

Research Article

Metales pesados en el riñón del delfín franciscana, *Pontoporia blainvillei* (Cetacea: Pontoporiidae) y su relación con parámetros biológicos

**María V. Panebianco¹, María F. Negri¹, Sandra E. Botté², Jorge E. Marcovecchio²
& Humberto L. Cappozzo^{1,3}**

¹Museo Argentino de Ciencias Naturales: Laboratorio de Ecología, comportamiento y mamíferos marinos (LECyMM), MACN/CONICET

Avda. Ángel Gallardo 470, C1405DJR, Buenos Aires, Argentina

²Área de Oceanografía Química, IADO-CONICET, CC 804, 8000 Bahía Blanca, Argentina

³Centro de Estudios Biomédicos, Biotecnológicos, Ambientales y Diagnóstico (CEBBAD)
Universidad Maimónides

RESUMEN. En este estudio se determinó los niveles de metales pesados (Cd, Pb, Zn, Cu, Cr y Ni) en el tejido renal del delfín franciscana, *Pontoporia blainvillei*, y se estableció la influencia de los parámetros ecológicos y biológicos sobre la bioacumulación de estos elementos. Se analizaron muestras de 38 ejemplares colectados entre 2004 y 2010 en el sur de Buenos Aires, Argentina. La edad de los animales y el estado de madurez sexual se determinaron por métodos histológicos, y los niveles de metales pesados por Espectrofotometría de Absorción Atómica. No se determinaron diferencias significativas para las concentraciones de Zn, Cu y Cd entre ambos sexos. Los niveles de Cd presentaron diferencias según el estado de madurez sexual y se relacionaron positivamente con la longitud, peso corporal y edad. Los niveles de Cd, Cu y Zn resultaron menores a los informados en estudios previos realizados en el norte de Buenos Aires y Uruguay.

Palabras clave: elementos traza, *Pontoporia blainvillei*, madurez sexual, edad, condición corporal, sur de Argentina.

Heavy metals in kidney tissues of Franciscana dolphin, *Pontoporia blainvillei* (Cetacea: Pontoporiidae), and their relationship with biological parameters

ABSTRACT. Heavy metal (Cd, Pb, Zn, Cu, Cr, Ni) concentrations were determined in the kidney tissue of the Franciscana dolphin, *Pontoporia blainvillei*, and the influence of ecological and biological parameters on the bioaccumulation of these elements was established. Samples from 38 specimens, collected between 2004 and 2010 off southern Buenos Aires, Argentina, were analyzed. Histological methods were used to determine both the age and sexual maturity of the animals. Heavy metal concentrations were measured by atomic absorption spectrophotometry. No significant differences were found by sex for Zn, Cu, and Cd. However, Cd levels differed between maturity stages and were positively related to length, body weight, and age. The Cd, Cu, and Zn levels reported here in were lower than those included in previous studies done off northern Buenos Aires and Uruguay.

Keywords: trace elements, *Pontoporia blainvillei*, sexual maturity, age, body condition, southern Argentina.

Corresponding author: María Victoria Panebianco (panebianco@macn.gov.ar)

INTRODUCCIÓN

Entre los principales agentes contaminantes de ambientes marino-costeros figuran los metales pesados (Gerpe *et al.*, 2002; Das *et al.*, 2003). Estos agentes tóxicos son tanto de origen urbano, industrial, agrícola-ganadero y natural. Aún en baja concentración perduran en el ambiente, se distribuyen en las redes tróficas y se acumulan en los tejidos de los

organismos a través de los sucesivos niveles tróficos (Monteiro-Neto *et al.*, 2003).

Actualmente, se hace uso de organismos denominados centinelas, para evaluar el nivel de biodisponibilidad de los contaminantes en los ecosistemas, siendo de gran utilidad como indicadores de la calidad ambiental, entre ellos se encuentran los mamíferos marinos y en particular los pequeños cetáceos (Lailson-Brito *et al.*, 2008; Marcovecchio *et*

al., 1990). La concentración de contaminantes en los tejidos de éstos organismos centinelas refleja la disponibilidad de metales para otros organismos, mientras que la mayor concentración encontrada en los órganos hace posible el uso de los límites de detección existentes en la actualidad (Beeby, 2001; Lailson-Brito *et al.*, 2008).

