CARU

Biomagnificación del mercurio en las redes tróficas del Río Uruguay y su implicancia sobre la aptitud para el consumo de especies de interés comercial y deportivo

Informe Final

Diciembre 2018

Dr. Pedro Carriquiriborde

CONICET

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas (CONICET) de Argentina

Índice

Introducción 3
Hipótesis y Objetivos 7
Materiales y Métodos 8
Resultados y Discusión 14
Conclusiones 21
Recomendaciones 22
Referencias 23

Introducción

El mercurio es un elemento natural cuyo número atómico es 80, ubicándose en la tabla periódica de los elementos entre los metales de transición. Su masa atómica es 200,59, considerándoselo dentro de los denominados metales pesados. Posee una elevada densidad (13,53 g/cm^3) y muy bajo punto de fusión (-38,87 °C) que lo hace el único metal que se encuentra en estado líquido a temperatura ambiente. Su baja solubilidad en agua (5,6 x 10^{-7} g/l a 25°C) y relativamente elevada presión de vapor (2,8 x 10^{-3} mmHg a 30°C) hacen que una atmosfera saturada en mercurio a 24 °C pueda contener hasta 18 mg/m^3 del metal en su estado elemental. Estas propiedades fisicoquímicas le confieren al mercurio un comportamiento ambiental muy peculiar (Beckers and Rinklebe, 2017).

Figura 1. Cristal de cinabrio

En la corteza terrestre el mineral más abundante de mercurio es el cinabrio (HgS), Figura 1, pero se conocen más de 90 minerales de éste metal, e incluso puede ser encontrado en estado elemental. En el ambiente pueden encontrarse diferentes especies químicas de mercurio. El mercurio inorgánico puede hallarse en tres estados de oxidación Hg°, Hg(I) y Hg(II). Las dos especies más abundantes son el Hg° y el Hg(II) ya que el Hg(I) suele ser inestable en el ambiente, por lo que dismuta rápidamente a las otras dos especies químicas. Además, existen especies orgánicas de mercurio como el etil, metil, dimetil y fenil-mercurio. El Hg° domina en la atmósfera, el Hg(II) en agua, suelo y sedimentos y las especies orgánicas en la biota. Otra especie de mercurio considerada es el mercurio unido a material particulado (PHg) que es de relevancia en la atmósfera y en los cuerpos de agua (Beckers and Rinklebe, 2017).

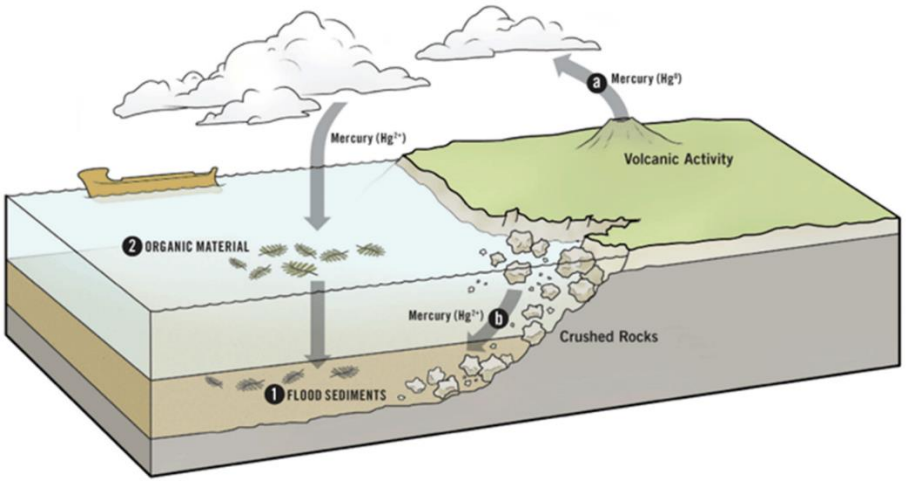

Figura 2. Ciclo biogeoquímico del mercurio

El ciclo biogeoquímico natural del mercurio (Figura 2) involucra fuentes primarias de mercurio al ambiente, que pueden: i) ser puntuales como la de emisión de mercurio a la atmosfera, principalmente como Hg°, por erupciones volcánicas, o ii) ser difusas a partir de la meteorización de las rocas y la disolución de los minerales de mercurio en el medio acuático o la re-suspensión a partir de fuentes geogénicas en el océano, principalmente como Hg(II). El mercurio depositado previamente en el suelo, vegetación o aguas superficiales puede ser reemitido a la atmósfera o re-movilizado a la columna de agua por medio de incendios de bosques y pastizales, a partir de la erosión de los suelos o las emisiones de los océanos. Principalmente en los sedimentos y suelos anegados, el Hg(II) es metilado microbiológicamente en condiciones anóxicas por la actividad de bacterias reductoras de sulfatos (SRB, sigla en inglés), *Desulfovibrio desulfuricans* o *Geobacter sulfurreducens*, y reductoras de hierro (FeRB sigla en inglés) como *Geobacter* sp. El metilmercurio puede ser desmetilado en condiciones aeróbicas por bacterias resistentes a mercurio que poseen enzimas liasas organomercuriales (merB, siglas inglés) y el Hg(II) puede ser reducido a Hg° por otro grupo de bacterias que poseen las enzimas Ion mercurio reductasas (merA, siglas inglés). El metil mercurio es acumulado por la biota y puede ser biomagnificado a través los niveles tróficos pudiendo alcanzar concentraciones elevadas en predadores tope como peces, aves y mamíferos ictiófagos (Beckers and Rinklebe, 2017).

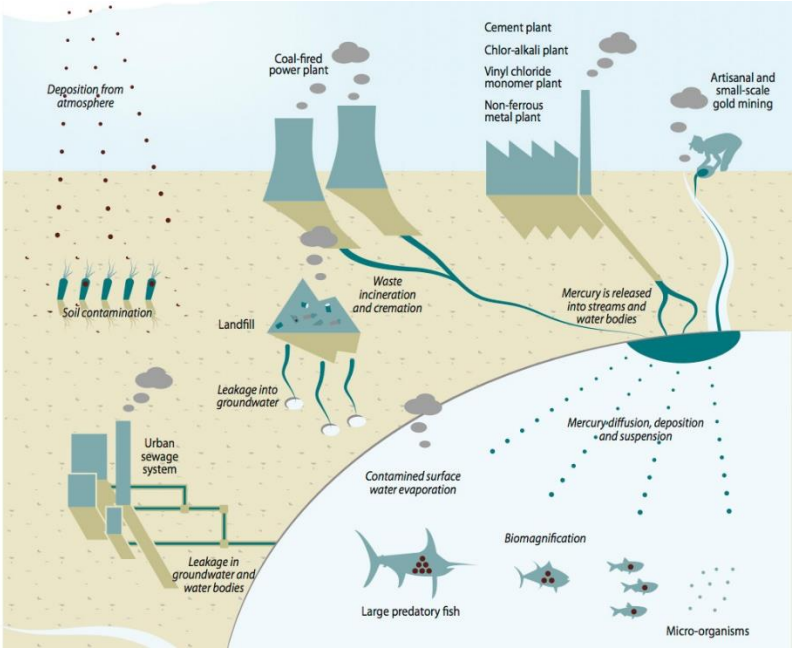

Figura 3. Principales fuentes antrópicas de mercurio (Fuente: UNEP 2013).

