Laboratorio de Química Ambiental
y Biogeoquímica

LAQAB

Facultad de Ciencias Naturales y Museo
Universidad Nacional de La Plata

Cambios bioquímicos en el sábalo (*Prochilodus lineatus*) relacionados con la ingesta de detritus urbano-industriales en el Río de la Plata y río Paraná

Lic. Eric Demian Speranza

Director: Dr. Juan Carlos Colombo

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Naturales

Facultad de Ciencias Naturales y Museo

Universidad Nacional de La Plata

Año 2008

Agradecimientos

A mi Director, Dr. Juan Carlos Colombo, por la supervisión general de mis actividades, especialmente al momento de la minuciosa revisión de informes y manuscritos, y el apoyo brindado durante todo el periodo de trabajo.

Al personal del LAQAB, en particular a las Licenciadas Natalia Cappelletti, Jimena Lasci, Carolina Migoya y Soledad Toranzo por su colaboración en las tareas de laboratorio, y a los Licenciados Claudio Bilos, Norberto Skorupka y Leandro Tatone y al señor Javier Ramirez por su colaboración en las campañas de muestreo.

A los Doctores Hugo Lopez, Gustavo Somoza y Alfredo Salibian por la constructiva revisión critica del manuscrito.

A la Comisión de Investigaciones Científicas de Buenos Aires por el otorgamiento de las Becas de postgrado para la realización de la Tesis.

A la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, sede de mis estudios de grado y posrgrado.

A los pescadores artesanales en particular a Héctor Moreira y Dionisio Gonzalez sin cuya colaboración este trabajo no hubiera sido posible.

A mi familia y seres queridos por el apoyo incondicional brindado durante mis estudios.

Índice

Resumen 8

Abstract 12

Capitulo I
Introducción 15

- Contaminación de los ecosistemas acuáticos 16
- Cuenca del Plata 17
- El Sábalo 20
- Biomarcadores 24
- Hipótesis y Objetivos 28

Capitulo II
Materiales y Métodos 30

- Muestreo 31
- Análisis bioquímicos 34
  - Sábalos 34
  - Contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos 45
- Análisis estadístico 47

Capitulo III
Características morfométricas básicas 48

Capitulo IV
Composición bioquímica general 55

- Músculo 56
- Hígado 62
- Sedimento, material en sedimentación y contenido estomacal 64

Capitulo V
Composición lipidica general 68

- Músculo 69
- Hígado 71
- Sedimento, material en sedimentación y contenido estomacal 73

Capitulo VI
Composición lipidica detallada: ácidos grasos 78

- Músculo 79
- Hígado 85
- Sedimento, material en sedimentación y contenido estomacal 89

Capitulo VII
Marcadores de contaminación cloacal: esteroles y alquilbencenos lineales 94

- Músculo 95
- Hígado 99
- Sedimento, material en sedimentación y contenido estomacal 100

Capitulo VIII
Conclusiones 102

Bibliografía citada 108

Índice de Figuras

Figura 1. Alteraciones antropicas del ciclo de la materia orgánica particulada 17
Figura 2. Cuenca hidrográfica del Río de la Plata. 18
Figura 3. Sistema fluvial del Río de La Plata 20
Figura 4. El sábalo (*Prochilodus lineatus*)..... 22
Figura 5. Estructura molecular de un acido graso típico:..... 27
Figura 6. Estructura molecular de los esteroles..... 27
Figura 7. Estructura de un alquilbenceno lineal 27
Figura 8. Estaciones de muestreo..... 32
Figura 9. Esquema de la trampa para la colección de material en sedimentación. 34
Figura 10. Diagrama analítico general para las muestras de músculo e hígado de sábalo 36
Figura 11. Separación por TLC de lípidos neutros. 38
Figura 12. Cromatogramas de ácidos grasos del músculo de Sábalo del Norte y Berazategui 43
Figura 13. Cromatogramas de esteroles en músculo de Sábalo del Norte y Berazategui. 44
Figura 14. Cromatogramas de alquilbencenos lineales en músculo de Sábalo del Norte y Berazategui 45
Figura 15. Relación Longitud-Peso de los sábalos..... 51
Figura 16. Indice hepatosomatico. 54
Figura 17. Relación entre el contenido lípidico y el contenido de agua del sábalo, de Scombridos, de la merluza y de la tilapia 59
Figura 18. Relación del contenido de lípidos con el peso..... 61
Figura 19. Composición bioquímica del contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos 65
Figura 20. Variación de la abundancia realtiva de las distintas clases de lípidos neutros con el contenido graso muscular. 71
Figura 21. Composición lipídica del contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos 74
Figura 22. Corrida de cromatografía en capa fina en la fase inicial del charring de lípidos en material en sedimentación y contenido estomacal 76
Figura 23. Corrida de cromatografía en capa fina de la fracción menos polar de los lipidos del material en sedimentación y el contenido estomacal 77
Figura 24. Composición de ácidos grasos del músculo..... 81
Figura 25. Variación de los ácidos grasos monoinsaturados y polinsaturados con el contenido lipídico muscular 82
Figura 26. Composición de ácidos grasos de los fosfolipidos y triglicéridos del músculo..... 83
Figura 27. Composición de ácidos grasos del hígado. 87
Figura 28. Variación de los ácidos grasos monoinsaturados y polinsaturados con el contenido lipídico hepático. 88
Figura 29. Composición de ácidos grasos de los fosfolipidos y triglicéridos del hígado. 89

Figura 30 Composición de ácidos grasos de sedimentos, material en sedimentación y contenido estomacal 92
Figura 31. Comparación del contenido de ácidos grasos y proporción de AGP del contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos. 93
Figura 32. Concentración de LABs y coprostanol en material en sedimentación y músculo 97
Figura 33. Composición de esteroles del músculo de sabalo..... 98
Figura 34. Composición de LABs del músculo de sabalo, el material en sedimentación y una mezcla comercial de LABs 98
Figura 35. Composición de esteroles del higado 99
Figura 36. Composición de esteroles del material en sedimentación y las heces humanas . . 100
Figura 37. Resumen esquemático de los resultados obtenidos.. 104

