini Ranjbar, 1998), son potencialmente tóxicos (Marcovecchio *et al.*, 2007) y pueden comportarse incluso como inhibidores enzimáticos (Rainbow, 1985; Bryan & Langston, 1992) o como perturbadores endocrinos (Rodríguez *et al.*, 2007).

Para conocer el grado de toxicidad y el potencial de bioacumulación de metales pesados, resulta relevante cuantificar su incorporación en invertebrados dulceacuícolas a fin de establecer apropiadas acciones de manejo (Ravera, 2001). Tradicionalmente, oligoquetos y moluscos han sido utilizados como biomonitores del bentos debido a su capacidad de acumular metales pesados y de desempeñar un papel significativo en los estudios de seguimiento de transferencia trófica (Saha *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2005). En la región del litoral fluvial argentino, los estudios de transferencia trófica y de bioacumulación de cromo se realizaron principalmente con microcrustáceos del suborden Cladocera (Gutiérrez *et al.*, 2008; Regaldo *et al.*, 2009) y de la subclase Copepoda (Gagneten *et al.*, 2009). Elumalai *et al.* (2005) afirman que debido a sus características bioecológicas los macrocrustáceos son organismos adecuados para ser utilizados en estudios ecotoxicológicos. De hecho, estudios previos muestran que los cangrejos acumulan metales pesados en distintas estructuras corporales (Gagneten *et al.*, 2008; Ayejuyo *et al.*, 2009; Gagneten & Imhof, 2009). Ciertas especies pueden incluso, indicar la presencia de una sustancia tóxica cuando ésta ya no puede ser detectada en el ambiente, como ocurre por ejemplo con la incorporación pulsátil de efluentes industriales (Rosenberg & Resh, 1993).

Algunos estudios han registrado altas concentraciones de Cr, Cu y Pb en los sedimentos de la cuenca del Río Salado inferior y en los bañados de escasa profundidad que se generan posteriormente a los pulsos de inundación (Marchese *et al.*, 2008; Parma *et al.*, 2008). Los valores del índice de geoacumulación (*Igeo*) (Müller, 1981) publicados por Gagneten *et al.* (2007) para las concentraciones de Cr y Pb en agua y sedimentos indicaron que estos ambientes podrían ser considerados como 'altamente contaminados' en relación al Cr y 'seriamente contaminados' en relación al Pb. En tanto que, los valores de *Igeo* indicados para la concentración de Cu también fueron elevados. La capacidad de bioacumulación de los organismos de cada uno de estos metales por separado es relevante (Gagneten & Imhof, 2009; Gagneten *et al.*, 2011). Sin embargo, en sus ambientes naturales, los cangrejos como ejemplo de macrocrustáceos, suelen estar expuestos a mezclas complejas de los mismos (Gagneten *et al.*, 2007).

*Zilchipsis oronensis* es una especie autóctona cuyo registro de distribución ha sido

recientemente ampliado por Collins *et al.* (2002). Su comportamiento territorial y hábito de cavar cuevas y galerías en las barrancas de los lugares donde habita, permite suponer su relevancia como biomonitor, ya que pasa un tiempo de residencia variable en el interior de las mismas durante el cual puede estar expuesto a metales pesados presentes en agua y sedimento.

Por su compleja naturaleza, los sedimentos pueden absorber y adsorber sustancias tóxicas a concentraciones muchas veces más elevadas que aquellas registradas en el agua (Martín-Díaz *et al.*, 2008). De este modo, los niveles acumulados en los cangrejos podrían ser más representativos de las concentraciones del ambiente, en comparación a aquellas especies con una alta movilidad, como por ejemplo los peces (Gagneten & Imhof, 2009).

Otra característica de *Z. oronensis* es el comportamiento migratorio que desarrolla durante los períodos de bajante de los niveles hidrométricos, exponiéndose a depredadores que habitan en los ecosistemas circundantes (Williner *et al.*, 2009; Williner *et al.*, 2010). De este modo interviene en las redes alimenticias acuáticas y terrestres (Collins *et al.*, 2006) al vincular ambos ecosistemas mediante la transferencia trófica de metales pesados.

Para determinar la posible relevancia de *Z. oronensis* como biomonitor de Cr–Cu–Pb se planteó investigar el potencial de acumulación de dichos metales en ejemplares expuestos a diferentes concentraciones, en condiciones experimentales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### DISEÑO DEL EXPERIMENTO

Los bioensayos se llevaron a cabo con 16 ejemplares de *Z. oronensis* (10 hembras y 6 machos con peso vivo promedio de  $71,6 \pm 21,1$  g; largo promedio del cefalotórax de  $46,6 \pm 5,2$  cm y ancho promedio del cefalotórax de  $50,4 \pm 5,3$  cm) obtenidos de ambientes acuáticos de la llanura de inundación del río Paraná (Costanera Este de Santa Fe) y del río Coronda (Club Franck, Sauce Viejo, Santa Fe):  $31^{\circ}38'04,45''\text{S}$  y  $60^{\circ}40'30,91''\text{O}$ ;  $31^{\circ}49'39,23''\text{S}$  y  $60^{\circ}51'39,47''\text{O}$ , respectivamente. Todos los cangrejos se encontraban en el estadio de intermuda y contaban con la totalidad de sus apéndices característicos. Se trasladaron al laboratorio para su aclimación a  $20 \pm 1$  °C y se colocaron en bateas plásticas durante 24 horas con agua y vegetación extraídos del mismo ambiente. Posteriormente se reemplazó este medio por otro con agua de red sin vegetación durante dos semanas, disponiendo un tubo de PVC de 5 cm de diámetro y 10 cm de largo por cangrejo para que sea usado como refugio y disminuir su comportamiento agresivo. Se les suministró alimento balanceado a base de proteína animal.