Debido a sus propiedades, el mercurio ha sido empleado en muchas actividades humanas desde varios siglos atrás. La obtención del mercurio proviene principalmente (2/3) de la minería del cinabrio, pero también existe su obtención a partir de corderoíta ($[Hg_2C]_3Cl_2S_2$), livingstoníta

($HgSb_4S_8$) y mercurio metálico. Históricamente los principales países productores de mercurio fueron España, Kirguistán y Argelia, para proveer el mercado internacional y China para su propio consumo. Sin embargo, actualmente la minería del mercurio sólo sigue en China, Méjico, Indonesia, Kirguistán y a escala informal en Perú. Desde 1994 la producción de mercurio se ha estabilizado en un valor de aproximadamente 2000 toneladas anuales. Actualmente, se obtiene mercurio también como subproducto de otras actividades como el refinamiento de metales ferrosos y no ferrosos o limpieza del gas natural, como el reciclado de materiales con mercurio y de la recuperación de barros industriales como de la industria de cloro-soda.

Las principales fuentes antrópicas de emisión de mercurio a la atmósfera (Figura 3) son la minería artesanal y de pequeña escala de oro, la combustión de carbón, la producción de metales no ferrosos, la producción de cemento, los productos de consumo, la producción de hierro y acero, la industria de cloro-soda, la refinería de petróleo, la incineración y la cremación (UNEP, 2013). Se estima que los niveles de emisión a la atmósfera se encuentran entre 2000 a 2500 toneladas por año. Por otro lado, las principales fuentes antrópicas de emisión de mercurio al agua (Figura 3) son los efluentes cloacales municipales, el uso de productos que contienen mercurio, las plantas de combustión y el lavado de carbón, la industria de metales no ferrosos, la producción de oro a gran escala, la producción de gas y petróleo, la producción de mercurio y la industria cloro-soda con celda de mercurio. Se estima que estas fuentes contribuyen en total con aproximadamente 600 toneladas de mercurio al año (UNEP, 2018).

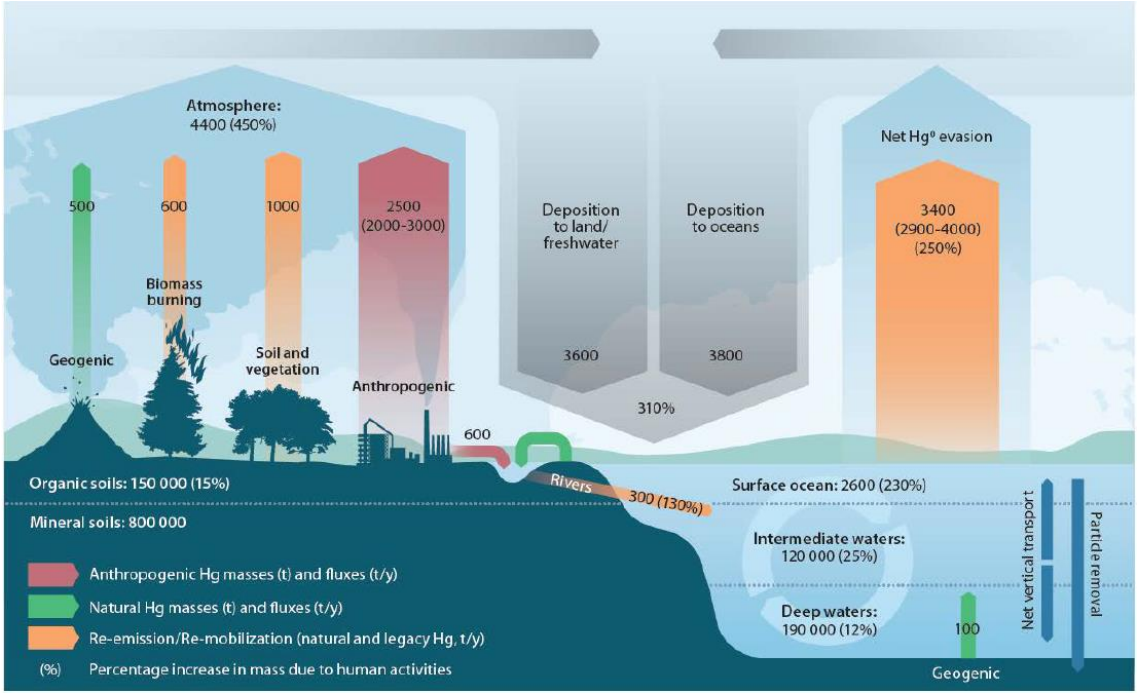

Figura 4. Alteración del ciclo global de mercurio por la actividad antrópica (Fuente: UNEP 2018).

El empleo del mercurio por el hombre ha modificado el ciclo biogeoquímico de éste elemento, incrementado los flujos y los niveles de concentración en los diferentes compartimientos ambientales (Figura 4). En particular, como se ha mencionado previamente, en el compartimiento acuático el mercurio es metilado y luego es biomagnificado a través de los diferentes niveles tróficos alcanzando concentraciones elevadas en especies ictiófagas pudiendo generar efectos adversos sobre los propios organismos o los seres humanos que se alimentan de ellos.

Uno de los ejemplos más icónicos sobre los efectos devastadores que puede causar la contaminación por mercurio ha sido el de la "Enfermedad de Minamata", causada por el consumo de pescado contaminado por mercurio proveniente de los efluentes de una industria de producción de acetaldehído, Chisso, en la Bahía de Minamata en la década del '50. Más de dos mil personas fueron afectadas, muchas de las cuales murieron, por causa de los efectos neurotóxicos y sobre el desarrollo causados por el metilmercurio acumulado en los peces. Ello llevó a que la comunidad internacional tomara conciencia de los riesgos asociados a la contaminación por mercurio. En enero de 2013 se acordó en Ginebra el Convenio de Minamata sobre Mercurio, un tratado mundial para proteger la salud humana y el medio ambiente de los efectos adversos del mercurio, luego adoptado en octubre del mismo año en la conferencia Diplomática de Kumamoto. El mismo entró en vigencia en agosto de 2017 y tanto Uruguay como Argentina and firmado y adherido dicho acuerdo.

La CARU (Comisión Administrativa del Río Uruguay) tiene como parte de sus misiones la de "Conservar y preservar los recursos vivos del Río a fin de asegurar el uso sustentable de los mismos". En 2009 ha iniciado en el marco del Programa de Aprovechamiento y Conservación de la fauna íctica y los recursos pesqueros del río Uruguay la actividad "Relevamiento de Residuos de Contaminantes en Peces del Río Uruguay" relevando las concentraciones de contaminantes orgánicos persistentes (POPs, sigla en inglés), pero no contemplaba el seguimiento de los niveles de mercurio en los peces. En 2014, el mercurio, junto a otros contaminantes de relevancia ambiental, fue incorporado al relevamiento. Los análisis realizados entre los años 2014 a 2016, mostraron que el mercurio era detectado en varias especies de pece, pero principalmente en aquellas ictiófagas como el dorado (*Salminus brasiliensis*) en las cuales se observaron incluso niveles por encima de los recomendados internacionalmente para peces de consumo, sugiriendo un importante proceso de biomagnificación a través de las redes tróficas del Río Uruguay. Además, la concentración en los peces de mayor tamaño mostró mayores valores de concentración mostrando una posible relación entre la talla y la acumulación del metal. Finalmente, los peces recolectados en sitios situados por encima de la represa de Salto Grande, mostraron mayores concentraciones de mercurio que los que se capturan debajo de la presa, indicando posibles variaciones geográficas en los niveles de mercurio.