Índice de Tablas

Tabla 1. Relaciones frontales obtenidas con distintos sistemas de solventes. 37
Tabla 2. Ácidos grasos en la mezcla estándar utilizada en el presente estudio 40
Tabla 3. Características estructurales y espectrométricas de los esteroles analizados..... 41
Tabla 4. Composicion de la mezcla estándar de LABs. 42
Tabla 5. Características morfométricas de los Sábalos..... 50
Tabla 6. Valores del factor de condición relativo y del coeficiente de alometria reportados para sábalos de la cuenca del Paraná y Río de la Plata. 52
Tabla 7. Pendientes de la relación LP según sexo. 53
Tabla 8. Composición bioquímica en porcentaje del peso húmedo del músculo. 57
Tabla 9. Coeficientes de correlación entre los componentes bioquímicos en el músculo, el peso y la longitud de todos los sábalos 58
Tabla 10. Contenido lipídico en peces grasos comparados con el sábalo. 60
Tabla 11. Composición bioquímica en porcentaje del peso húmedo del hígado 63
Tabla 12. Coeficientes de correlación entre los componentes bioquímicos en el hígado, el peso y la longitud de todos los sábalos 64
Tabla 13. Composicion bioquímica del contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos. 66
Tabla 14. Composición de clases lipídicas como porcentaje de los lípidos neutros del músculo de sábalo 70
Tabla 15. Composición de clases lipídicas del hígado 72
Tabla 16. Composición lipídica del contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos 75
Tabla 17. Concentración de ácidos grasos del músculo del sábalo 80
Tabla 18. Concentración de ácidos grasos del hígado 86
Tabla 19. Concentración de ácidos grasos en el contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos 91
Tabla 20. Concentraciones de esteroles en müsculo, hígado y material en sedimentación. 95
Tabla 21. Concentraciones de LABs en músculo y material en sedimentación. 96

Resumen

Esta tesis presenta los resultados del estudio de los cambios bioquímicos del sábalo (*Prochilodus lineatus*) relacionados con la ingesta de detritus contaminados por efluentes urbano-industriales en el Río de la Plata y su principal afluente el río Paraná. La existencia simultánea de un pez detritívoro de gran abundancia, migratorio y especializado en la ingesta de materia orgánica, y de aportes masivos de barros urbano-industriales con contaminantes orgánicos persistentes como PCBs, DDTs e hidrocarburos en la franja metropolitana del Río de la Plata plantea una situación crítica que potencia la capacidad del sábalo como organismo acumulador de contaminantes persistentes. Por otra parte, esta fuerte carga contaminante produce efectos significativos en la composición bioquímica del sábalo e interfiere en procesos básicos como el funcionamiento hepático y metabolismo lipídico.

Con el objeto de evaluar las alteraciones en la composición bioquímica y metabolismo lipídico asociados a la exposición a contaminantes orgánicos persistentes en el sábalo, se analizaron los parámetros morfométricos y la composición bioquímica general, lipídica detallada y marcadores fecales específicos en músculo, hígado y contenido estomacal de 602 ejemplares colectados en proximidad al difusor cloacal de Berazategui, en la zona Sur del Río de la Plata desde Punta Lara a Atalaya y en 15 estaciones distribuidas sobre los ríos Paraná (n= 13) y Paraguay (n=2). Asimismo, con el objeto de caracterizar la dieta de los sábalos y las fuentes de materia orgánicas correlacionadas con el contenido estomacal de los peces, se realizaron los mismos análisis bioquímicos en sedimentos y material en sedimentación colectados en la costa de Berazategui y en el río Paraná.

Los análisis bioquímicos incluyeron la determinación del contenido de agua, lípidos y cenizas por gravimetría, de proteínas y glucidos por espectrometría, y la composición de los lípidos neutros por cromatografía en capa fina y de los ácidos grasos individuales por cromatografía gaseosa con detector de ionizacion de llama. Complementariamente, se analizaron marcadores de contaminación cloacal como los alquilbencenos lineales (LABs) precursores de detergentes, y esteroles, incluyendo al coprostanol (derivado del colesterol por reducción microbiana en el intestino), mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas.

En términos generales, la composición bioquímica y lipidica del músculo de los sábalos exhibe una clara variación con el peso corporal. A medida que el pez crece, el contenido lipidico aumenta (de 2,9±1,8 a 38±9,7 % del peso húmedo en individuos < 1 a > 4 kg), remplazando progresivamente al agua (de 78±1,4 a 49±8,7 %,

respectivamente). Este incremento del contenido lipidico esta relacionado a la rápida acumulación de triglicéridos, que constituyen 99±1,1 % de los lípidos neutros en sábalos con más de 10% de grasa muscular. Tendencias similares se observan en la composición de ácidos grasos, donde conforme aumenta el peso corporal, se incrementan las concentraciones de 18:1n-9 y 18:2. Asimismo, también se observa una covariacion inversa de los ácidos grasos monisaturados (AGM) y los ácidos grasos polinsaturados (AGP) y el contenido lipidico (r= 0,55 y r=-0,58 respectivamente) reflejando la diferencia en términos de composición de ácidos grasos, de los triglicéridos (ricos en AGM, particularmente 18:1n9) y los fosfolipidos (ricos en AGP).

El hígado, en contraste con el músculo, no presenta una clara tendencia de la composición bioquímica y lipidica con el peso corporal, observándose un perfil de clases lipidicas mas equilibrado, con mayores proporciones de ácidos grasos libres, colesterol libre y esterificado (34±19, 9,2±5,5 y 16±11 % de los lípidos neutros respectivamente). El perfil de ácidos grasos hepático presenta tendencias similares a las observadas en el músculo, pero con una mayor proporción de AGP (29 ± 8,7 % de los ácidos grasos).