Los metales Cr, Cu y Pb se aplicaron como dicromato de potasio ( $\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$ ), sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) y nitrato de plomo ( $\text{NO}_3\text{Pb}$ ), respectivamente. Las concentraciones de los mis-

mos fueron seleccionadas luego de efectuar ensayos preliminares y según las utilizadas en otros trabajos (Gagneten & Imhof, 2009; Pastor *et al.*, 1988; Gagneten *et al.*, 2011). Previa administración de los tratamientos, se realizaron análisis de base (prueba de Kruskal–Wallis) para constatar que los grupos no eran heterogéneos en cuanto a sexo y morfometría.

Antes del inicio de la experiencia, los individuos fueron sexados visualmente examinando la morfología del abdomen, pesados con balanza electrónica Boeco (precisión 0,01 g) y medidos (largo y ancho del cefalotórax según Magalhães & Türkay, 1996) con calibre digital Stronger (precisión 0,01 mm). Los tratamientos consistieron en colocar cada cangrejo aleatoriamente durante 15 días en un recipiente plástico de 7,5 cm de alto, 16 cm de largo y 9,5 cm de ancho con 250 ml de la solución de prueba y 0,2 gr de alimento. Los tratamientos utilizados fueron: **T0** (control): 0 mg l<sup>-1</sup> Cr + 0 mg l<sup>-1</sup> Cu + 0 mg l<sup>-1</sup> Pb; **T1**: 2,5 mg l<sup>-1</sup> Cr + 2,5 mg l<sup>-1</sup> Cu + 20 mg l<sup>-1</sup> Pb; **T2**: 5 mg l<sup>-1</sup> Cr + 5 mg l<sup>-1</sup> Cu + 40 mg l<sup>-1</sup> Pb; y **T3**: 10 mg l<sup>-1</sup> Cr + 10 mg l<sup>-1</sup> Cu + 80 mg l<sup>-1</sup> Pb. Cada tratamiento contó con cuatro réplicas en las que el medio de ensayo junto al alimento se renovaron cada 2 días.

Luego de los 15 días de exposición, los cangrejos fueron crioplanados y se procedió a la disección de caparazón, branquias, músculo de la quela y sistema digestivo (esófago, estómago, hepatopáncreas e intestino) utilizando instrumental plástico descartable. Las muestras fueron dispuestas sin previo enjuague, en cajas de petri plásticas para ser secadas en estufa a 60 °C durante 2 días. A continuación se pesaron y rotularon para su posterior digestión siguiendo a USEPA (1991) a través del método 200.3 que indica el procedimiento de preparación de muestras para la determinación espectroquímica del total de los metales recuperables en tejidos biológicos. Este método consiste en la digestión ácida del tejido, el cual se calienta en plancha calefactora hasta lograr la disolución, concentración y disminución del volumen. Finalmente se deja enfriar la muestra, se filtra, se diluye y se dispone para el análisis con espectrofotómetro de absorción atómica (marca Perkin–Elmer Analyst 800; límite de cuantificación = 3 µg l<sup>-1</sup>; límite de detección = 1 µg l<sup>-1</sup> para los cationes estudiados).

### ANÁLISIS DE LOS DATOS

Las variables dependientes fueron los niveles de metal bioacumulado en las estructuras corporales por separado y en conjunto ([caparazón] + [branquias] + [músculo de la quela] + [sistema digestivo]).

Inicialmente se realizó un análisis exploratorio para comprobar la distribución normal de las variables dependientes. En todos los casos se requirió la transformación de las mismas a través de la aplicación de un factor exponencial. Para el Cr debieron utilizarse dos factores exponenciales: los niveles bioacumulados en el caparazón se elevaron a 0,01 y los de las restantes estructuras a 0,5. Para el Cu se elevaron a 0,4 y para el Pb a 0,2.

Las variables independientes fueron: cada tratamiento (analizado como una variable continua), el sexo y los parámetros morfométricos (peso, largo y ancho del caparazón).

Los niveles de metales bioacumulados en los organismos y algunas características de éstos que pudieran hacerlos más susceptibles a la acumulación se analizaron a través de modelos lineales multivariantes, en donde se incluyeron las variables independientes y todos los pares de interacciones posibles. Se comenzó con este modelo máximo para cada metal y se realizó una reducción del número de términos del mismo, eliminando uno a uno aquellos menos importantes para explicar la variabilidad en la variable dependiente según el criterio de información de Akaike (AIC, un término no era retenido en el modelo si su inclusión no reducía el valor de AIC en dos o más unidades) (Akaike, 1974; Antoniazzi *et al.*, 2011).