Entre los posibles centinelas se encuentra la franciscana, *Pontoporia blainvillei* (Gervais & D'Orvigny, 1844), este es un pequeño cetáceo que habita ambientes marinos y estuariales, su distribución en aguas del océano Atlántico sudoccidental, abarca desde el Estado de Espírito Santo, Brasil (18°25'S) (Siciliano, 1994) hasta la provincia de Chubut, Argentina (41°09'S) (Crespo *et al.*, 1998). Cabe destacar que la especie fue recientemente clasificada por la IUCN como "vulnerable" (IUCN, 2008) y teniendo en consideración tanto su posición en las redes tróficas del océano (predador de alto nivel) como sus hábitos costeros (Pinedo *et al.*, 1989), podría ser considerada como una especie apropiada para estudios ambientales.

El objetivo del presente trabajo fue determinar los niveles de metales pesados (Zn, Cd, Pb, Cu, Cr y Ni) en el tejido renal de la franciscana que habita la costa del sur de Buenos Aires (Argentina), y establecer si los parámetros ecológicos y biológicos (sexo, edad, estado de madurez sexual y localidad) influyen sobre la acumulación de estos elementos en el tejido estudiado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de 38 ejemplares provenientes de la captura accidental en redes de pesca de la flota costera artesanal que operó en la costa bonaerense, particularmente en las localidades de Necochea (38°37'S, 58°50'W), Claromecó (38°51'S, 60°04'W), Monte Hermoso (38°59'S, 61°15'W) y Bahía Blanca (38°44'S, 62°14'W), entre 2004 y 2010 (Fig. 1). Previo a la disección, se determinó el sexo y se tomaron medidas de longitud y peso siguiendo los criterios utilizados por Norris (1961).

A continuación, se procedió con las disecciones pertinentes y con la toma de las muestras de tejido renal, utilizando bisturí de acero inoxidable y conservándolas a -20°C en bolsas de polietileno. Para la determinación analítica de los metales pesados seleccionados (Cd, Cu, Cr, Ni, Pb y Zn), se realizó una mineralización del tejido (sub-muestra de 600 ± 0,1 mg) en un medio con una mezcla de ácidos fuertes (nítrico - perclórico) a temperatura controlada (Marcovecchio & Ferrer, 2005). El método analítico seleccionado fue espectroscopia de absorción atómica

(Perkin-Elmer 2380). A fin de cumplir con los estándares de calidad analítica se utilizaron dos réplicas y Material de Referencia Certificado (harina de tejido de mejillón, NIES N°6) provistos por el Instituto Nacional de Estudios Ambientales (NIES), Tsukuba (Japón). Para todos los metales pesados analizados se obtuvieron los siguientes porcentajes de recuperación Cd: 92,4-98,7%, Cr: 95,3-99,8%, Zn: 96,5-102,3%, Ni: sin datos.

Los valores de concentración menores a los límites de detección del método (LDM) fueron reemplazados por la mitad del valor de dicho límite con fines estadísticos. Mientras que aquellos metales con más del 40% de sus valores de concentración por debajo del LDM no fueron incluidos en los análisis estadísticos. Los valores LDM (determinados experimentalmente) fueron, Cd: 0,41, Pb: 1,20, Cu: 2,17 Zn: 1,83, Cr: 1,02, Ni: 2,21 µg g⁻¹. Los coeficientes de variación entre las réplicas estuvieron entre rangos aceptables para el método utilizado (25-35%). La madurez sexual y la edad se determinaron a partir de técnicas histológicas. Para la determinación de la edad se extrajeron dientes de cada espécimen que se fijaron en solución de formaldehído al 10%. La edad se determinó mediante el conteo de los grupos de capas de crecimiento (GLGs, de sus siglas en inglés *growth-layers groups*), según el protocolo de Pinedo & Hohn (2000) con modificaciones *ad-hoc*. Únicamente las láminas centrales y con mejor contraste fueron utilizadas para la lectura de los grupos de líneas de crecimiento, tanto en la dentina como en el cemento. Se consideró que un GLG corresponde a un año de edad (Pinedo & Hohn, 2000).

Para la determinación del estado de madurez sexual, las gónadas fueron extraídas, pesadas y medidas. Luego de la extracción se fijaron en solución de formaldehído al 10%. A continuación se fragmentó una sección transversal de aproximadamente 1 cm de espesor, la misma fue embebida en Histoplast®, seccionada en cortes de 4 µm de espesor y teñida con hematoxilina y eosina. La determinación del estado de madurez sexual se realizó según los criterios de Hohn *et al.* (1985) y Harrison & Brownell (1971).