Con respecto al estudio de la dieta, se hallaron marcadas diferencias, en términos de composición bioquímica y lipidica, entre los contenidos estomacales y el material en sedimentación respecto a los sedimentos. Los contenidos estomacales y el material en sedimentación tienen 2-5 veces mas glúcidos, proteínas y lípidos que los sedimentos, con proporciones 2-6 veces mayores de ácidos grasos libres y lípidos acilados. Esta diferencia indica que el sábalo consume preferencialmente el material floculento superficial, rico en materia orgánica fresca, y no el sedimento consolidado.

Superpuesta a la variación de la composición con la talla, se observan marcadas diferencias geográficas en las características morfométricas y la composición bioquímica y lipidica de los sábalos. En efecto, los sábalos de Berazategui se distinguen claramente de los del Paraná por su fuerte alometria positiva (pendiente de la relación longitud peso, *b*= 3,5 vs. 3,2). Esta diferencia se acentúa al compararlos con los sábalos del extremo Norte de la cuenca (b= 2,71), debido a la presencia en el cauce medio del río Paraná de sábalos migradores del río de La Plata. Además, los sábalos de Berazategui poseen, en comparación a los de Paraná un elevado índice hepatosomatico (1,4±0,48 vs. 0,74 ±0,29), lo que indica una hipertrofia del hígado posiblemente asociada a la intensificación de los mecanismos de biotransformación de xenobioticos.

Respecto a la composición bioquímica, los sábalos de Berazategui poseen un contenido lipidico muscular excepcionalmente alto (24±14 % peso húmedo), tanto en comparación al de los sábalos de Paraná analizados en este estudio (8,0±10 %) como

a los valores citados en la literatura para el sábalo y para otras especies. El contenido lipidico de los sábalos de Paraná se reduce aun mas al excluir un grupo de 22 individuos identificados en base a su fuerte alometria positiva, su alto contenido lipidico y sus altas concentraciones de PCBs e hidrocarburos como provenientes del Río de la Plata, asemejándose al de los sábalos del extremo Norte de la cuenca (4,6±4,9 vs. 3,4±3,2 %).

Los sábalos de Berazategui también se distinguen de los del Paraná por su perfil de ácidos grasos. Tanto en músculo como en hígado, estos sábalos tienen mayores proporciones de ácidos grasos de 18 carbonos (músculo: 53±6,8 vs. 40±10 %, hígado: 51±5,2 vs. 36±9,1 %.) y menores proporciones de AGP de cadena larga (>20 carbonos, músculo: 8,4±3,0 vs. 16 ± 8,2 %, hígado: 18 ± 7,0 vs. 24 ± 7,9 %). Esta alteración del perfil de ácidos grasos en Berazategui sugiere una interferencia de los xenobioticos sobre el metabolismo lipidico, posiblemente estimulación de la actividad Δ9 desaturasa que aumentaría los niveles de 18:1n9, e inhibición de la actividad Δ6 desaturasa resultando en una disminución de los AGP de cadena larga. El efecto general de esta interferencia es una acumulación de ácidos grasos de 18 carbonos que son rápidamente incorporados a triglicéridos para su almacenamiento en depósitos grasos musculares. Esta alteración metabólica constituiría un mecanismo de retroalimentación positiva ya que la acumulación de los triglicéridos en depósitos grasos musculares facilitaría la bioacumulacion de contaminantes hidrófobos, que a su vez intensificarían la interferencia sobre el metabolismo lipidico.

Las diferencias morfométricas y bioquímicas observadas entre los sábalos de Berazategui y los del Paraná reflejan el cambio desde una dieta pobre en materia orgánica en el Norte de la cuenca, al consumo de abundante materia orgánica de origen antropico en Berazategui. Esta interpretación es reforzada por la diferencia respecto a la composición bioquímica y lipidica de la dieta entre Berazategui y Paraná. Los contenidos estomacales, el material en sedimentación y los sedimentos de Berazategui tienen una mayor concentración de glucidos, proteínas y lípidos, observándose mayores proporciones de componentes labiles tanto en la composición de clases lipidicas (triglicéridos y ácidos grasos libres) como en la composición de ácidos grasos poliinsaturados (AGP).

Los aportes antropogénicos en la dieta de los sábalos de Berazategui son confirmados por los altos niveles de LABs y coprostanol en el material en sedimentación (21±15 y 8,4±6,4 μg/g peso seco, respectivamente) que son bioacumulados en el músculo de los sábalos (44±35 y 97±49 μg/g peso seco), evidenciando la importancia del emisario cloacal de Berazategui como fuente de materia orgánica fresca. Los sábalos de Paraná, por el contrario, poseen

concentraciones proporcionalmente más elevadas de fitoesteroles indicando una mayor incidencia de los aportes vegetales en su dieta.

En resumen, la presencia de abundante materia orgánica fresca, de origen antrópico proveniente de efluentes urbano-industriales, permite a los sábalos de Berazategui un rápido engorde basado en la acumulación de triglicéridos en depósitos grasos musculares, en contraste con los sábalos de Paraná, cuya dieta se basa en el consumo de materia orgánica de origen vegetal. La alteración del perfil de ácidos grasos en estos sábalos sugiere un mecanismo de retroalimentación positiva, en el cual la interferencia de los xenobioticos en el metabolismo lipídico resultaría en una mayor acumulación de grasas musculares lo que a su vez facilitaría la bioacumulacion de contaminantes orgánicos lipofilicos.

Abstract

This thesis presents the results of the study of the biochemical changes of the *sábalo* (*Prochilodus lineatus*) related to the consumption of anthropogenic detritus in the Río de la Plata and its main affluent, the Paraná River. The simultaneous coexistence of a highly abundant and migratory detritivorous fish, specialized in the consumption organic matter, and massive contributions of urban and industrial sludges polluted with persistent organic substances such as PCBs, DDTs and hydrocarbons in the metropolitan zone of the Río de la Plata, poses a critical situation which enhances sábalo ability to accumulate persistents pollutants. Moreover, this severe pollutant load causes significant effects in the biochemical composition of the *sábalo* and interferes with basic mechanisms such as the hepatic function and the metabolism of lipids.