Para analizar las principales estructuras corporales en las que se acumularon los metales, la construcción de los modelos fue similar a los anteriores, pero se utilizaron modelos mixtos lineales con "individuo" como factor al azar. En este caso la variable independiente de interés fue el tipo de estructura corporal.

Al finalizar los análisis se comprobó la distribución normal de los residuos utilizando la prueba de Shapiro-Wilk (Shapiro y Wilk, 1965).

## RESULTADOS

### BIOACUMULACIÓN EN RELACIÓN A LAS CONCENTRACIONES DE EXPOSICIÓN

La bioacumulación de Cr se relacionó positivamente con la concentración utilizada para cada tratamiento sólo en branquias y músculo de la quela (Tabla 1). Lo mismo se observó para el Pb, pero en todas las estructuras. Contrariamente, los niveles de Cu no estuvieron asociados con las concentraciones ensayadas (Tabla 2).

### BIOACUMULACIÓN EN LAS ESTRUCTURAS CORPORALES DE *Z. oronensis*

La bioacumulación de Cr fue similar en músculo de la quela, branquias y sistema digestivo, pero en todas estas estructuras fue mayor que en caparazón. Para el Cu, la bioacumulación fue mayor en branquias y músculo de la quela, seguidos por el sistema digestivo, mientras que en caparazón fue menor que en el resto. Para el Pb, la mayor bioacumulación se registró en branquias, seguidas por caparazón y sistema digestivo, mientras que músculo de la quela mostró los menores niveles (Tabla 3).

BIOACUMULACIÓN RESPECTO DEL SEXO  
Y A PARÁMETROS MORFOMÉTRICOS

La bioacumulación de Cu en sistema digestivo fue mayor en hembras que en machos (Tabla 4), en tanto que la bioacumulación de Cr en músculo de la quela fue mayor en hembras de bajo peso (Tabla 1). Para el Pb, la bioacumulación en caparazón y músculo de la quela fue mayor en hembras que en machos (Tabla 2); sin embargo, la bioacumulación en todas las estructuras fueron mayores para los machos cuanto más elevadas fueron las concentraciones a las que estuvieron expuestos (Figura 1 y Tabla 2).

La bioacumulación de Pb mostró por un lado una asociación negativa con el peso y por otro, una bioacumulación creciente cuanto más largo era el caparazón (Tabla 2).

Cr en branquias				
Modelo = Cr branquias <sup>0.5</sup> ~ Concentración Cr en el medio				
N = 16				
Término	Coefficiente	Error est.	p	ΔAIC <sup>+</sup>
Constante	0,194	0,053	0,002	–
Cr en el medio	0,030	0,001	0,005	7,2
Cr en músculo de la quela				
Modelo = Cr músculo de la quela <sup>0.5</sup> ~ Concentración Cr en el medio + Sexo + Peso + Concentración Cr*Peso + Sexo				
N = 16				
Constante	–0,083	0,222	0,714	–
Cr en el medio	0,139	0,034	0,002	–
Sexo (macho)	0,193	0,098	0,078	–
Peso	0,004	0,003	0,192	–
Cr* Peso	–0,001	0,0004	0,005	11,2
Cr* Sexo	–0,056	0,017	0,010	9,2

<sup>+</sup> Incremento en el valor de AIC si el término es eliminado.

**Tabla 1.** Modelos lineales multivariados entre bioacumulación de Cr y variables independientes. Modelos finales sin términos no significativos y sin modelos donde ningún término resultó significativo.

<b>Sumatoria de Pb</b>				
Modelo = Pb total <sup>0.2</sup> ~ Concentración Pb en el medio + Sexo + Peso + Concentración Pb* Sexo				
N = 16				
<b>Término</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>Error est.</b>	<b>p</b>	<b>ΔAIC<sup>+</sup></b>
Constante	0,767	0,114	<0,001	–
Pb en el medio	0,008	0,001	<0,001	–
Sexo (macho)	0,110	0,085	0,219	–
Peso	–0,002	0,001	0,070	3,0
Pb* Sexo	0,004	0,002	0,073	2,8
<b>Pb en caparazón</b>				
Modelo = Pb caparazón <sup>0.2</sup> ~ Concentración Pb + Sexo + Peso				
N = 16				
Constante	0,580	0,073	<0,001	–
Pb en el medio	0,005	0,006	<0,001	28,6
Sexo (macho)	–0,073	0,038	0,076	2,4
Peso	–0,002	0,001	0,022	5,3
<b>Pb en branquias</b>				
Modelo = Pb branquias <sup>0.2</sup> ~ Concentración Pb				
N = 16				
Constante	0,551	0,431	<0,001	–
Pb en el medio	0,007	0,001	<0,001	23,3
<b>Pb en músculo de la quela</b>				
Modelo = Pb músculo de la quela <sup>0.2</sup> ~ Concentración Pb + Sexo + Peso				
N = 16				
Constante	0,534	0,095	<0,001	–
Pb en el medio	0,003	0,001	0,002	11,6
Sexo (macho)	–0,111	0,049	0,043	3,7
Peso	–0,002	0,001	0,042	3,8
<b>Pb en sistema digestivo</b>				
Modelo = Pb sistema digestivo <sup>0.2</sup> ~ Concentración Pb + Peso + Largo				
N = 16				
Constante	–0,168	0,403	0,684	–
Pb en el medio	0,003	0,001	0,007	8,0
Peso	–0,012	0,003	0,002	10,9
Largo	0,032	0,013	0,030	4,5

<sup>+</sup> Incremento en el valor de AIC si el término es eliminado.