El índice relativo de condición corporal o Kn (Le Cren, 1951) se determinó según la siguiente ecuación:

$$Kn = Po/Pe$$

donde: Po = Peso corporal medido (kg) y Pe = Peso corporal estimado (kg)

La variable Pe se obtuvo de la curva longitud estándar-peso corporal a partir de las medidas de delfines recolectados en las áreas de muestreo (datos no publicados).

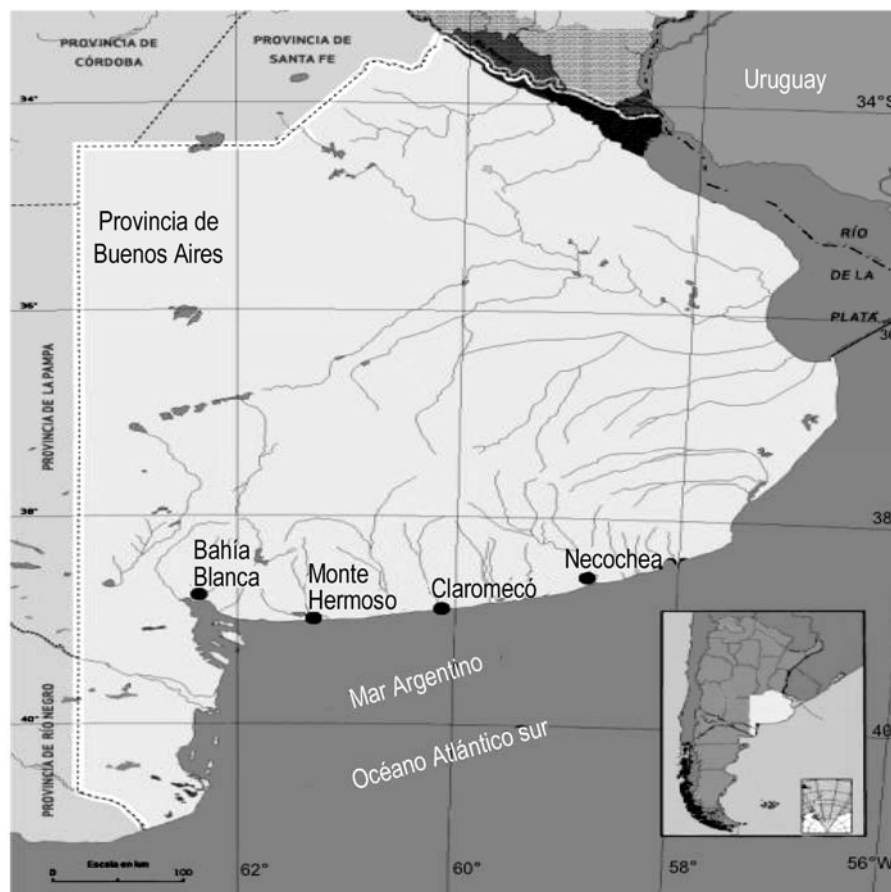


Figura 1. Localidades muestreadas a lo largo de la costa sur de la provincia de Buenos Aire.

Figure 1. Sampling localities along the southern coast of Buenos Aires Province.

Todos los análisis estadísticos sobre las variables analizadas se realizaron usando el programa Statistica 7.0 (Statsoft, Inc.). Se evaluó la normalidad de la distribución de los datos y la homogeneidad de varianza a través de las pruebas de Shapiro-Wilk y de Levene, respectivamente. Cuando los supuestos no se cumplieron se realizaron pruebas estadísticas no paramétricas. La prueba de Mann-Whitney se aplicó para evaluar la existencia de diferencias significativas para los metales pesados entre ambos sexos.

Para evaluar el efecto de la edad sobre la concentración de metales, las franciscanas se dividieron en tres grupos de edad; el primer grupo correspondió al período comprendido entre el nacimiento y el destete (≥ 0 -1 año), el segundo grupo comprendió animales de 2 a 4 años y el tercero los ≥ 5 años. La concentración de metales por grupo de edad se comparó por la prueba de Kruskal-Wallis ANOVA. Por la misma prueba se compararon los valores medios de concentración de cada metal según los estados de madurez sexual (neonatos (NN), inmaduros (I) y maduros (M)).

Se estimó el índice de condición (Kn) para evaluar el estado general de los delfines. La relación entre las concentraciones de metales con la edad, talla y peso corporal se analizó a través de la prueba de rangos de Spearman (r_s). La relación longitud estándar-peso corporal para delfines franciscana quedó representada mediante la siguiente función potencial: Peso corporal (kg) = $0,0004 * \text{Longitud estándar (cm)}^{2,3012}$ ($r^2 = 0,84$; $P < 0,001$; $n = 67$). Se consideró como nivel de significancia estadística $P \leq 0,05$ para todas las pruebas realizadas.