In order to evaluate posible alterations of the biochemical composition and lipid metabolism associated to the exposure to persistent organic pollutants in the *sábalo*, morphometrical parameters, the general biochemical composition, the detailed lipid composition and specific faecal markers were analyzed in muscle, liver and stomach contents of 602 individuals collected in proximity to Berazategui sewer outfall, in the South area of the Rio de La Plata, from Punta Lara to Atalaya, and in 15 sampling stations distributed along the Paraná (n= 13) and Paraguay (n= 2) Rivers. Likewise, in order to characterise the *sábalo* diet and the organic matter sources correlated with the stomach content of this fish, the same biochemical analyses were accomplished in sediments and settling material collected in Berazategui coast and in the Paraná river. Biochemical analyses included the determination of water, lipid and ash content by gravimetry, proteins and carbohydrates by spectrometry, neutral lipid composition by thin-layer chromatography and the fatty acid composition by gas chromatography with flame ionization detector. In addition, sewage markers such as lineal akylbenzenes (LABs) which are detergent precursors, and sterols, including coprostanol formed by microbial reduction of cholesterol in the intestine, were analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry.

In general, the biochemical and lipid composition of *sábalo* muscle exhibits a clear variation with body weight. As fish grows, lipid content increases (from 2.9±1.8 to 38±9.7 % on a wet weight basis, in individuals weighing < 1 to > 4 kg) progressively replacing water (from 78±1.4 to 49±8.7 %, respectively). This increase in lipid content is related to a rapid triglyceride accumulation, which accounts for 99±1.1 % of neutral lipids in sábalo having more than 10% of muscular fat. Similar trends were observed in the fatty acid composition which showed a rapid increase 18:1n-9 and 18:2 as body

weight rises. Likewise, an inverse covariation of monounsaturated fatty acids (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) with lipid content is observed (r= 0.55 y r=-0.58 respectively), reflecting the difference, in terms of fatty acid composition, of triglycerides (rich in MUFA, particularly 18:1n-9) and phospholipids (rich in PUFA)

In contrast to the muscle, the liver do not shows a clear trend between biochemical or lipid composition and body weight, and it has a more balanced lipid profile, with higher proportions of free fatty acids, free and sterified cholesterol (34±19, 9.2±5.5 y 16±11 % of neutral lipids respectively). The hepatic fatty acid profile exhibits similar trends to those observed in muscle, but it has a higher proportion of PUFA (29 ± 8.7 % of fatty acids).

Regarding the study of the *sábalo* diet, there were marked differences between the biochemical and lipid composition of the stomach contents and settling material and those of sediments. In fact, the stomach contents and settling material have 2-5 times more carbohydrates, proteins and lipids than sediments, with 2-6 times higher free fatty acids and acylated lipids proportions. This differences indicates that the sábalo preferentially feeds on the organic-rich, flocculent layer deposited in the sediment-water interface, rather than on consolidated sediments.

Superposed to the variation observed with body weight, marked geographical differences were observed in morphometrical characteristics and the biochemical and lipid composition of the *sábalo*. In fact, sábalos from Berazategui were clearly distinguished from those from Paraná by having a strong positive allometry (length-weight relationship slope, *b*= 3.53 vs. 3.16). This difference is further emphasized when they are compared with sábalos from the extreme north reaches of the basin (*b*= 2.71), owing to the presence of migratory *sábalos* from the rio de la Plata in the middle section of the Paraná River. In addition, the sábalos from Berazategui have a higher hepatosomatic index than those from Paraná (1.4±0.48 vs. 0.74 ±0.29), indicating a liver hypertrophy possibly associated to the intensification of xenobiotic biotransformation mechanisms.

Regarding the biochemical composition, the *sábalos* from Berazategui have an exceptionally high muscular lipid content (24±14 % wet weight), in comparison to both the *sábalos* from Paraná analyzed in the present study (8.0±10 %) and the values reported in the literature for sábalos and for other species. The lipid content of the *sábalos* from Paraná is further reduced to values similar to those from the extreme North reaches of the basin (4.6±4.9 vs. 3.4±3.2 % in the North) by excluding a group of 22 fish, identified as migratory individuals from the Rio de la Plata on the basis of their strong positive allometry, high lipid content and high PCB and hydrocarbon concentrations.

Sábalos from Berazategui are also differenciated from those from Paraná by their fatty acid profile. Both in muscle and in liver, these fish have higher proportions of 18 carbons fatty acids (muscle: 53±6.8 vs. 40±10 %, liver: 51±5.2 vs. 36±9.1 %) and lower proportions of long-chain PUFA (>20 carbons, muscle: 8.4±3.0 vs. 16 ± 8.2 %, liver: 18 ± 7.0 vs. 24 ± 7.9 %). This alteration on fatty acid profile in Berazategui suggests an interference of xenobiotics on lipid metabolism, consisting basically in the stimulation of Δ9 desaturase activity, which increases 18:1n-9 levels, and an inhibition Δ6 desaturase activity, resulting in a reduction of long-chain PUFAs. The general result of this interference is the accumulation of fatty acids with 18 carbons which would be rapidly incorporated in triglycerides and stored in muscular fat depots. This metabolic alteration may constitute a positive feedback mechanism since the triglyceride accumulation in muscular fat depots facilitates the organic pollutant bioaccumulation, which in turn may intensify the interference in lipid metabolism.

The morphometrical and biochemical differences observed between *sábalos* from Berazategui and Paraná reflects the passage from an organic matter poor diet in the North of the basin to the consumption of abundant anthropogenic organic matter in Berazategui. This interpretation is reinforced by the difference, in terms of biochemical and lipid composition, of the diet between Berazategui and Paraná. The stomach contents, the settling material and the sediments from Berazategui have a higher concentration of carbohydrates, proteins and lipids, with higher proportions of labile components both in lipid class composition (triglycerides and free fatty acids) and in fatty acid composition (PUFA).