Hipótesis y Objetivos

De acuerdo a las observaciones obtenidas a partir del Relevamiento de Residuos de Contaminantes en Peces, se plantearon las siguientes hipótesis de trabajo para el presente estudio de detalle dirigido a obtener una mayor comprensión sobre la acumulación del mercurio en los peces del Río Uruguay:

a) En el ecosistema acuático del Río Uruguay existe un proceso de biomagnificación del mercurio a través de los niveles tróficos, promovido por la metilación del metal, que provoca que los peces ictiófagos ubicados en el tope de la cadena trófica, como el Dorado, alcancen concentraciones que pueden superar aquellas recomendadas para el consumo.
b) En especies ictiófagas de gran porte, las concentraciones de mercurio guardan una correlación positiva con el tamaño de los peces.
c) Existe una variación geográfica de las concentraciones de mercurio con mayores valores en los peces que habitan aguas arriba de la represa de Salto Grande

Para someter a prueba las hipótesis los objetivos propuestos en el presente estudio fueron:

a) Establecer mediante la relación $\delta^{15}N$ el nivel trófico de 8 especies de organismos acuáticos ubicados "a priori" en diferentes eslabones de una red trófica hipotética y analizar la concentración de HgII y MeHg para evaluar su acumulación y analizar el proceso de biomagnificación del mercurio en el Río Uruguay.
b) Estudiar en una especie ictiófaga de gran porte como el Dorado, la relación entre el tamaño y la acumulación de mercurio.
c) Evaluar la existencia de variaciones geográficas en las concentraciones de mercurio de especies como el Dorado colectados a lo largo del tramo del Río Uruguay compartido entre Argentina y Uruguay.

Materiales y Métodos

De acuerdo a los tres objetivos planteados se han establecido diferentes estrategias experimentales para abordarlos.

Muestreos

i) Para abordar el primer objetivo del estudio, evaluar el nivel trófico de las especies seleccionadas y estimar el factor de biomagnificación del mercurio a través de la red alimentaria se hipotetizó una posible red alimentaria conformada por una especie de bivalvo invasor (*Limnoperna fortunei*) y siete especies de peces (*Astyanax fasciatus, Pimelodus maculatus, Prochilodus lineatus, Megaleporinus obtusidens, Cynopotamus argenteus, Acestrorhynchus pantaneiro y Salminus brasiliensis*) seleccionadas en función de los hábitos alimentarios descritos para diferentes especies del Río Uruguay (Figura 5).

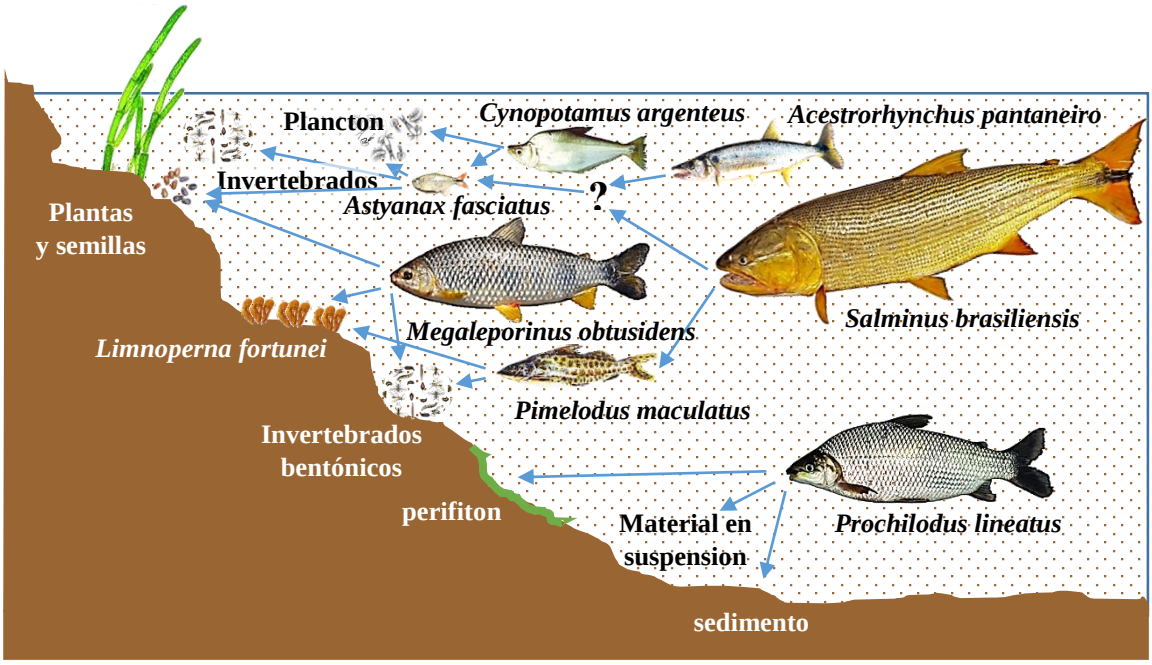

Figura 5. Red trófica hipotética a partir de la que se seleccionaron las especies para el estudio de biomagnificación.

Para este estudio, se seleccionaron 2 localidades de las 9 del muestreo de Ictiofauna una, aguas arriba (Mocoretá) y otra, aguas abajo (Puerto Yeruá) de la presa de la presa de Salto Grande (Figura 6). En cada una de dichas localidades se colectaron 5 ejemplares de cada una de las 7 especies de peces seleccionadas. Además, se colectaron muestras de 10 g de mejillones amarillo en 5 untos ubicados en el lago de la presa y de 5 puntos ubicados en diferentes sectores de la central

hidroeléctrica (Ej. cámara espiral). Complementariamente, se tomaron 10 muestras de sedimentos, 5 de sitios ubicados en el lago de la represa y 5 sitios en Puerto Yeruá, aguas abajo de la misma.

Figura 6. Ubicación de los sitios de toma de muestras de sedimentos, mejillones y peces para evaluar el proceso de biomagnificación del mercurio en el Río Uruguay

Figura 7. Especies de dientudo y mojarra utilizadas en el estudio (de arriba hacia abajo: *Astyanax fasciatus*, *Acestrorhynchus pantaneiro* y *Cynopotamus argenteus*

ii) En relación al segundo objetivo, estudiar la relación entre el tamaño y la concentración de mercurio en *Salminus brasiliensis* (dorado), se analizaron muestras de peces cuyo peso estuvo comprendido entre 200 y 15.000 g para el análisis del mercurio total. El número de ejemplares para el análisis de correlación fue de 50 ejemplares de diferentes tamaños, en el rango mencionado. La mayoría de los mismos fueron obtenidos del muestreo realizado en la campaña de Ictiofauna, mientras que los peces de mayor porte fueron obtenidos por pescadores artesanales localizados en la zona de Benito Legerén, bajo la presa de Salto Grande (Figura 8).

Figura 8. Dorados de más de 10 Kg obtenidos de pesquerías artesanales

iii) En cuanto al tercer objetivo, comparar las concentraciones de mercurio en poblaciones de *Salminus brasiliensis* (dorado) que habitan por encima y por debajo de la represa "Salto Grande", se seleccionaron ejemplares de tamaño similar (≈1,000 g) capturados en las 9 localidades de muestreo de Ictiofauna y ubicadas a lo largo de los 500 Km del tramo del Río Uruguay compartido entre Argentina y Uruguay, 2 aguas arriba y 7 aguas abajo de la presa.

Todas las actividades de muestreo fueron realizadas entre octubre y noviembre de 2017, durante la campaña de Ictiofauna, margen argentino (Figura 9).