RESULTADOS

Los valores de los parámetros estadísticos obtenidos para la longitud, peso, edad, Kn y metales pesados analizados (Cd, Cu y Zn) se indican en la Tabla 1. Se detectó presencia de Zn en el 100% de los ejemplares ($22,50 \pm 4,78 \mu\text{g g}^{-1}$), de Cd en el 81,1% ($5,72 \pm 7,56 \mu\text{g g}^{-1}$) y Cu en el 81,8% ($4,52 \pm 3,62 \mu\text{g g}^{-1}$). Sin embargo, Cr, Ni y Pb no fueron incluidos en los análisis estadísticos debido a la baja cantidad de

Tabla 1. Estadística descriptiva de los parámetros biológicos, índice de condición corporal (Kn) y de la concentración de los metales pesados analizados. Se indica el número de individuos analizados (n), media, mediana, rango y desviación estándar (DE).

Table 1. Descriptive statistic of biological parameters, body condition index (Kn) and heavy metals concentration. It is shown the sampler number (n), mean, median and standard deviation (DE).

	n	Media	Mediana	Rango	DE
Edad (años)	35	2,91	2,00	0,00 - 13,00	2,69
Talla (cm)	38	115,97	114,20	78,70 - 160,50	19,29
Peso (kg)	38	20,90	19,80	5,80 - 52,00	8,67
Kn	38	0,89	0,88	0,52 - 1,30	0,17
Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	37	5,72	2,99	0,20 - 29,85	7,56
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	33	4,52	3,31	1,08 - 15,22	3,62
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	36	22,50	20,90	12,17 - 34,92	4,78

concentraciones detectadas (0%, 5,3% y 31,6% respectivamente).

El nivel más de alto de Zn fue $34,92 \pm 1,61 \mu\text{g g}^{-1}$ medido para un individuo neonato de Claromecó. Mientras que para el Cd, éste fue de $29,85 \pm 1,88 \mu\text{g g}^{-1}$ y perteneció a un ejemplar inmaduro proveniente de Bahía Blanca. La concentración de Cu más alta ($15,22 \pm 1,73 \mu\text{g g}^{-1}$) se encontró en un macho maduro de 5 años de edad proveniente de Monte Hermoso.

No se encontró diferencias significativas según el sexo ni entre las localidades estudiadas. En contraposición, hubo diferencias significativas según el estado de madurez sexual para el Cd (Kruskal-Wallis; NN-M $P = 0,003$; I-M $P = 0,02$), siendo la concentración en los neonatos significativamente menor que en los individuos inmaduros y maduros (Tabla 2).

Al igual que con el estado de madurez sexual, el Cd fue influenciado por la edad y el tamaño de los ejemplares; siendo menor su nivel en los primeros años y aumentó hacia la vejez (Spearman; edad: $r_s = 0,76$, $P \leq 0,01$; talla: $r_s = 0,66$; $P \leq 0,01$). El primer grupo de edad presentó valores significativamente menores que los otros grupos de edad (Kruskal-Wallis; Grupo 1-2 $P \leq 0,01$ y Grupo 1-3 $P \leq 0,01$), mientras que no hubo diferencias significativas entre los grupos 2 y 3.

Para el caso del Zn y Cu, no se encontraron diferencias entre los grupos de madurez ni de edad, sin embargo el Cu se relacionó de forma débilmente inversa con la edad (Spearman; edad: $r_s = -0,44$; $P = 0,02$).

Con respecto a las correlaciones entre los metales analizados en riñón, se verificó una relación significativamente negativa entre el Cd y Cu (Spearman; $r_s = -0,37$; $P = 0,04$).

Los valores de Kn estimados confirmaron la condición corporal óptima de los ejemplares debido a que todos presentaron valores cercanos a la unidad (Tabla 1).

DISCUSIÓN

La estimación de edad y estado de madurez sexual, así como también el sexo e índice de condición evaluados, fueron obtenidos según métodos estandarizados para obtener información comparable con los datos aportados por la bibliografía existente. Asimismo, como fue señalado por Shaughnessy (1993), los residuos de los contaminantes ambientales son acumulados y metabolizados diferencialmente dependiendo del sexo, edad y estado de madurez en que los organismos se encuentren, así como también dependen de factores como la condición de salud y dieta (Aguilar & Borrell, 1990), de aquí se desprende la importancia de obtener información sobre la historia de vida de cada ejemplar analizado.