The anthropogenic contributions in the diet of *sábalos* from Berazategui are corroborated by the high LABs and Coprostanol levels in the settling material (21±15 y 8.4±6.4 ug/g dry weight respectively) which are bioaccumulation in *sábalo* muscles (44±35 y 97±49 ug/g dry weight), reflecting the importance of Berazategui sewer outfall as a source of fresh organic matter. Sábalos from Paraná, on the contrary, have proportionally higher phytosterol concentrations, indicating a higher incidence of plant contributions in their diet.

In summary, the presence of abundant fresh anthropogenic organic matter, coming from urban and industrial effluents, allows *sábalos* from Berazategui a rapid fattening, based on triglyceride accumulation in muscular fat depots, in contrast to *sábalos* from Paraná, whose diet is based on the consumption of organic matter of vegetal origin. The fatty acid profile alteration in these *sábalos* suggests a positive feedback mechanisms by which the xenobiotic interference in lipid metabolism may results in an enhanced muscular fat accumulation, which in turn may facilitate the accumulation of the abundant lipophilic organic contaminants discharged to the coast.

Capítulo I

Introducción

Contaminación de los ecosistemas acuáticos

El asentamiento de grandes núcleos urbanos en los márgenes de los cuerpos de agua es un fenómeno global, particularmente intenso en Sudamérica, que produce graves alteraciones en los ambientes acuáticos debido al vertido masivo de efluentes urbano-industriales. Grandes cantidades de materia orgánica antropogénica son aportadas a los ecosistemas costeros constituyendo un significativo subsidio de energía que puede causar aumento de la producción secundaria y cambios en la estructura trófica (deBruyn et al., 2003; Smith et al., 1999). Este desequilibrio es normalmente compensado por el ecosistema a través de la exportación de biomasa que se produce por medio de migraciones de especies claves, expandiendo así el área afectada por el volcado de efluentes (deBruyn et al., 2004). Además de ser fuente de materia orgánica y de nutrientes, los efluentes urbano-industriales aportan también grandes cantidades de contaminantes, tales como hidrocarburos alifáticos y aromáticos, bifenilos policlorados, pesticidas organoclorados y metales pesados junto con organismos patógenos (Harrison et al., 2006; Mills y Chichester, 2005; Mallin et al., 2007). El análisis de la composición isotópica ha revelado que el carbono y nitrógeno de origen cloacal son asimilados de manera preferencial por los organismos bénticos donde pueden constituir más del 60% del pool total, favoreciendo así la transferencia de contaminantes a lo largo de la cadena trófica hacia los niveles superiores (deBruyn y Rasmussen, 2002). La Figura 1 presenta la alteración del ciclo del carbono y nitrógeno producida por el vuelco de efluentes.

Los efectos de la contaminación en los ambientes acuáticos son complejos, afectando todos los niveles de la organización biológica: desde la célula (p. ej. estimulación de la síntesis de vitelogenina, formación de aductos de ADN, proliferación del retículo endoplasmico), los tejidos (p.ej. ramificación anormal de los filamentos branquiales, necrosis y exfoliacion del epitelio branquial, desarrollo de inclusiones en el epitelio intestinal), los órganos (p.ej. hipertrofia hepática, hiperplasia tiroidea, reducción de las gónadas), los individuos (p.ej. incremento del índice de condición, retraso de la madurez sexual), la población (reducción del tamaño poblacional, alteración de la distribución de frecuencias de longitud) y la comunidad (p.ej. aumento de las poblaciones de peces omnívoros, disminución de predadores tope y reducción de la riqueza de especies) (Hawkes, 1980; Mallatt, 1985; Tremblay y Van der Kraak, 1999; Siligato y Bohmer, 2001; Porter y Janz 2003; van der Oost et al., 2003; Schmitt et al, 2005).

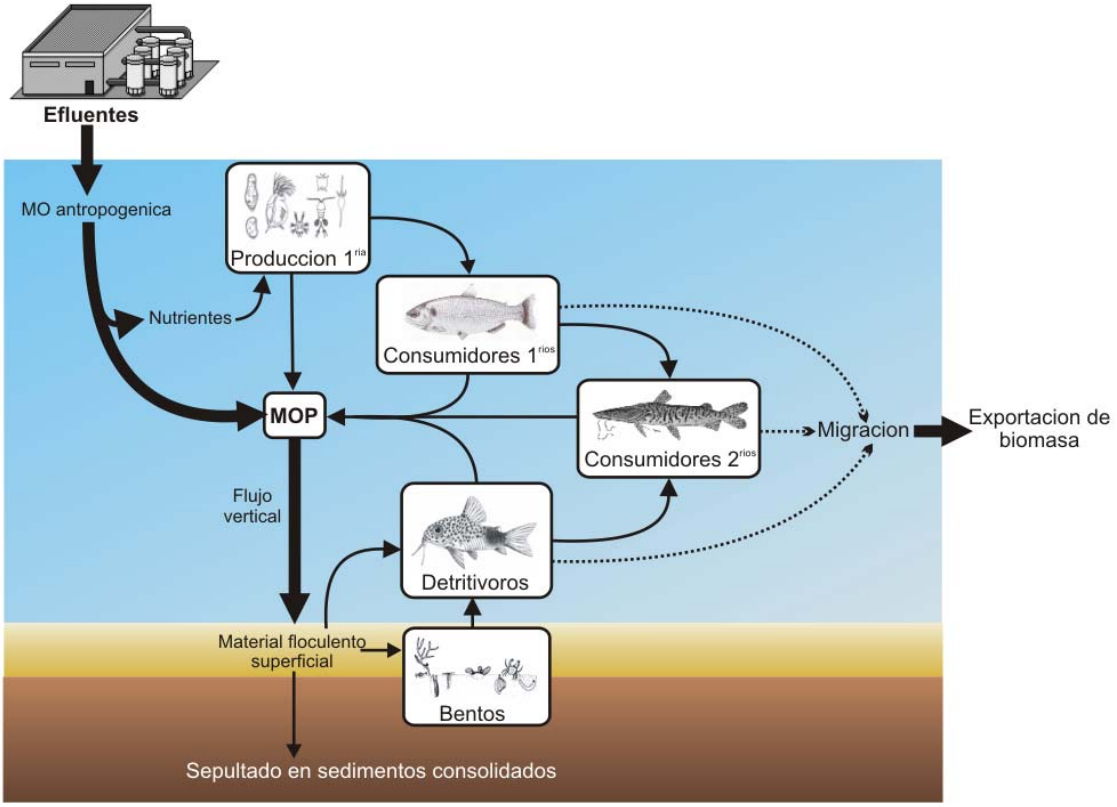


Figura 1. Alteraciones del ciclo de la materia orgánica particulada (MOP) en ambientes acuáticos afectados por el vuelco de efluentes urbano-industriales.