**Tabla 2.** Modelos lineales multivariados entre bioacumulación de Pb y variables independientes. Modelos finales sin términos no significativos y sin modelos donde ningún término resultó significativo.

<b>Cr (µg/g)</b>				
	<b>Músculo quela</b>	<b>Branquias</b>	<b>Sistema digestivo</b>	<b>Caparazón</b>
Control	0,116 ± 0,080	0,002 ± 0,001	0,050 ± 0,094	0,113 ± 0,225
2,5 mg l <sup>-1</sup> Cr	0,105 ± 0,018	0,185 ± 0,046	0,095 ± 0,031	0,014 ± 0,001
5 mg l <sup>-1</sup> Cr	0,084 ± 0,041	0,167 ± 0,042	0,087 ± 0,054	0,053 ± 0,068
10 mg l <sup>-1</sup> Cr	0,271 ± 0,433	0,190 ± 0,068	0,067 ± 0,031	0,016 ± 0,008
Promedio ± 1 D.S.	0,144 <sup>a</sup> ± 0,086	0,136 <sup>a</sup> ± 0,090	0,075 <sup>a</sup> ± 0,020	0,049 <sup>b</sup> ± 0,047
<b>Cu (µg/g)</b>				
	<b>Branquias</b>	<b>Músculo quela</b>	<b>Sistema digestivo</b>	<b>Caparazón</b>
Control	0,208 ± 0,139	0,163 ± 0,128	0,145 ± 0,108	0,011 ± 0,007
2,5 mg l <sup>-1</sup> Cu	0,259 ± 0,130	0,326 ± 0,193	0,026 ± 0,014	0,032 ± 0,036
5 mg l <sup>-1</sup> Cu	0,209 ± 0,092	0,184 ± 0,170	0,099 ± 0,126	0,038 ± 0,036
10 mg l <sup>-1</sup> Cu	0,291 ± 0,136	0,099 ± 0,155	0,133 ± 0,059	0,076 ± 0,109
Promedio ± 1 D.S.	0,241 <sup>a</sup> ± 0,041	0,193 <sup>ab</sup> ± 0,096	0,101 <sup>b</sup> ± 0,054	0,039 <sup>c</sup> ± 0,027
<b>Pb (µg/g)</b>				
	<b>Branquias</b>	<b>Caparazón</b>	<b>Sistema digestivo</b>	<b>Músculo quela</b>
Control	0,073 ± 0,088	0,003 ± 0,001	0,078 ± 0,153	0,002 ± 0,002
20 mg l <sup>-1</sup> Pb	0,252 ± 0,183	0,053 ± 0,012	0,028 ± 0,018	0,009 ± 0,003
40 mg l <sup>-1</sup> Pb	0,399 ± 0,194	0,115 ± 0,291	0,108 ± 0,111	0,051 ± 0,039
80 mg l <sup>-1</sup> Pb	1,623 ± 0,465	0,287 ± 0,127	0,236 ± 0,312	0,069 ± 0,073
Promedio ± 1 D.S.	0,587 <sup>a</sup> ± 0,704	0,115 <sup>b</sup> ± 0,124	0,112 <sup>b</sup> ± 0,089	0,033 <sup>c</sup> ± 0,032

+ Incremento en el valor de AIC si el término es eliminado.

**Tabla 3.** Bioacumulación promedio de Cr, Cu y Pb en *Z. oronensis* con sus respectivos desvíos estándar, para cada tratamiento y según un orden decreciente. **a, b, c** Las estructuras con las mismas letras no mostraron concentraciones de metales significativamente diferentes entre sí según el modelo lineal mixto utilizado.

Cu en sistema digestivo				
Modelo = Cu sistema digestivo <sup>0,4</sup> ~ Concentración Cu en el medio + Sexo + Peso + Ancho				
N = 16				
Término	Coefficiente	Error est.	p	ΔAIC <sup>+</sup>
Constante	1,732	0,871	0,072	–
Cu en el medio	0,003	0,009	0,710	–
Sexo (macho)	–0,224	0,097	0,042	–
Peso	0,008	0,006	0,169	
Ancho	–0,037	0,024	0,148	

<sup>+</sup> Incremento en el valor de AIC si el término es eliminado.

Tabla 4. Bioacumulación de Cu en el sistema digestivo.