Figura 9. Actividades realizadas durante la campaña de muestreo (captura de los ejemplares y extracción de las muestras)

Toma y preparación de las muestras

En todos los casos las muestras de tejidos para los análisis fueron tomadas inmediatamente luego de la captura. En el caso de los peces, las muestras fueron tomadas utilizando instrumental de acero inoxidable, extrayendo dos piezas de músculo de la región dorsal de cada uno de los flancos del pez, sumando aproximadamente 10 g entre ambas. En el caso de los mejillones, se colectaron

aproximadamente 10 g de mejillones con las valvas. Las muestras fueron rotuladas, colocadas en bolsas de polietileno tipo Ziploc y conservada a -20 °C. Luego se transportaron congeladas hasta el laboratorio y se conservaron a -20 °C. Antes de ser transportadas a Canadá para los análisis químicos, las muestras fueron liofilizadas hasta su deshidratación total. Se tomó con exactitud el peso antes y después de la liofilización para el posterior cálculo del porcentaje de humedad.

Análisis de mercurio

Los análisis de las concentraciones de las especies químicas de mercurio +2 (Hg(II)) y metil mercurio (MeHg) y las concentraciones de mercurio total (THg) se realizaron en el Centro de Investigación Analítica sobre el Medio Ambiente de la Universidad de Acadia. Las muestras de tejido y sedimento congeladas y liofilizadas se homogeneizaron con mortero y mano.

Para los análisis de Hg(II) y MeHg, aproximadamente 10 mg de las muestras homogeneizadas se pesaron en una ultrabalanza Sartorius (Modelo: SC2) y se digirieron en tubos de polipropileno de 2 ml con 1 ml de hidróxido de potasio (KOH) al 25% (p/v) en metanol (MeOH), se agitaron durante una hora y luego se calentaron durante otra hora a 95ºC (Sizmur et al., 2013). Luego, en un sistema automatizado (*Brooks Rand* MERX-M, Figura 9 panel superior), las muestras se derivatizaron con tetraetil borato de sodio (etilación) y analizaron por cromatografía de gases y espectroscopia de fluorescencia atómica con vapor frío (Klapstein et al., 2017). La cuantificación se obtuvo a partir de una curva de calibración externa con 7 puntos ejecutada al principio y final del análisis. Además, se alternaron estándares de verificación de 50 pg y blancos de reactivos cada 10 determinaciones. El límite de detección del método para MeHg fue de 1,4 pg (n = 10) calculado a partir de los blancos de digestión replicados. La recuperación de MeHg para el material de referencia certificado DORM-4 (CRM; Consejo Nacional de Investigación de Canadá, Ottawa, Canadá) fue del 110,8% +/- 10,0% (n = 4). La precisión de los análisis por triplicado para MeHg de las muestras fue RSD% = 7,3% +/- 3,5% (n = 15). El límite de detección del método para Hg (II) fue de 4,7 pg (n = 10) basado en los replicados de los blancos de digestión. La recuperación

Figura 9. Equipos utilizados para la determinación de Hg(II) y MeHg (superior) y THg (inferior).

de Hg (II) para el DOLT-5 CRM fue del 95,8% +/- 10,9% (n = 4). La precisión de los análisis por triplicado para Hg (II) de las muestras fue% RSD = 9,9% +/- 3,8% (n = 12).

Para el análisis de THg, se pesaron 20 mg de tejido liofilizado y se analizaron utilizando pirólisis térmica, amalgamación con oro y absorbancia atómica (Nippon Instruments Corporated-3000 con inyector automático, Figura 9 panel inferior) siguiendo el método EPA 7473 (USEPA, 1998). Los controles de calidad incluyeron la verificación inicial y continua de la calibración, incorporación de blancos, medición de muestras por triplicados y la incorporación de material de referencia DORM-4 CRM. El límite de detección del método calculado como 3 veces la desviación estándar de los blancos fue de 0,01 ng/g (n=83). La precisión de los resultados por triplicado calculada com la desviación estándar relativa (%RSD) fue de 5,3% ± 6,2% (n = 24) y la recuperación porcentual media del material de referencia fue de 94,8% ± 8,5% (n=18).

Las muestras fueron homogeneizadas antes del análisis. Las concentraciones de metilmercurio (Me-Hg) y el mercurio divalente (Hg-II) se cuantificaron en muestras secas utilizando extracción básica de metanol, derivatización de muestras (etilación) y análisis en un sistema automatizado Brooks Rand MERX (GC-AFS). Los controles de calidad incluyeron réplicas de muestreo, blancos de calibración, blancos de reactivos, estándares de calibración, materiales de referencia estándar (DOLT-5) y análisis de recuperaciones. Los resultados se reportarán en mg/Kg de peso seco (p/s) o húmedo (p/h) según se indique.

Análisis de Isótopos estables de Nitrógeno

El análisis de isótopos estables de nitrógeno fue realizado en Stable Isotopes in Nature Laboratory, (SINLAB) del Canadian River Institute de la Universidad de New Brunswick, Canadá. Se utilizó espectrometría de masas de relación de isótopos de flujo continuo (CF-IRMS).

Figura 10. Equipos utilizados para la determinación de isótopos estables de N_2.

Las muestras liofilizadas y homogenizadas fueron pesadas en cápsulas de estaño y luego se combustionaron instantáneamente a 1800 °C en un analizador elemental (EA) NA2500 (Carlo Erba) equipado con un inyector automático Zero Blank y acoplado mediante una interfase universal de flujo continuo (ConFlo VI, Thermo Scientific) a un espectrómetro de masas para relación de isótopos (IRMS DELTA V Plus, Thermo Scientific) (Figura 10). Las muestras fueron introducidas en el EA por medio del inyector automático, allí por combustión completa en presencia de oxígeno se generan los óxidos de nitrógeno (N_xO_x). La combustión se produce en un tubo de cuarzo relleno de

óxido de cromo y óxido de cobalto plateado. Luego en un segundo tubo de cuarzo relleno de alambre de cobre fino los óxidos de nitrógeno (N_xO_x) son reducidos N_2. La cromatografía de gases (GC) permite separar el CO_2 del N_2 empleando helio como fase móvil. Una trampa de agua con perclorato de magnesio y chips de sílice permite eliminar el agua, previo al ingreso a la columna de GC.

Las mediciones de isótopos estables se informan como isótopos delta δ en partes por mil (‰) en relación con el estándar internacional: Viena Pee Dee Belemnite (VPDB) para carbono y aire atmosférico (AIR) para nitrógeno. Los valores de isótopos fueron normalizados utilizando estándares secundarios: NICOTINAMIDA, BLS (estándar de hígado bovino) y MLS (estándar de músculo de pez *Esox masquinongy*) para tejidos animales; y CMS (estándar de harina de maíz) y SPL (estándar de *Spirulina* sp.) para sedimentos y material vegetal. Todos estos estándares fueron calibrados contra los estándares del IAEA, sulfato de amonio para N_2. Vea a continuación las descripciones estándar.