Cuenca del Plata

En la Argentina, uno de los ambientes acuáticos más afectados por el volcado masivo de efluentes urbano-industriales, es la Cuenca del Plata, particularmente el río de la Plata. Este sistema fluvial, formado por los ríos Paraná y Uruguay, con sus respectivos tributarios, que confluyen originando el estuario del Río de La Plata con una cuenca hidrográfica de 3170000 km^2, es el segundo más extenso de Sudamérica (Figura 2).

Figura 2. Cuenca hidrográfica del Río de la Plata.

El río Paraná (Figura 3A) con un largo de 3740 Km. y una cuenca de más de 1500000 km^2 es el componente mas importante del sistema (Paoli et al., 2000). El amplio valle de inundación que desarrolla el río Paraná sobre su margen derecha (Figura 3B) es una estructura geomorfologica compleja, con una amplia variedad de cuerpos de agua temporales y permanentes, cuya forma depende de la dinámica de transporte y deposición de sedimentos, y que influye fuertemente en las características geoquímicas del río (Degens et al., 1991; Mc Clain, 2002). El río Paraná transporta cada año 500-880 km^3 de agua, 90 millones de toneladas de sólidos suspendidos y 8 toneladas de carbono orgánico total. La gran carga sedimentaria del Paraná es aportada por uno de sus afluentes, el río Bermejo (Figura 3C), que si bien aporta solo 5 % del agua del Paraná, contribuye con más del 80% de los sedimentos finos, originado por la erosión y transporte de material proveniente de la pre-cordillera (Amsler y Prendes, 2000). Esta diferencia en el origen de los sedimentos y del agua del Paraná medio, proveniente principalmente de los numerosos afluentes que el río recibe en la planicie Brasileña, resulta en una gran variabilidad espacio-temporal en las condiciones hidrológicas del río.

El Río de la Plata es un extenso estuario de 320 Km. de largo y 35000 km^2 de superficie (Guerrero et al., 1997). Su franja costera recibe los efluentes de la ciudad de Buenos Aires y sus alrededores, que albergan en conjunto alrededor de 14 millones de personas, y está fuertemente contaminada con metales pesados, hidrocarburos alifáticos y aromáticos y contaminantes orgánicos persistentes (COPs), tales como los bifenilos policlorados, pesticidas organoclorados, dioxinas, furanos y éteres de bifenilos polibrominados, que por su alta lipofilicidad y escasa degradabilidad se acumulan en los sedimentos por décadas (Colombo et al., 1989, 1990, 1995, 1997b, 2000, 2005 a y b; Cappelletti et al., 2005, 2006). Numerosos efluentes son vertidos al Río de La Plata, de manera directa o a través de ríos, arroyos y canales como el río Reconquista, río Matanza-Riachuelo, Arroyo Sarandi, Canal aliviador Jiménez y el emisario cloacal de Berazategui (Figura 3D). Este ultimo resume una red de efluentes cloacales de mas de 7000 Km. de conducto, que se extiende bajo la Ciudad de Buenos Aires y el Sur y el Oeste del Conurbano Bonaerense, y que vierte 2.2 millones de m^3/día de efluentes sin tratar a 2.5 Km. de la costa (Malpartida, 2001). En proximidad a este emisario cloacal, se han medido elevados flujos verticales de carbono orgánico (29±26 $g/m^2.día^{-1}$), hidrocarburos alifáticos (350±340 $mg/m^2.día^{-1}$) y bifenilos policlorados (26±19 $\mu g/m^2.día^{-1}$, Colombo et al., 2005a y b).

Figura 3. Sistema fluvial del Río de La Plata. A: Cauce principal del río Paraná a la altura de la ciudad de Rosario. B: Planicie aluvial del río Paraná: Esteros de Victoria. C: El río Bermejo, principal fuente de sedimentos del Paraná medio. D: emisario cloacal de Berazategui, la flecha señala la torre que marca el extremo del conducto; hacia la derecha se observa la pluma de aguas negras del efluente cloacal.

El Sábalo

La abundante y variada ictiofauna de la cuenca cuenta con una especie de hábito detritívoro, el sábalo (*Prochilodus lineatus*; Valenciennes, 1847; sinónimo de *Prochilodus platensis* (Lopez et al., 1993) que potencia los efectos negativos producidos por el volcado de efluentes. Dentro del Orden Caraciformes, el género *Prochilodus* consta de 14 especies distribuidas por todo el subcontinente sudamericano y que son de gran importancia ecológica y económica. El sábalo es el representante más austral del género y su distribución se extiende prácticamente sobre toda la cuenca del Plata (Figura 4A). Es la especie más abundante de la cuenca, pudiendo constituir más del 60% de la biomasa ictica (Bonetto et al., 1969). El sábalo es un pez de tamaño medio, que puede alcanzar una longitud 75 cm. y un peso de 10 kg. Si bien los adultos son activos nadadores que habitan las aguas abiertas de los ríos de la cuenca, las larvas y juveniles se encuentran en los ambientes leníticos

conectados a los ríos, donde también ingresan en forma periódica los adultos. Una de las características más sobresalientes de esta especie es su especialización a un régimen de alimentación iliofago. Posee una boca protáctil con labios gruesos y una cavidad bucal con forma de "V" invertida, en la cual se inicia la separación de las partículas finas de las gruesas del alimento que luego continúan los procesos digitiformes del aparato branquial (Oliveros y Occhi, 1972). El estomago es bicameral, con una porción cardiaca, que actúa como cámara de almacenamiento, y una porción pilorica, que gracias a su gruesa pared muscular, realiza la digestión mecánica (Domitrovic, 1983). Del bulbo de unión entre estomago e intestino surgen numerosos ciegos pilóricos, probablemente vinculados a la digestión química del alimento (Sverlij et al., 1993). El intestino es más corto que el de otros peces detritivoros, pero presenta pliegues en la mucosa que aumentan la superficie de absorción (Angelescu y Gneri, 1949). Estas adaptaciones anatómico-fisiológicas a la detritivoria resultan en una elevada eficiencia de absorción de la materia orgánica que puede llegar al 50-60%, y son acompañadas por adaptaciones comportamentales orientadas a la búsqueda de sitios ricos en detritus orgánico (Bowen, 1983; Bowen et al., 1984; Gneri y Angelescu, 1951).