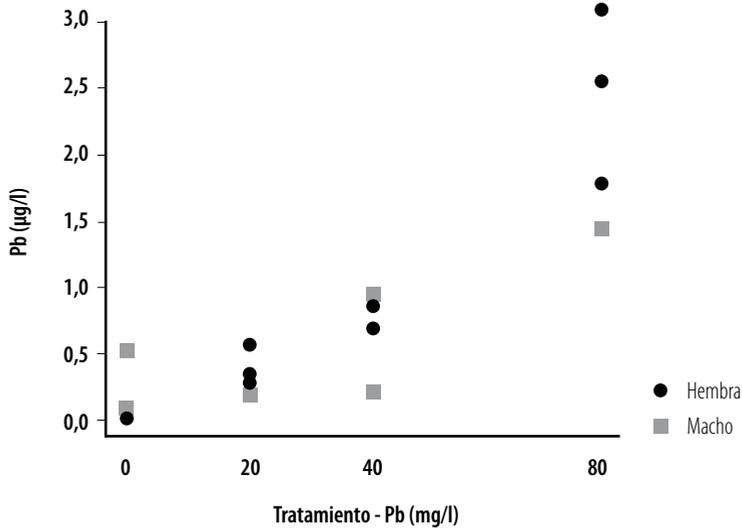


Figura 1. Bioacumulación de Pb en hembras y machos de *Z. oronensis*.

## DISCUSIÓN

La bioacumulación de Pb mostró una relación positiva consistente con las concentraciones de exposición. De modo similar, Gomot de Vaufleury & Pihan (1997) también observaron dicho patrón en bioensayos con crustáceos y resaltaron su utilidad para monitorear los efectos de la acumulación de Pb. El Cr mostró bioacumulación dependiente de la exposición sólo en branquias y músculo de la quela. De igual modo, Gagneten *et al.* (2008) también encontraron que a medida que aumentaba la concentración de Cr en el medio de ensayo, eran mayores los niveles bioacumulados en branquias y huevos del cangrejo *Z. collastinensis* (Decapoda, Trichodactylidae), cuya distribución es en parte coincidente con la de la especie aquí estudiada (Collins *et al.*, 2002). Por su parte, Urrutia *et al.* (2008) hallaron para el cangrejo marino *Petrolisthes laevigatus* (Decapoda, Porcellanidae) que cuando aumentaba la concentración de Cr en el medio, era mayor la bioacumulación y la letalidad. Sin embargo, en este estudio no fue hallada relación alguna para el Cu. Cabe destacar que el rango de concentraciones de Cr y Cu aplicado fue mucho menor que el de Pb, ya que concentraciones mayores hubieran producido efectos letales en *Z. oronensis*, impidiendo analizar la eventual bioacumulación. Esto pudo haber influido en los resultados obtenidos y explicar la falta de consistencia entre la bioacumulación de Cr y su concentración en el medio de ensayo, así como la ausencia de asociación para el Cu.

En general, las branquias resultaron las estructuras corporales más susceptibles a la acumulación, aunque para el caso del Cr y el Cu, también se acumularon niveles similarmente altos en músculo de la quela. Por su parte, Gagneten *et al.* (2008) registraron que *Z. collastinensis* acumuló significativamente más Cr en branquias que en huevos y sugirieron que la incorporación se producía principalmente a partir del agua a través de las branquias. Sin embargo, Schuwerack *et al.* (2001) afirmaron que el papel de las branquias de los invertebrados en la captura de metales, su transporte y acumulación es muy controversial y propusieron la utilización de métodos sensibles para dicho estudio, como análisis histopatológicos, entre otros. Estos últimos autores mostraron que ejemplares del cangrejo dulceacuícola *Potamonautes warreni* expuestos a distintas concentraciones de Cd, lo adsorbían en mayor medida en el exterior de la cutícula del epitelio branquial o lo almacenaban como gránulos en los canales branquiales. De modo similar, Hebel *et al.* (1999) hallaron que el cangrejo marino *Carcinus maenas* expuesto a Cu mostraba las primeras señales de daño en el epitelio de las branquias respiratorias y se formaban gránulos en el canal branquial. Lo anteriormente expuesto aportaría evidencia a la hipótesis que los metales podrían quedar sobre la superficie epitelial de las branquias y no penetrar en las mismas. Sin embargo, en el estudio de bioacumulación aquí presentado no se realizó un análisis sectorizado sino la digestión ácida de todo el tejido branquial.

Por otra parte, el sistema digestivo se ubicó en tercer lugar según un orden decreciente de bioacumulación. Este resultado pudo deberse a que para el análisis

de bioacumulación se utilizaron todos los órganos que integran el sistema digestivo, inclusive los sectores cuyas paredes están queratinizadas (Vogt, 1996) y que presentan menor afinidad con los metales, en lugar de usar solamente el hepatopáncreas que es junto con las branquias, el sitio en donde se da la mayor bioacumulación debido a su elevado metabolismo y la presencia de metalotioneínas (Al Mohanna & Subrahmanyam, 2001; Dias Correa *et al.*, 2005; Ip *et al.*, 2005).