El valor de los resultados obtenidos se vincula con la escasa información sobre la presencia de contaminantes ambientales en el sur de la costa bonaerense, donde habita la población de franciscana más austral de su distribución, que sufre el impacto de la captura accidental. Los trabajos previos relacionados con el tema analizado se limitan a aquellos que abarcan las poblaciones de Brasil (Estados de Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná y Rio Grande do Sul) y el norte de Buenos Aires (San Clemente del Tuyu y Cabo San Antonio).

Los mamíferos marinos usualmente no presentan diferencias en la concentración de elementos traza relacionada con el sexo (O'Shea, 1999), hecho que fue verificado para el delfín franciscana tanto en este

Tabla 2. Estadística descriptiva de los niveles de metales pesados detectables según el estado de madurez sexual y grupo de edad. n: número de individuos, DE: desviación estándar.

Table 2. Descriptive statistic of heavy metals levels detectable by stage of sexual maturity and age group. n: individual number, DE: standard deviation.

	Metales pesados	n	Concentración ($\mu\text{g g}^{-1}$) en peso fresco		
			Media	Mediana	DE
Grupos de madurez sexual	Cd	4	0,74	0,20	1,07
	Cu	5	5,71	5,82	1,96
	Zn	4	20,37	20,07	1,12
	Cd	24	4,46	1,53	6,67
	Cu	21	3,91	3,20	2,28
	Zn	24	22,84	22,42	5,24
	Cd	9	11,32	10,61	8,75
	Cu	7	5,38	2,89	5,36
	Zn	8	22,54	20,46	4,52
Grupos de edad	Cd	15	0,90	0,52	0,87
	Cu	11	5,00	3,71	3,04
	Zn	15	22,6	20,73	4,82
	Cd	13	6,22	3,37	6,10
	Cu	12	3,89	2,89	3,50
	Zn	13	21,17	20,74	4,64
	Cd	7	11,14	12,21	8,65
	Cu	5	5,53	3,30	5,92
	Zn	6	23,08	22,39	4,75

estudio como en estudios previos realizados en Argentina (Gerpe *et al.*, 2002), Uruguay (Foglia, 2008) y Brasil (Lailson-Brito *et al.*, 2002). Sin embargo, se determinó que hubo influencia del estado de madurez sexual y la edad sobre la concentración de estos elementos en el riñón.

Tanto la edad como el estado de madurez sexual estuvieron altamente relacionados con la talla y peso de los ejemplares, y afectaron significativamente los niveles de Cd, evidenciándose su acumulación en el riñón. Resultados similares fueron obtenidos para *Pontoporia blainvillei* por Gerpe *et al.* (2002) y Foglia (2008). Sin embargo, Lailson-Brito *et al.* (2000) y Seixas *et al.* (2007) no encontraron esta relación en franciscanas procedentes de Brasil. Existen antecedentes sobre la presencia o ausencia de la relación en cuestión, por ejemplo, Kunito *et al.* (2004) encontraron una relación significativa y negativa, entre el Cu y Zn y la edad para *Stenella coeruleoalba* en hígado, mientras que Kunito *et al.* (2002), no encontraron dicha relación en la ballena minke. Los

autores propusieron que dicha inconsistencia se debería tanto a diferencias en el metabolismo, como en las concentraciones de estos elementos explicados por la dieta de las diferentes especies.

A medida que las franciscanas se desarrollan y sustituyen el alimento materno por presas sólidas, se observó un cambio significativo en la concentración de Cd en el riñón. Esto se vio reflejado en la diferencia en los niveles de Cd entre el grupo de edad 1 y los otros dos grupos, donde el primero contenía cuatro individuos neonatos cuyos estómagos solo contenían leche (Paso-Viola *et al.* resultados no publicados) y en los cuales no se encontraron valores detectables de Cd (Tabla 2).

Para el Zn y Cu se puede inferir, a partir de los resultados obtenidos, que sus concentraciones en el riñón varían en forma independiente de la edad y longitud, de manera similar a lo informado por otros autores para la misma especie en el Atlántico Sur (Lailson-Brito *et al.* 2002, Tabla 2).