El sábalo realiza extensas migraciones trofico-reproductivas intimamente vinculadas al ciclo hidrológico del río (Agostinho et al., 2004). Los sábalos del Río de la Plata se desplazan en otoño aguas arriba, pudiendo recorrer más de 1000 km. antes de alcanzar las zonas de reproducción. Sus larvas y juveniles se alejan del cauce principal y al subir el nivel hidrométrico, entran a las lagunas del valle aluvial, donde permanecen uno o dos años. Allí también pueden ingresar algunos adultos, para reponer energía luego del esfuerzo migratorio y reproductivo (Agostinho et al. 1993, 2003). En primavera, los sábalos inician la migración aguas abajo, en dirección a las áreas tróficas del río Paraná inferior y del Río de la Plata. Patrones similares de migración se observaron en los ríos Uruguay, Paraguay y Pilcomayo (Agostinho et al., 2003; Zaniboni y Schulz, 2003; Bayley, 1973). Debido a sus hábitos migratorios hay un gran flujo génico entre sus poblaciones que no se diferencian muy claramente entre sí (Revaldaves et al., 1997; Sivasundar et al., 2001). La dinámica migratoria de los sábalos condiciona la de sus predadores, el surubí (*Pseudoplatystoma* sp.) y el dorado (*Salminus maxillosus*), cuyos ciclos de vida y migraciones están sincronizados a los del sábalo (Oldani, 1990). Por ello, el sábalo ocupa un rol clave en la estructura trófica de la cuenca al transferir materia y energía desde los detritos acumulados en los sedimentos hacia los niveles superiores. A esta relevancia ecológica se suma la económica ya que el sábalo es el pez de agua dulce de mayor importancia pesquera

en la Argentina, siendo explotado artesanal o industrialmente en toda su área de distribución (Sverlij et al., 1993). Las artes de pesca empleadas para su captura varían según el área, siendo las más habituales los trasmallos, los mallones y las redes de arrastre (Sverlij et al., 1993, Figura 4B). El sábalo se usa para el consumo fresco y para la producción de derivados, como grasa y aceite (Brenner, 1953). Una importante proporción de la producción pesquera del sábalo, que exhibió un claro crecimiento en los últimos años, es destinada a la exportación: en el 2005 se exportaron 27.825 toneladas, por un valor de U$S 9,5 millones, siendo Colombia y Nigeria los destinos mas importantes (62 y 27 % del total exportado, respectivamente, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos: www.sagpya.mecon.gov.ar).

Figura 4. A: sábalo adulto (*Prochilodus lineatus*). B: Pesca de sábalo con red de arrastre en el Río de la Plata. C. Muestreo de sábalo en campo.

La existencia de un detritívoro especializado como el sábalo alimentándose en una zona fuertemente contaminada como la zona costera del Río de la Plata plantea una situación crítica desde el punto de vista ambiental. En efecto, la búsqueda activa por parte del sábalo de detritus enriquecido en materia orgánica (efluentes urbano-industriales) sumado a su especialización para extraer la fase orgánica, los convierte en concentradores eficientes que biomagnifican los contaminantes hidrófobos

adheridos a las partículas (Colombo et al., 2007a y b). Por esta razón los sábalos que se alimentan en la franja costera metropolitana de la ciudad de Buenos Aires presentan niveles de PCBs 2-6 veces más elevados que los limites aconsejados para el consumo humano, motivo por el cual la Dirección de Pesca del Ministerio de la Producción de la Provincia de Buenos Aires ha decretado la veda de su pesca. El consumo de estos peces, de manera directa o a través de derivados como harina de pescado, predadores naturales, o de animales domésticos alimentados con sábalos, los convierte en una vía crítica de contaminación para el hombre. Además, las migraciones del sábalo son un mecanismo rápido de difusión de la señal de contaminación cientos de kilómetros aguas arriba por el Paraná. Esto se ha constatado en Sábalos colectados en el Paraná medio a 800 Km de Buenos Aires que presentaron concentraciones de PCBs comparables a las registradas en el sector más contaminado del Río de la Plata (Colombo et al., 2004). El consumo sábalos contaminados por parte de los grandes predadores de la cuenca (surubí y dorado) podría resultar en un fenómeno de biomagnificacion de la señal de COPs a través de la cadena trófica (Gobas et al., 1993).

Como se mencionó anteriormente, el vertido de materia orgánica antropogénica produce alternaciones biogeoquímicas en la zona costera modificando cuantitativa y cualitativamente el ciclo del carbono y nitrógeno. Así, la materia orgánica junto a los contaminantes asociados adheridos a las partículas, decantan hacia el fondo donde son ingeridos por el Sábalo. De esta manera, la señal antrópica puede alterar la composición bioquímica y el crecimiento de estos peces. En virtud del carácter lipofílico de los COPs los cambios en la composición y el metabolismo lipídico son particularmente importantes, dado que los lípidos facilitan su absorción intestinal (Van Veld, 1990) y regulan su bioacumulación y toxicidad (Gobas y Mackay, 1987; Geyer et al., 1997). Por otra parte, los COPs pueden a su vez interferir en el metabolismo lipídico, aumentando el contenido total de grasas (Addison, 1982). Esta aparente retroalimentación positiva podría tener un valor adaptativo para los sábalos que se alimentan en sitios contaminados como Berazategui pero con abundante materia orgánica de fácil acceso. En efecto, se ha reconocido que las mayores reservas lipídicas permiten secuestrar las sustancias tóxicas en compartimentos con bajas tasas de recambio incrementando la tolerancia al toxico lo que podría resultar en la denominada “supervivencia del más gordo” (Lassiter y Hallam, 1990; Geyer et al., 1994). Experiencias de exposición en laboratorio han efectivamente indicado que la concentración letal media (LC50) del lindano aumenta en relación al contenido lipídico de los peces (Geyer et al., 1993).