En cuanto al caparazón, fue la estructura que menos Cr y Cu acumuló, sin embargo se ubicó en segundo lugar según un orden decreciente de acumulación de Pb. En este sentido, Gagneten *et al.* (2008) comunicaron que en *Z. collastinensis* la acumulación de Cr significativamente mayor en branquias con respecto a huevos, se debió a que la localización interna de estos últimos determinaba un contacto muy limitado con el medio, siendo el caparazón la barrera más importante. El acceso del metal a los órganos internos de los ejemplares parecía estar principalmente determinado por la hemolinfa, debido a la baja permeabilidad del caparazón. De acuerdo a lo expresado por Dias Correa *et al.* (2005) la impermeabilidad del exoesqueleto de los decápodos puede representar una preadaptación para la regulación de metales.

Con respecto al sexo, no se registraron diferencias entre los niveles de Cr bioacumulados en hembras y machos de *Z. oronensis*. Estudios previos realizados por Gagneten *et al.* (2008) tampoco las hallaron al analizar branquias de *Z. collastinensis* expuesto a Cr. Asimismo, Al Mohanna & Subrahmanyam (2001) comunicaron que la bioacumulación de Cr en hepatopáncreas, branquias, gónadas, jugos gástricos y músculo ocurría independientemente del sexo del cangrejo marino *Portunus pelagicus* (L.). Por su parte, Schuwerack *et al.* (2001) no encontraron diferencias en la bioacumulación de Cd en branquias y glándula digestiva entre ambos sexos del cangrejo dulceacuícola *Potamonautes warreni*. Sin embargo, en este estudio, Cu y Pb sí sugirieron una dependencia del sexo para su bioacumulación, mostrando mayores niveles de Cu (en sistema digestivo) y de Pb (en músculo de la quela y caparazón) las hembras que los machos. En esta línea, Ayejuyo *et al.* (2009) hallaron en tejido muscular del cangrejo dulceacuícola *Callinectes amnicola* que los machos acumularon niveles de Pb por debajo de los límites de detección, mientras que en las hembras éstos fueron consistentemente mayores llegando a superar incluso los niveles permitidos en los alimentos por la Organización Mundial de la Salud. Sin embargo, al analizar en nuestro estudio la bioacumulación en todas las estructuras corporales en conjunto, se encontró que en los machos la acumulación de Pb se relacionó con los niveles de exposición. Esto nos permite proponer la realización de futuras investigaciones para determinar la susceptibilidad diferencial de bioacumulación entre hembras y machos, en la que posiblemente estén involucrados factores hormonales, metabólicos y/o comportamentales, entre otros.

Con respecto a los parámetros morfométricos analizados, no se encontró relación con los niveles de Cr y Cu bioacumulados. Sin embargo, sí fueron hallados para el Pb, acumulando mayores niveles los ejemplares de menor peso. Resultados similares a estos últimos fueron comunicados por Bjerregaard & Depledge (2002) en machos de *Carcinus maenas* en los que la cantidad de Cu, Zn y Mn acumulado decreció con el incremento del tamaño corporal de los cangrejos. Además, y coincidentemente a estos últimos resultados, el cangrejo dulceacuícola *Potamonautes perlatus* presentó en ejemplares de menor tamaño acumulación mayor de Pb y Cd (Reinecke *et al.*, 2003). Estos autores indicaron que las tasas metabólicas y de crecimiento más altas de los animales más jóvenes y de menor tamaño pudieron haber influenciado la bioconcentración positiva. Por otro lado, en este estudio se registró un incremento en la cantidad de Pb en sistema digestivo cuanto más largo fue el caparazón, lo que posiblemente haya estado en relación con la mayor extensión y consecuentemente mayor absorción del sistema digestivo.

## CONCLUSIONES

Los principales patrones que surgen del presente estudio son: i) la bioacumulación de Cr (en branquias y músculo de la quela) y la de Pb (en todas las estructuras corporales) fueron dependientes de las concentraciones de exposición. ii) Las branquias fueron las estructuras más susceptibles a la acumulación. iii) Las hembras bioacumularon cantidades de Cu (en sistema digestivo) y de Pb (en músculo de la quela y caparazón) mayores a las de los machos; sin embargo, al tener en cuenta todas las estructuras corporales, a altas concentraciones de exposición los machos tendieron a acumular más que las hembras. iv) Los ejemplares de menor peso como así también los de mayor largo de caparazón acumularon más Pb.

Los resultados de este estudio tienen aplicación en la evaluación de ecosistemas dulceacuícolas impactados, ya que al monitorear organismos acumuladores, la sustancia tóxica es cuantificada en las distintas estructuras corporales y pueden identificarse aquellas que son más susceptibles. De los resultados aquí expuestos, se desprende que el examen de ciertas estructuras corporales de *Z. oronensis* representa un potencial método de monitoreo de los humedales del litoral fluvial argentino impactados por metales pesados, aplicable también a otros ambientes que reciben efluentes provenientes de industrias varias, tales como curtiembres, talleres mecánicos y pinturerías, entre muchos otros, con importante carga de metales. Por otra parte, también se alerta sobre la transferencia trófica al sistema terrestre, mediada por los depredadores de cangrejos, así como un potencial impacto sobre la salud pública, ya que en Argentina muchas especies de cangrejos son consumidas por pobladores locales.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Litoral por financiar el Proyecto CAI+D 2009 "Respuestas fisiológicas y ecológicas de crustáceos a la contaminación por metales pesados en el río Paraná Medio". A la Asociación Biológica de Santa Fe por el incentivo otorgado. A Patricio Alvarenga por su colaboración en los muestreos y bioensayos. A Pablo M. Beldomenico por su colaboración en el análisis e interpretación de los datos y en la revisión del manuscrito.