Análisis de datos

Los valores son presentados como la media aritmética ± el error estándar, a menos que se aclare de otro modo. Las concentraciones de mercurio se presentaron en la mayoría de los casos como mg/Kg de músculo expresado como peso seco, salvo para la comparación con los límites de residuos máximos (MRL) aceptados por el *Codex Alimentarius* (FAO-WHO, 2009) donde se expresan como peso húmedo. Estas concentraciones se obtuvieron corrigiendo la concentración expresada como peso seco corregida por el porcentaje de humedad medido en la muestra. Las relaciones entre variables se establecieron empleando correlación lineal entre el factor analizado y la concentración de mercurio directa o transformada a logaritmo decimal, según correspondiera. El factor de biomagnificación (BMF) fue calculado como la concentración de mercurio total en el músculo del pez con mayor nivel de $\delta^{15}N$ (dientudo paraguayo) dividida por la concentración de mercurio total en la especie con menor valor de $\delta^{15}N$ (el mejillón)

$$BMF = THg_{dientudo}/THg_{mejillón}$$

El factor de magnificación trófica (TFM), fue calculado a partir de la pendiente (b) obtenida de la relación entre los valores de $\delta^{15}N$ y el logaritmo decimal de la concentración de THg según la ecuación:

$$TMF = 10^b$$

Resultados y Discusión

El análisis de la relación isotópica del $^{15}N/^{14}N$ expresada como $\delta^{15}N$ mostró que las especies estudiadas presentaron una posición trófica similar a la hipotetizada a partir de los hábitos tróficos descritos en la bibliografía (Figura 11).

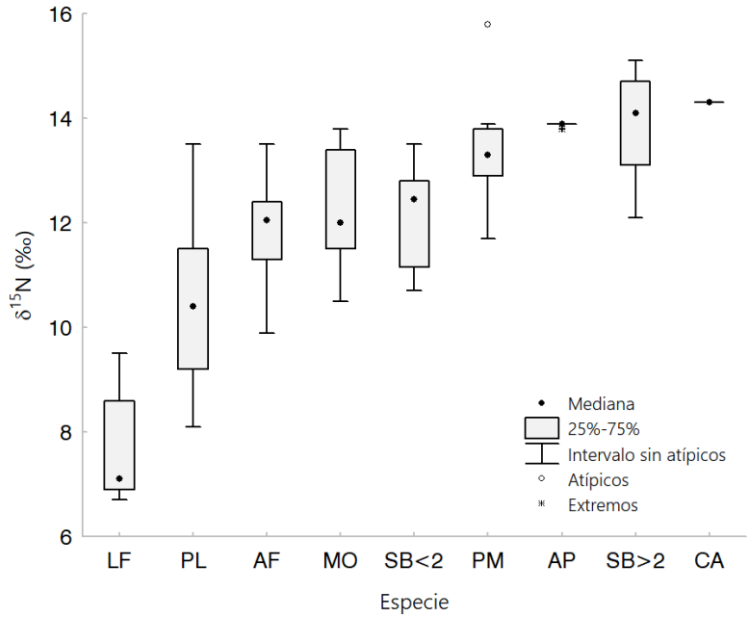

Figura 11. Niveles tróficos dados por la relación de isótopos estables de nitrógeno en las especies de peces estudiadas. LF: *Limnoperna fortunei*, PL: *Prochilodus lineatus*, AF: *Astyanax fasciatus*, MO: *Megaleporinus obtusidens*, SB<2: *Salminus brasiliensis* <2Kg, PM: *Pimelodus maculatus*, AP: *Acestrorhynchus pantaneiro*, SB: *Salminus brasiliensis* >2Kg, CA: *Cynopotamus argenteus*.

El mejillón dorado (*L. fortunei*), presentó nivel trófico más bajo con un valor promedio de $\delta^{15}N$ de 7,7±0,4‰. Ello fue consistente con su hábito filtrador. Luego, en un segundo nivel, le siguió el sábalo (*P. lineatus*) con valores promedios de 10,4±0,5‰. El sábalo es un reconocido pez detritívoro que se alimenta tanto de material particulado en suspensión como de perifiton que le confiere una amplia dispersión de los valores de $\delta^{15}N$. En un tercer nivel, con valores próximos a 12‰, se ubicaron tres especies con hábitos alimenticios diferentes, la mojarra (*A. fasciatus*), los dorados (*S. brasiliensis*) pequeños (<2Kg) y la boga (*M. obtusidens*). Las mojarras del género Astyanax, suelen ser generalistas ya alimentarse de alimenta principalmente de materia vegetal, microcrustáceos e insectos (Silveira-Vilella et al., 2002). Por otra parte, la boga es omnívora y se alimenta también de materia vegetal e invertebrados, entre ellos *L. fortunei* (García and Protogino, 2005). Los dorados pequeños son ictiófagos, pero también suelen alimentarse de insectos. En una posición algo superior se ubicó el bagre amarillo (*P. maculatus*) con un promedio de 13,4±0,4‰. Esta especie es también omnívora, alimentándose de restos vegetales e insectos, pero mayoritariamente de los moluscos

invasores *Corbicula fluminea* y *L. fortunei* (García and Protogino, 2005). Finalmente, en el nivel más elevado se encontraron los dorados grandes (>2 Kg) y otras dos especies ictiófagas, los dientudos, paraguayo (*Acestrorhynchus pantaneiro*) y jorobado (*Cynopotamus argenteus*). Los dorados son generalmente descritos como ictiófagos, pero suelen presentan un amplio espectro de ítems alimentarios, desde otras especies ictiófagas como *Hoplias* sp. hasta insectos e incluso se le han encontrado restos vegetales en el contenido estomacal (de Almeida et al., 1997; Luz-Agostinho et al., 2008). Ello explicaría la gran dispersión de los valores de $\delta^{15}N$ observados en esta especie. En el caso de los dientudos, también se trata de especies ictiófagas (Ferriz et al., 2016), pero por la baja dispersión de los valores de $\delta^{15}N$ parecieran tener una dieta muchos más estricta.

Existen muy pocos trabajos previos que describan las redes tróficas de la cuenca del Río Uruguay utilizando isótopos estables. El trabajo de realizado por Burress et al. (2013) en el Río Cuareim, midió valores de δ15N para sedimentos, hojarasca, macrófitas y algas filamentosas con valores próximos a 2,2, 3,0, 6,5 y 7,7 ‰, respectivamente. Además, posiciona al Sábalo (*P. lineatus*) como única especie del clan de los detritívoros con valores promedios de δ15N de 8,3 ‰ y valores máximos nunca mayores a 9 ‰, algo inferiores a los hallados en el presente estudio. Luego el rango de los omnívoros lo sitúan con valores entre 9 y 12 ‰, ubicando en el mismo grupo al género *Astyanax* sp. con un valor promedio de 10,8 ‰, también algo menor a los 11,8 ‰ encontrados en el presente estudio. Luego establece un clan de invertívoros con valores mayores a 10 y menores a 13 ‰ y finalmente a el de los piscívoros con valores mayores a 11 y menores a 16, en el cual la Tararira (*Hoplias lacerdae*) presentó el mayor valor promedio de 14,1 ‰. El intervalo de valores asignado por éstos autores al gremio de los piscívoros, el mismo comprendió perfectamente los valores de δ15N hallados para las especies piscívoras aquí estudiadas (Dorado y Dientudos).