Estudios previos han informado que el Cu está presente en individuos neonatos y es asimilado por los individuos durante la gestación (Law *et al.*, 1992; Wood & Van-Vleet, 1996). Adicionalmente, estos autores encontraron una disminución en la concentración de Cu durante el primer año de vida, seguida por un mantenimiento a lo largo de su vida. Esto último resultó en concordancia con la tendencia encontrada de Cu con la edad en el presente estudio. La ausencia de diferencias significativas entre los grupos de madurez y edad, discrepando con lo informado en estudios previos, se podría deber a que la gran variación intraespecífica de las concentraciones (Aguilar *et al.*, 1999) enmascara las posibles diferencias presentes, que se hace evidente al comparar los valores de media y mediana (Tabla 2). Al considerar sólo en los valores de las medianas se observó el patrón propuesto por Law *et al.* (1992) y Wood & Van-Vleet (1996).

La concentración renal media de Cd resultó similar a aquellas informadas en un trabajo realizado en la costa de Brasil (Seixas *et al.*, 2007, Tabla 3) y Mar del Plata, (Marcovecchio *et al.*, 1990), donde se analizaron ejemplares de delfín franciscana (Student; Brasil: $t = 0,93$; $df = 66$; $P = 0,35$; Mar del Plata: $t = 0,77$; $df = 37$; $P = 0,44$). No obstante, los valores aquí encontrados resultaron marginalmente menores a los informados por Foglia (2008) (Student; $t = 1,91$, $df = 50$, $P = 0,06$) para la costa uruguaya y por Gerpe *et al.* (2002) en franciscanas procedentes de Mar del Plata y Bahía Samborombón, Buenos Aires.

Los niveles de Zn obtenidos en este estudio resultaron considerablemente menores a los informados por Marcovecchio *et al.* (1990) (Student; $t = 13,25$; $df = 36$; $P \leq 0,001$), pero estuvieron más cercanos a los obtenidos por Seixas *et al.* (2007) (Student; $t = 0,07$; $df = 65$; $P = 0,95$), en franciscanas procedentes de Rio de Janeiro.

Un patrón similar se encontró para el Cu, donde las concentraciones estimadas en este trabajo resultaron significativamente menores a aquellas señaladas por Marcovecchio *et al.* (1990) (Student; $t = 3,72$; $df = 33$; $P \leq 0,001$) y similares a las encontradas por Seixas *et al.* (2007) (Student; $t = 0,18$; $df = 46$; $P = 0,85$).

Los niveles de Cr, Ni y Pb presentes en tejido renal, no fueron detectables con el método analítico utilizado y además no fue posible encontrar información previa para esta especie. Por lo tanto, estos son los primeros resultados que se obtienen para la especie, a partir de ejemplares procedentes de la costa sur de Buenos Aires. En función de las bajas concentraciones determinadas se sugiere que estos últimos metales se acumularían en el riñón del delfín franciscana, pero en concentraciones inferiores al límite de detección del método.

Si bien los especímenes estudiados presentaron baja concentraciones de metales pesados en relación a las poblaciones de otras áreas geográficas, este trabajo en conjunto con investigaciones precedentes indica un estado crónico de contaminación. Entre los efectos que estos elementos pueden producir a largo plazo, en

Tabla 3. Revisión bibliográfica de los niveles de metales pesados en el riñón en el rango de distribución del delfín franciscana. n: número de individuos, DE: desviación estándar.

Table 3. Literature review of heavy metals levels in kidney throughout the franciscana dolphin distribution. n: individual number, DE: standard deviation.

Metales pesados	Área	n	Concentración ($\mu\text{g g}^{-1}$) en peso fresco			
			Rango	Media	DE	Referencia
Cd	NBA	2		9,90	3,90	Marcovecchio <i>et al.</i> (1990)
Zn		2		79,40	21,40	
Cu		2		14,00	4,90	
Cd	NBA	18	0,24 - 6,70			Gerpe <i>et al.</i> (2002)
Zn		18	2,11 - 15,48			
Cd	SBA	37	Nd - 29,85	5,72	7,56	presente estudio
Cu		33	Nd - 15,22	4,52	3,62	
Zn		36	12,17 - 34,92	22,50	4,78	
Cd	U	15		1,92	1,84	Foglia (2008)
Cd	RJ	15	Nd - 1,20	0,28	0,32	Lailson-Brito <i>et al.</i> (2002)
Zn		15	11,00 - 49,00	22,66	9,51	
Cu		15		4,72	3,80	
Cd	RJ-RG	31		4,40	2,40	Seixas <i>et al.</i> (2007)

NBA: norte de Buenos Aires, SBA: sur de Buenos Aires, U: Uruguay, RJ: Rio de Janeiro, RG: Rio Grande do Sul.

uno de los principales órganos de detoxificación, se puede enumerar la alteración de la tasa en que los elementos tóxicos son metabolizados y excretados (Aguilar *et al.*, 1999). Por esta razón, se propone realizar estudios de histopatología sobre aquellos tejidos más afectados a fin de evaluar posibles efectos subletales sobre los tejidos.

AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo fue posible gracias a la desinteresada colaboración de pescadores artesanales de las localidades de Necochea, Claromecó, Monte Hermoso y Bahía Blanca. Agradecemos a los técnicos del IADO, M.N. Chiarello y J. Arlenghi, por su asistencia durante la extracción y lectura de los metales y a los técnicos K. Arias y L. Nogueira (EHPQ, MACN/CONICET). Así como también a los guardaparques A. Areco y M. Sotelo, y a la coordinadora de gestión M.V. Massola de la Reserva de Usos Múltiples Bahía Blanca, Bahía Falsa y Bahía Verde (Pcia Bs. As) por su continua colaboración durante las campañas de muestreo. Agradecemos la lectura crítica del manuscrito al Dr. A. Arias (IADO), P. Penchaszadeh (MACN/CONICET; FCE y N, UBA) (CONICET, FCEN), C. Ituarte (MACN-CONICET), P. Faillace (CONICET), R. Bernabeu (FM, UBA/CONICET) M.N. Paso-Viola (LEC y MM, MACN/CONICET), J.I. Túnez (UNLu, CONICET), I. Cáceres-Saez (LEC y MM, MACN/CONICET) y G.J. Miano, gracias por su apoyo. El proyecto fue financiado por subsidios otorgados por la Universidad de Valencia, España (HLC), Fundación Antorchas, Argentina (HLC), Yaqu-Pacha, Alemania (HLC), The Society of Marine Mammalogy (MVP) y The Cetacean Society International (MVP). Lic. Adrián Giacchino (Fundación de Historia Natural, Félix de Azára).

REFERENCIAS

- Aguilar, A. & A. Borrell. 1990. Patterns of lipid content and stratification in the blubber of fin whales (*Balaenoptera physalus*). *J. Mammal.*, 71: 544-554.
- Aguilar, A., A. Borrell & T. Pastor. 1999. Biological factors affecting variability of persistent pollutant levels in cetaceans. *J. Cetacean Res. Manage.*, 1: 83-116.
- Crespo, E.A., G. Harris & R. González. 1998. Group size and distribution range of the franciscana, *Pontoporia blainvillei*. *Mar. Mamm. Sci.*, 14: 845-849.
- Das, K., V. Debacker, S. Pillet & J. Bouqueneau. 2003. Heavy metals in marine mammals. In: J.G. Vos, G.D. Bossart, M. Fournier & T.J. O'shea (eds.). *Toxicology of marine mammals*. Taylor & Francis, London, pp. 135-167.
- Foglia, M. 2008. Niveles de mercurio y cadmio en franciscana *Pontoporia blainvillei*, a lo largo de la costa uruguaya. Tesis de Grado, Universidad de la República, Montevideo, 55 pp.
- Gerpe, M.S., D.H. Rodriguez, V.J. Moreno, R.O. Bastida & J.E.A. Moreno. 2002. Accumulation of heavy metals in the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) from Buenos Aires Province, Argentina. *Lat. Am. J. Aquat. Mamm.*, 1: 95-106.
- Harrison, R.J. & R.L. Brownell Jr. 1971. The gonads of the South American dolphins, *Inia geoffrensis*, *Pontoporia blainvillei* and *Sotalia fluviatilis*. *J. Mamm.*, 52: 413-419.
- Hohn, A.A., S.J.S. Chiver & J. Barlow. 1985. Reproductive maturity and seasonality of male Spotted dolphins, *Stenella attenuata*, in the eastern tropical Pacific. *Mar. Mamm. Sci.*, 1: 273-293.
- International Union for Conservation of Nature (IUCN). 2008. *Pontoporia blainvillei*. IUCN Red list of threatened Species. <www.iucnredlist.org>.
- Kunito, T., S. Nakamura, T. Ikemoto, Y. Anan, R. Kubota, S. Tanabe, F.C.W. Rosas, G. Fillmann & J.W. Readman. 2004. Concentration and subcellular distribution of trace elements in liver of small cetaceans incidentally caught along the Brazilian coast. *Mar. Poll. Bull.*, 49: 574-587.
- Kunito, T., I. Watanabe, G. Yasunaga, Y. Fujise & S. Tanabe. 2002. Using trace elements in skin to discriminate the populations of minke whales in southern hemisphere. *Mar. Environ. Res.*, 53: 175-97.
- Lailson-Brito, J.Jr., M.A.A. Azeredo, M.F.C. Saldanha, M.A. Fernandez & F. Herms. 2000. Estudo ecotoxicológico das concentrações de cádmio em tecidos de golfinhos (Cetacea, Delphinidae) de hábitos costeiros e oceânicos, de águas do estado do Rio de Janeiro. In: E.L.G. Espíndola, C.M.R.B. Paschoal, O. Rocha, M.B.C. Bohrer & A.L.O. Neto (eds.). *Ecotoxicología: perspectivas para o Século XXI*, Editora Piaget, Viseu, pp. 183-197.
- Lailson-Brito, J.Jr., M.A.A. Azeredo, O. Malm, R.A. Ramos, A.P.M. Di-Beneditto & M.F.C. Saldanha. 2002. Trace metals in liver and kidney of the franciscana, *Pontoporia blainvillei*, in the north coast of Rio de Janeiro State, Brazil. *Lat. Am. J. Aquat. Mamm.*, 1: 107-114.
- W.R. Bastos, C.E. Azevedo-Silva, A.F. Azevedo, J.P.M. Torres Lailson-Brito, J.Jr., P.R. Dorneles, V.M.F. Da-Silva, A.R. Martin & O. Malm. 2008. Dolphins as indicators of micropollutant trophic flow in amazon basin. *Oecol. Bras.*, 12: 527-537,