**Recibido | Received:** 04 de Marzo de 2011

**Aceptado | Accepted:** 28 de Junio de 2011

## REFERENCIAS

- Akaike, H.** 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automat. Contr.* 19: 716–723.
- Al Mohanna, S.Y. & M.N.V. Subrahmanyam.** 2001. Flux of heavy metal accumulation in various organs of intertidal marine blue crab, *Portunus pelagicus* (L.) from the Kuwait coast after the Gulf War. *Environ. Int.* 27: 321–326.
- Amini Ranjbar, G.** 1998. Heavy metal concentration in superficial sediments from Anzali Wetland, Iran. *Water. Air. Soil Pollut.* 104: 305–312.
- Antoniazzi, L.R., D.E. Manzoli, D. Rohrmann, M.J. Saravia & P.M. Beldomenico.** 2011. Climate variability affects the impact of parasitic flies on Argentinean forest birds. *J. Zool.* 283: 26–134.
- Ayejuyo, O., O. Tovide & B. Moronkola.** 2009. Heavy metal distribution in crab (*Callinectes amnicola*) living on the shores of Ojo Rivers, Lagos, Nigeria. *Environmentalist* 29: 33–36.
- Bjerregaard, P. & M.H. Depledge.** 2002. Trace metal concentrations and contents in the tissues of the shore crab *Carcinus maenas*: effects of size and tissue hydration. *Mar. Biol.* 141: 741–752.
- Bryan, G.W. & W.J. Langston.** 1992. Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environ. Pollut.* 76: 89–131.
- Collins, P., V. Williner & F. Giri.** 2002. A new distribution record for *Zilchiopsis oronensis* (Pretzmann, 1968) (Decapoda, Trichodactylidae) in Argentina. *Crustaceana* 75: 931–934.
- Collins, P., V. Williner & F. Giri.** 2006. Trophic relationships in crustacean decapods of a river with a floodplain (59–86). En A.M.T. Elewa (ed.), *Predation in Organisms: A Distinct Phenomenon*. Springer-Verlag. New York. 326 pp.
- Dias Correa, J., M. Ramos da Silva, A. Bastos da Silva, S. Araujo de Lima, O. Malm & S. Alodi.** 2005.

- Tissue distribution, subcellular localization and endocrine disruption patterns induced by Cr and Mn in the crab, *Ucides cordatus*. *Aquat. Toxicol.* 73: 139–154.
- Elumalai, M., C. Antunes & L. Guilhermino.** 2005. Alterations of reproductive parameters in the crab *Carcinus maenas* after exposure to metals. *Water, Air, Soil Pollut.* 160: 245–258.
- Gagneten, A.M., A. Imhof & S. Gervasio.** 2008. Accumulation and elimination of Cr in gills and eggs of *Zilchiopsis collastinensis* (Crustacea, Decapoda) after experimental exposure. *Fres. Environ. Bull.* 17: 182–187.
- Gagneten, A.M., S. Gervasio & J.C. Paggi.** 2007. Heavy Metal Pollution and Eutrophication in the Lower Salado River Basin (Argentina). *Water, Air, Soil Pollut.* 178: 335–349.
- Gagneten, A.M. & A. Imhof.** 2009. Chromium (Cr) accumulation in the freshwater crab, *Zilchiopsis collastinensis*. *J. Environ. Biol.* 30: 345–348.
- Gagneten, A.M., R.R. Plá, L. Regaldo & J.C. Paggi.** 2009. Assessment of Bioconcentration Factor of Chromium by Instrumental Neutron Activation Analysis in *Argyrodiaptomus falcifer* Daday, a subtropical freshwater copepod. *Water, Air, Soil Pollut.* 204: 133–138.
- Gagneten, A.M., G. Tumini, A. Imhof & S. Gervasio.** 2011. Comparative study of lead accumulation in different organs of the freshwater crab *Zilchiopsis oronensis*. *Water Air Soil Pollut.*
- Gomot de Vaufleury, A. & F. Pihan.** 1997. Comparison of the bioaccumulation capacities of copper and zinc in two snail subspecies (*Helix*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 38: 85–94.
- Gutiérrez, M.F., A.M. Gagneten & M.J. Parma.** 2008. Bioconcentration and trophic transfer of chromium in the *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera) – *Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces, Poeciliidae) system. *Fres. Environ. Bull.* 17: 647–651.
- Hebel, D.K., M.B. Jones, R.M. Moate & M.H. Depledge.** 1999. Differing sensitivities of respiratory and osmoregulatory gill tissue of *Carcinus maenas* Crustacea: Decapoda) to water-borne copper. *Mar. Biol.* 133: 675–681.
- Ip, C.C.M., X.D. Li, G. Zhang, C.S.C. Wong & W.L. Zhang.** 2005. Heavy metal and Pb isotopic composition of aquatic organism in the Pearl river estuary, south China. *Environ. Pollut.* 138: 494–504.
- Magalhães, C. & M. Türkay.** 1996. Taxonomy of the Neotropical freshwater crab family Trychodactylidae. II The genera *Fosteria*, *Melocarcinus*, *Sylviocarcinus*, and *Zilchiopsis*. (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *Senck. Biol.* 75: 97–130.
- Marchese, M., A.M. Gagneten, M.J. Parma & P.J. Pave.** 2008. Accumulation and elimination of chromium by freshwater species exposed to spiked sediments. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 55: 603–609.
- Marcovecchio, J.E., S.E. Botté & R.H. Freije.** 2007. Heavy Metals, Major Metals, Trace Elements (278–312). En L.M.N. Nollet (ed.), Handbook of Water Analysis. Taylor and Francis Group LCC. Florida (EE.UU.). 920 pp.
- Martín-Díaz, M.L., N. Jiménez-Tenorio, D. Sales & T.A. Del Valls.** 2008. Accumulation and histopathological damage in the clam *Ruditapes philippinarum* and the crab *Carcinus maenas* to assess sediment toxicity in Spanish ports. *Chemosphere* 71: 1916–1927.
- Müller, G.** 1981. Die Schwermetallbelastung der Sedimente des Neckars und seiner Nebenflüsse: Cine Bestandsaufnahme. *Chemiker-Zeitung* 105: 157–164.
- Parma, M.J., M. Campana & A. Loteste.** 2008. Uptake and elimination of chromium in *Cnesterodon decemmaculatus*; Pisces: Poeciliidae, after a sub-chronic experimental exposure. *Fres. Environ. Bull.* 17: 293–297.
- Pastor, A., J. Medina, J. Del Ramo, A. Torreblanca, J. Díaz-Mayans & F. Hernandez.** 1988. Determination of lead in treated crayfish *Procambarus clarkii*: Accumulation in different tissues. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 41: 412–418.