La relación entre el nivel trófico indicado por $\delta^{15}N$ y la concentración de THg en el músculo guardó una buena correlación (Figura 12). Sin embargo, algunas especies como la Boga presentaron, en promedio, concentraciones de mercurio menores que las se esperaría por su posición trófica, y otras como los dorados >2 kg, presentaron el comportamiento inverso. Algo similar ocurrió con los dientudos. El Dientudo Paraguayo presentó mayores concentraciones que el Jorobado, cuando su huella isotópica los ubicaba en un orden inverso. Ello podría indicar que, si bien la posición trófica es importante en relación a la acumulación del mercurio, también habría otros factores que promoverían en mayor o menor grado la acumulación del metal. El factor de biomagnificación hallado entre la especie con mayor (Dientudo Paraguayo) y menor (Mejillón) concentración de THg fue de 30,6, indicando un fuerte incremento de las concentraciones de mercurio a través de la vía trófica. Por otra parte, la pendiente de biomagnificación encontrada fue de 0,193, valor comprendido en el intervalo de pendientes (0,11 – 0,23) reportado por otros autores en lagos de Canadá (Kidd et

al., 2012). De acuerdo a la interpretación de los valores de TMF (Borgå et al., 2012), el (TMF) estimado en el presente estudio sería de 1,5 y por ser > 1, demostraría que el Hg está siendo biomagnificado a través de la red trófica del Río Uruguay.

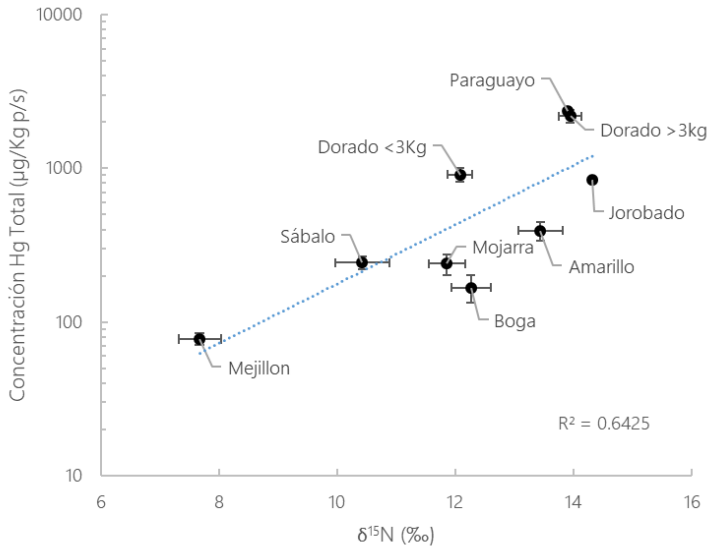

Figura 12. Relación entre el nivel trófico indicado por $\delta^{15}N$ y la concentración de mercurio total medida en el músculo de las diferentes especies de peces del Río Uruguay estudiadas.

En cuanto a la comparación de las concentraciones de las especies químicas del mercurio analizadas en las diferentes especies estudiadas (Figura 13), se observó que las concentraciones de MeHg crecieron en el siguiente orden: *L. fortunei* < *M. obtusidens* < *P. lineatus* < *A. fasciatus* < *P. maculatus* < *C. argenteus* < *S. brasiliensis* menor a 2 Kg < *S. brasiliensis* mayor a 2 Kg < *A. pantaneiro*, mientras las concentraciones de Hg(II) se incrementaron en el siguiente orden: *M. obtusidens* < *A. fasciatus* < *C. argenteus* < *P. lineatus* < *P. maculatus* < *S. brasiliensis* menor a 2 Kg < *A. pantaneiro* < *S. brasiliensis* mayor a 2 Kg < *L. fortunei*. Como puede observarse, mientras que algunas pequeñas diferencias se observaron entre las especies de peces, el molusco invirtió completamente el orden. Esto se ve claramente reflejado al observar la relación MeHg/Hg(II), conde el molusco filtrador (*L. fortunei*) presentó un valor mucho menor a la unidad: 0,087, mientras que en todos los peces la relación siempre fue mayor a la unidad, incluso en la especie detritívora (*P. lineatus*). Ello indicaría que la vía de exposición, o la asimilación, del mercurio es marcadamente diferente en entre el invertebrado y los peces. Además, esa diferencia se vio incrementada a medida que el nivel trófico del pez, dado por el $\delta^{15}N$, fue mayor, pasando de una relación MeHg/Hg(II) próxima a 16 en la Boga a 127 en el Dientudo Paraguayo.

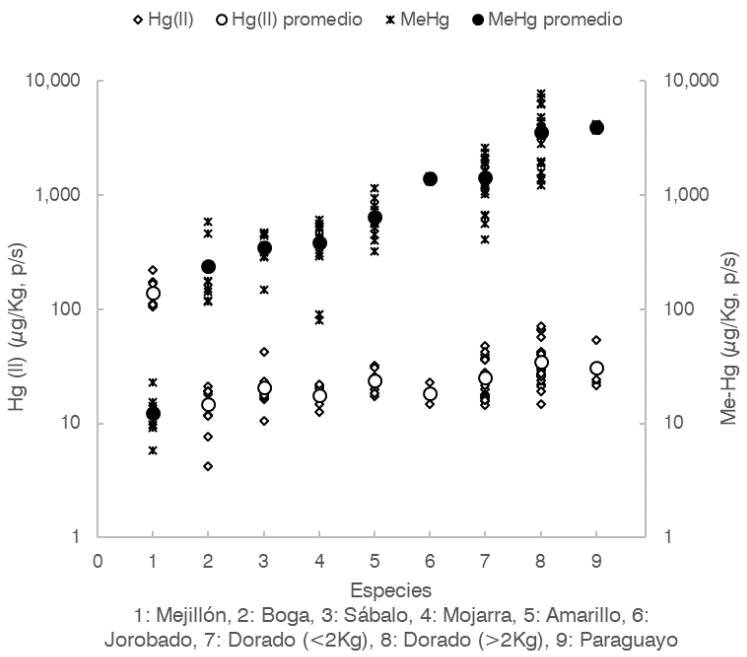

Figura 13. Concentración de las dos especies químicas de mercurio analizadas (Hg(II) y MeHg) en el mejillón amarillo y el músculo de las especies de peces del Río Uruguay estudiadas.

En los peces el MeHg representó entre el 95 % (*P. lineatus*) y el 99 % (*A. pantaneiro*) del mercurio total medido en el músculo. Además, tomando como ejemplo el Dorado, puede verse que existe una correlación significativa entre ambas especies químicas (Figura 14).

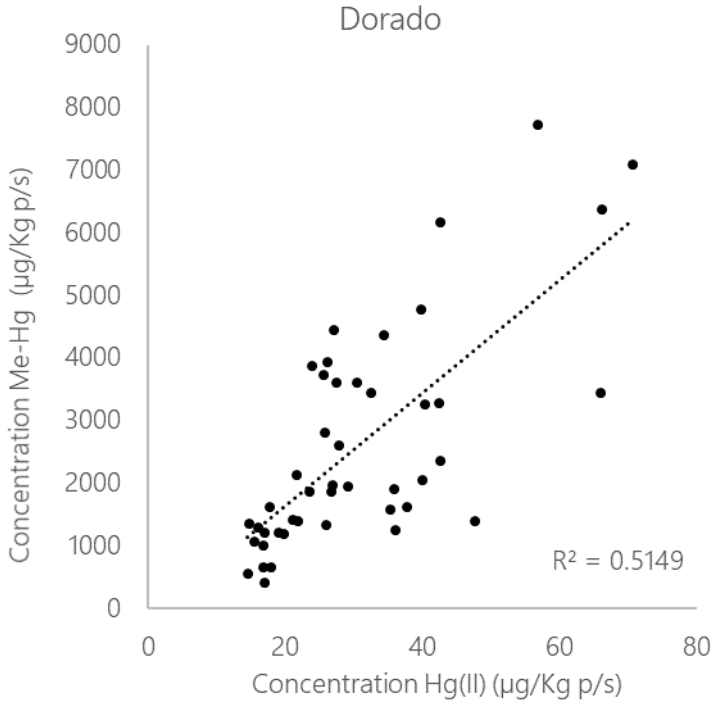

Figura 14. Correlación entre las concentraciones de Hg(II) y MeHg en el músculo del Dorado (*S. brasiliensis*)