- Le Cren, E.D. 1951. The length-weight relationship and seasonal cycles in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *J. Anim. Ecol.*, 20: 201-219.
- Law, R.J., B.R. Jones, J.R. Baker, S. Kennedy, R. Milne & R.J. Morris. 1992. Trace metals in the livers of marine mammals from the Welsh coast and the Irish Sea. *Mar. Poll. Bull.*, 24: 296-304.
- Marcovecchio, J.E., V.J. Moreno, R.O. Bastida, M.S. Gerpe & D.H. Rodríguez. 1990. Tissue distribution of heavy metals in small cetaceans from the Southwestern Ocean. *Mar. Poll. Bull.*, 21: 299-304.
- Marcovecchio, J.E. & L.D. Ferrer. 2005. Distribution and geochemical partitioning of heavy metals in sediments of the Bahía Blanca estuary, Argentina. *J. Coast Res.*, 21: 826-834.
- Monteiro-Neto, C., R.V. Itavo & L.E. De Souza-Moraes. 2003. Concentrations of heavy metals in *Sotalia fluviatilis* (Cetacea: Delphinidae) off the coast of Ceará, northeast Brazil. *Environ. Pollut.*, 123: 319-324.
- Norris, K.S. 1961. Standardized method for measuring and recording data on the smaller cetaceans. *J. Mamm.*, 42: 471-478.
- O'Shea, T.J. 1999. Environmental contaminants and marine mammals. In: J.E. Reynolds. III & S.A. Rommel (eds.). *Biology of marine mammals*. Smithsonian Institution Press, Washington, pp. 485-563.
- Pinedo, M.C., R. Praderi & R.L. Brownell. 1989. Review of the biology and status of the franciscana *Pontoporia blainvillei*. In: W.F. Perrin, R.L. Brownell, Z. Kaiya & L. JIankang (eds.). *Biology and conservation of the river dolphins*. Occas. Papers IUCN SSC, 3: 46-51.
- Pinedo, M.C. & A.A. Hohn. 2000. Growth layer patterns in teeth from the franciscana, *Pontoporia blainvillei*: developing a model for precision in age estimation. *Mar. Mamm. Sci.*, 16: 1-27.
- Shaughnessy, P.D. 1993. Collection of material for the determination organochlorine and heavy metal levels. In: R.M. Laws (ed.). *Antarctic seals. Research method and techniques*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 194-198.
- Seixas, T.G., H.A. Kehrig, M. Costa, G. Fillmann, A.P.M. Di-Beneditto, C.M.M. Souza, E.R. Secchi, I. Moreira & O. Malm. 2007. Ecological and biological determinants of trace elements accumulation in liver and kidney of *Pontoporia blainvillei*. *Sci. Total Environ.*, 385: 208-220.
- Siciliano, S. 1994. Review of small cetaceans and fishery interactions in coastal waters of Brazil. *Rep. Int. Whal. Commn.*, 15: 241-250.
- Wood, C.M. & E.S. Van-Vleet. 1996. Cooper, cadmium and zinc in liver, kidney and muscle tissues of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) stranded in Florida. *Mar. Pollut. Bull.*, 32: 886-889.

Received: 21 December 2010; Accepted: 9 October 2011