- Rainbow, P.S.** 1985. The biology of heavy metals in the sea. *Int. J. Environ. Stud.* 25: 195–211.
- Ravera, O.** 2001. Monitoring of the aquatic environment by species accumulator of pollutants: a review. *J. Limnol.* 60: 63–78.
- Regaldo, L., A.M. Gagneten & H. Troiani.** 2009. Accumulation of Chromium and interaction with other elements in *Chlorella vulgaris* (Cloroficeae) and *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera). *J. Environ. Biol.* 30: 213–216.
- Reinecke, A.J., R.G. Snymanand & J.A.J. Nel.** 2003. Uptake and distribution of lead (Pb) and cadmium (Cd) in the freshwater crab, *Potamonautes perlatus* (Crustacea) in the Eerste River, South Africa. *Water, Air, Soil Pollut.* 145: 395–408.
- Rodríguez, E.M., D.A. Medesani & M. Fingerman.** 2007. Endocrine disruption in crustaceans due to pollutants: a review. *Comp. Biochem. Physiol. Mol. Integr. Physiol.* 146: 661–671.
- Rosenberg, D.M. & V.H. Resh.** 1993. Freshwater bio-monitoring and benthic macroinvertebrates. Chapman y Hall. London. 448 pp.
- Saha, M.S., K. Sharkar & B. Bhattacharya.** 2005. Interspecific variation in heavy metal body concentration in biota of Sunderban mangrove wetland, northeast India. *Environ. Int.* 32: 203–207.
- Schuwertack, P.M.M., J.W. Lewis & P. Jones.** 2001. The Potential Use of the South African River Crab, *Potamonautes warreni*, as a Bioindicator Species for Heavy Metal Contamination. *Ecotoxicology* 10: 159–166.
- Shapiro, S.S. & M.B. Wilk.** 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52: 591–611.
- Urrutia, C., A. Rudolph, M.P. Lermada & R. Ahumada.** 2008. Assessment of EDTA in Chromium (III–VI). Toxicity on Marine Intertidal Crab (*Petrolisthes laevigatus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 80: 526–528.
- USEPA.** 1991. Method 2003: Sample Preparation Procedure Forspectrochemical Determination of Total Recoverable Element in Biological Tissues. Environmental Protection Agency Revision 1.0. EPA–600/4–91–010.
- Vogt, G.** 1996. Morphology and physiology of digestive epithelia in Decapod crustaceans. *Eur. J. Physiol.* 431: 239–240.
- Wang, Y., L. Liang, J. Shi & G. Jiang.** 2005. Study on the contamination of heavy metals and their correlations in molluscs collected from coastal sites along the Chinese Bohai Sea. *Environ. Int.* 31: 1103–1113.
- Williner, V., F. Giri & P. Collins.** 2009. Los crustáceos decápodos dulciacuícolas en Argentina. *FABICIB* 13: 107–125.
- Williner, V., F. Giri & P. Collins.** 2010. Metapopulations of Decapods in the Foodplain of Parana River, South America (179–199). En M.A. Álvarez (ed.), Floodplains: Physical Geography, Ecology and Societal Interactions. Nova Science Publishers Inc. 306 pp.