En cuanto a las diferencias de concentración de Hg(II) y MeHg en el músculo del Dorado (*S. brasiliensis*) capturados en diferentes localidades distribuidas a lo largo del tramo compartido del Río Uruguay entre Argentina y Uruguay, no se observaron variaciones significativas para ninguna de las dos especies químicas entre localidades ni una correlación con la latitud (Figura 15). Tampoco se evidenciaron diferencia en los ejemplares colectados aguas arriba o aguas debajo de la presa de Salto Grande. Los niveles de mercurio observados parecieran indicar un origen del mercurio asociado más a fuentes difusas que a fuentes puntuales localizadas en algún sector específico del Río. La homogeneidad en las concentraciones también podría ser explicada por la gran movilidad que tiene esta especie migratoria, pero pese a que la presa suele representar una restricción para el libre movimiento de los peces aguas arriba y abajo, ello no se ha traducido en diferencias de la concentración del metal. Otra característica importante detectada es que la variabilidad de las concentraciones en ejemplares capturados en un mismo sitio ha sido en general bastante grande con valores promedio del coeficiente de variación del 52 %. Ello indica una relativa heterogeneidad dentro de los propios cardúmenes que son capturados posiblemente por las diferencias de tamaño, pero también podría deberse a cierta diversidad en la dieta como se inferiría de la dispersión de los valores de $\delta^{15}N$ dentro de la misma especie.

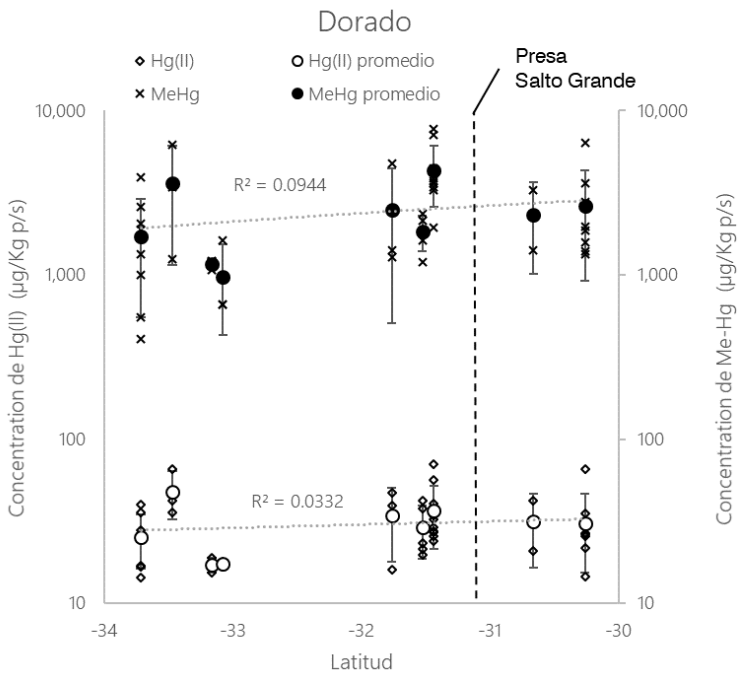

Figure 15. Concentraciones de Hg(II) y MeHg en el músculo de ejemplares de Dorado (*S. brasiliensis*) colectados en diferentes localidades a lo largo del tramo compartido del Río Uruguay entre Argentina y Uruguay

Cuando se observó la dependencia de las concentraciones de Hg(II) y MeHg con el tamaño de los ejemplares de Dorado (*S. brasiliensis*) (Figura 16), se encontró que, si bien ambas especies de mercurio mostraron alguna relación con el peso de los peces, la correlación fue mucho más fuerte para MeHg que para Hg(II).

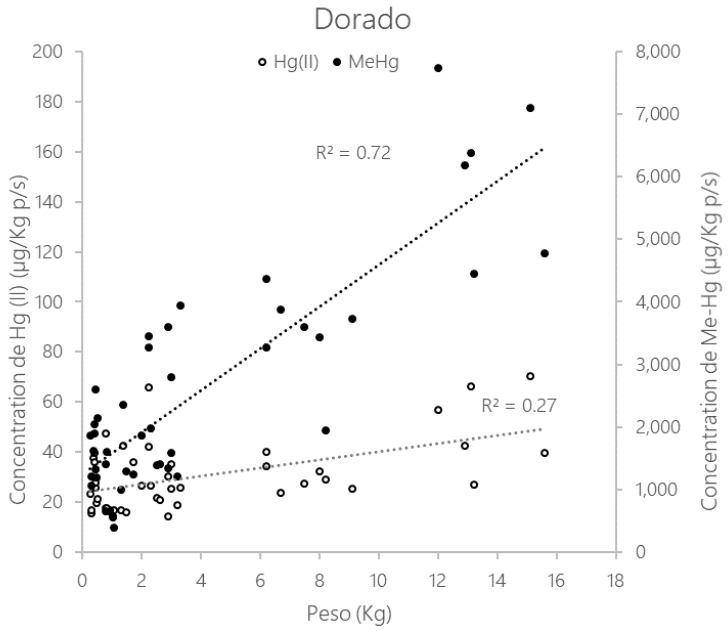

Figura 16 Dependencia entre el tamaño de los ejemplares de Dorado (*S. brasiliensis*) y las concentraciones de Hg(II) y MeHg en el músculo

Cuando la concentración de mercurio total en el músculo, expresada como peso húmedo, se comparó con el tamaño de los ejemplares de Dorado (*S. brasiliensis*) y se comparó con el residuo máximo permitido por el Codex Alimentarius (Figura 17), se encontró que aquellos Dorados de menos de 2 Kg nunca superaron los 0,5 mg/Kg de THg, valor máximo permitido para especies no ictiófagas. Además, los dorados de menos de 10 Kg nunca superaron 1,0 mg/Kg de THg, residuo máximo permitido por el Codex. Para el caso de los dorados de más de 10 Kg, 3 de los 6 ejemplares analizados superaron dicho límite. Por consiguiente, si se toman todos los dorados, el porcentaje que excedió el valor límite contemplado en el Codex es muy bajo (7%) pero cuando se contemplan ejemplares de gran porte la probabilidad de exceder el valor límite se incrementa al 50%. En tal sentido resultaría importante poder establecer alguna recomendación al respecto. Además, en el intervalo de pesos estudiados (200 – 16000 g) la concentración de MeHg en el músculo se incrementó en unos 50 µg/Kg músculo peso húmedo por cada Kg de peso del ejemplar.

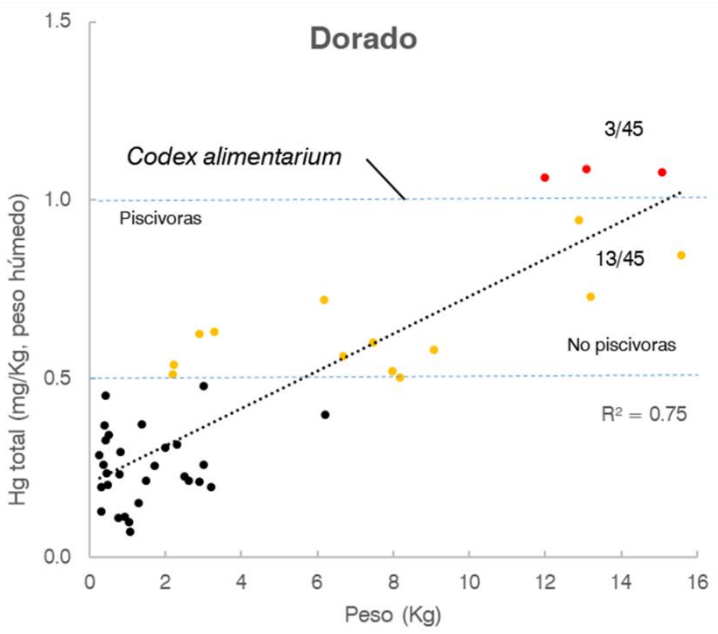

Figura 17. Relación entre el peso de los ejemplares de Dorado (*S. brasiliensis*) y las concentraciones de THg en músculo expresado en peso húmedo y su relación con los residuos máximos permitidos por el *Codex Alimentarius* para especies ictiófagas y no ictiófagas.

Conclusiones

Las principales conclusiones obtenidas del presente estudio son las siguientes:

De acuerdo a los valores de $\delta^{15}N$, en la red trófica del Río Uruguay estudiada el bivalvo filtrador (*L. fortunei*) ocupa el nivel trófico más bajo, seguido por el pez detritívoro (*P. lineatus*), luego el gremio de los omnívoros (*A. fasciatus*, *M. obtusidens*, *P. maculatus*) y finalmente el de los piscívoros (*C. argenteus*, *S. brasiliensis*, *A. pantaneiro*).

Las concentraciones de mercurio total en los tejidos guardan una clara correlación positiva con los niveles tróficos, pero las especies químicas dominantes difieren entre el invertebrado filtrador y los peces, dominando la especie inorgánica Hg(II) en el primero y la orgánica MeHg en los últimos, donde representa entre el 95 y el 99 % del THg.

No se observaron variaciones en la concentración de THg en el músculo de Dorado (*S. brasiliensis*) entre las localidades distribuidas a lo largo del tramo compartido del Río Uruguay entre Argentina y Uruguay, indicando que la especie tiene una alta movilidad que homogeniza los valores y que probablemente el origen del metal proviene de fuentes difusas.

En los Dorados (*S. brasiliensis*), existe una clara correlación positiva entre el tamaño de los ejemplares (peso) y la concentración de THg en el músculo dada por la relación $THg_{(musculo)} = 0{,}05 \times Peso_{(pez)} + 0{,}21$.

Los valores de THg medidos en músculo, muestran que las especies de peces del Río Uruguay estudiadas cumplen con los MRL establecidos en el *Codex Alimentarius*, a excepción del 50 % de los dorados de más de 10Kg de peso para los cuales debería realizarse recomendaciones para su consumo.

Recomendaciones

Debido a que los resultados del estudio indicarían que el origen del mercurio proviene de fuentes difusas, no sería posible establecer medidas de control de las mismas más que a través de medidas de restricción de producción y uso del metal a escala global como las planteadas en el Convenio de Minamata. Dada las concentraciones de THg encontradas en el músculo de las especies de peces del Río Uruguay estudiadas se recomienda que la CARU establezca recomendaciones de consumo, por ejemplo, indicando que no hay riesgo asociado al consumo de especies no ictiófagas, y estableciendo número de comidas máximas para especies ictiófagas.

Para ello sería deseable realizar una evaluación de riesgo para la salud humana en relación a los niveles máximos de ingesta diaria establecidos para mercurio y la cantidad de comidas mensuales a base a pescado acostumbrada en las poblaciones más vulnerables, como por ejemplo la de pescadores artesanales u otras que basan su dieta principalmente en pescado. Así mismo, sería deseable que en dichas poblaciones pudiera realizarse un relevamiento de los niveles de mercurio en muestras de cabello ya que tal información resulta un excelente estimador de la exposición a mercurio.

Finalmente, se recomienda al dientudo paraguayo (*A. pantaneiro*) como una excelente especie centinela para el monitoreo de mercurio en especies que no son de consumo humano, según las propuestas de monitoreo planteadas en relación al Convenio de Minamata.

Referencias

Beckers F., Rinklebe J., 2017. Cycling of mercury in the environment: Sources, fate, and human health implications: A review. Critical Reviews in Environmental Science and Technology; 47: 693-794.

Borgå K., Kidd K.A., Muir D.C., Berglund O., Conder J.M., Gobas F.A., et al., 2012. Trophic magnification factors: considerations of ecology, ecosystems, and study design. Integrated environmental assessment and management; 8: 64-84.

Burress E.D., Duarte A., Gangloff M.M., Siefferman L., 2013. Isotopic trophic guild structure of a diverse subtropical South American fish community. Ecology of Freshwater Fish; 22: 66-72.

de Almeida V.L.L., Hahn N.S., Vazzoler A.E.A.d.M., 1997. Feeding patterns in five predatory fishes of the high Paranà River floodplain (PR, Brazil). Ecology of Freshwater Fish; 6: 123-133.

FAO-WHO, 2009. Codex Alimentarius, Normas Internacionales de los Alimentos, NORMA GENERAL DEL CODEX PARA LOS CONTAMINANTES Y LAS TOXINAS, PRESENTES EN LOS ALIMENTOS Y PIENSOS (CODEX STAN 193-1995), pp. 48.

Ferriz R.A., Arrieta P.M., Dománico A., 2016. Caracterización trófica de nueve. Especies de peces en los tramos. Medio y bajo del Río Uruguay. Historia Natural; 6: 41-53.

García M.L., Protogino L.C., 2005. Invasive freshwater molluscs are consumed by native fishes in South America. Journal of Applied Ichthyology; 21: 34-38.

Kidd K.A., Muir D.C.G., Evans M.S., Wang X., Whittle M., Swanson H.K., et al., 2012. Biomagnification of mercury through lake trout (Salvelinus namaycush) food webs of lakes with different physical, chemical and biological characteristics. Sci. Total Environ.; 438: 135-143.

Klapstein S.J., Ziegler S.E., Risk D.A., O'Driscoll N.J., 2017. Quantifying the effects of photoreactive dissolved organic matter on methylmercury photodemethylation rates in freshwaters. Environ. Toxicol. Chem.; 36: 1493-1502.

Luz-Agostinho K.D.G., Agostinho A.A., Gomes L.C., Júlio H.F., 2008. Influence of flood pulses on diet composition and trophic relationships among piscivorous fish in the upper Paraná River floodplain. Hydrobiologia; 607: 187.

Silveira-Vilella F., Gertum Becker F., Hartz S.M., 2002. Diet of Astyanax species (Teleostei, Characidae) in an Atlantic Forest River in Southern Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology; 45: 223-232.

Sizmur T., Canário J., Edmonds S., Godfrey A., O'Driscoll N.J., 2013. The polychaete worm Nereis diversicolor increases mercury lability and methylation in intertidal mudflats. Environ. Toxicol. Chem.; 32: 1888-1895.

UNEP, 2013. Mercury: Time to Act. United Nations Environment Programme, Chemicals Branch, Division of Technology, Industry and Economics, Geneva pp. 44.

UNEP, 2018. Draft Global Mercury Assessment 2018 report. UNEP Division of Technology, Industry and Economics, Chemicals Branch International Environment House, Geneva, pp. 81.

USEPA, 1998. EPA Method 7473 (SW-846): Mercury in Solids and Solutions by Thermal Decomposition, Amalgamation, and Atomic Absorption Spectrophotometry. Revision 0. , Washington, DC.