Biomarcadores

Si bien las alteraciones de la composición bioquímica general y lipidica de los peces, material particulado y sedimentos subyacentes proveen información importante para evaluar la alteración del ecosistema acuático por los efluentes urbano-industriales, es útil complementar esta información con indicadores de fuentes más específicos. Los marcadores moleculares o biomarcadores son un grupo heterogéneo de compuestos que se caracterizan por su especificidad respecto a su fuente y por su persistencia ambiental (Eganhouse, 1997). Gran parte de los lípidos son reconocidos como buenos indicadores dado que son más persistentes a la degradación que las proteínas y los glúcidos y muestran un cierto grado de especificidad con respecto a su fuente biológica (Saliot et al., 1991). A diferencia del perfil de clases lipídicas de tejidos de peces, que es relativamente conservativo y simple, el de los sedimentos es complejo y provee información acerca de las fuentes y la alteración diagenética de la materia orgánica (Meyers e Ishiwatari, 1993). Entre los marcadores lipídicos más comunes se hallan los ácidos grasos, que se clasifican según el largo de cadena carbonada, la cantidad y configuración de insaturaciones y eventualmente, su sustitución (Figura 5). La nomenclatura habitualmente usada es: *A*:*B* n-*c*, donde '*A*' es el largo de la cadena, '*B*' es el numero de insaturaciones, y '*c*' es la posición de la ultima insaturación, contando desde su extremo metilo terminal. Los ácidos grasos no son indicadores muy específicos de fuentes de materia orgánica ya que tienen una amplia distribución en los organismos y son relativamente poco persistentes. En general, los ácidos de 12 a 18 carbonos son atribuidos a fuentes autóctonas (plancton), mientras que los de más de 20 carbonos se atribuyen a un origen aloctono (plantas terrestres) y los ramificados iso y anteiso son considerados de origen bacterial (Cranwell, 1982). Debido a la degradación diferencial de los ácidos grasos según el largo de cadena y el grado de insatauración, el perfil de ácidos grasos puede ofrecer información útil acerca del grado de degradación de la materia orgánica (Muri et al., 2004).

La composición de esteroles es más específica respecto de las fuentes de materia orgánica que contribuyen al sedimento (Huang y Meinschein, 1976; Colombo et al., 1996; Mudge y Gwyn Lintern, 1999; Mudge y Duce, 2005). Los esteroles se diferencian, a partir de una estructura básica común, según los sustituyentes de la cola hidrocarbonada, el grado de oxidación y la configuración de sus enlaces, y no existe

consenso respecto a una nomenclatura abreviada de los mismos (Figura 6 y Tabla 3). En general, los esteroles de 27 carbonos se asocian a aportes planctónicos mientras que los de 29 carbonos suelen estar asociados con aportes de vegetales terrestres (Huang y Meinschein, 1979). Además, hay esteroles que son marcadores más o menos específicos de algunos organismos, por ejemplo 4-desmetilesteroles (algas), brassicasterol (diatomeas), β-sitosterol (plantas) y ergosterol (hongos; Volkman et al., 1986; Puglisi et al., 2003). Los esteroles fecales son trazadores de contaminación cloacal ampliamente utilizados, en especial el coprostanol, (5β-colestan-3β-ol), que es formado en el intestino delgado de mamíferos por reducción microbial del colesterol y que representa típicamente 60% de los esteroles de las heces humanas (Brown y Wade, 1984; Pocklington et al., 1987; Takada y Eganhouse, 1998). A diferencia del colesterol, el coprostanol es poco absorbible para el intestino y se excreta masivamente con las heces (Veiga et al., 2005). Si bien sufre degradación bajo condiciones aeróbicas, una vez sepultado en los sedimentos, donde también puede producirse por hidrogenación del colesterol, persiste por periodos prolongados (Le Blanc et al., 1992; Colombo et al., 1997a). El origen del coprostanol no está exclusivamente ligado al intestino de humanos, sino que puede provenir de otros organismos tales como aves y mamíferos o por reducción in situ del colesterol (en la columna de agua o en sedimentos). Sin embargo, se considera que estas contribuciones no antropogénicas de coprostanol son insignificantes en los ambientes urbanos (Takada y Eganhouse, 1998). Existen otros esteroles fecales, como el etilcoprostanol (24-etil-5β-colestan-5β-ol) y el epicoprostanol (5β-colestan-3α-ol), pero dado que se encuentran en importantes proporciones en bacterias, protozoos algas y heces de varios animales (p. ej. aves, perros, gatos y cerdos), resultan menos específicos como marcadores antropogénicos (Takada y Eganhouse, 1998; Leeming et al., 1996). Numerosos estudios han determinado las concentraciones de esteroles fecales en agua, material particulado y sedimentos, observándose además gradientes de concentración de coprostanol en torno a los emisores cloacales (Takada y Eganhouse, 1998; Jeng et al., 1996; Chan et al., 1998). A pesar de que la medición de esteroles fecales en bivalvos ha demostrado ser útil para evaluar contaminación cloacal (Sherblom y Eganhouse, 1991), no hay antecededentes del uso de esteroles fecales como marcadores antropogénicos en peces.

Otros útiles trazadores de aportes cloacales son los alquilbencenos lineales (LABs) que son precursores en la fabricación de detergentes (Figura 7). Los LABs son convertidos industrialmente en alquilbencen sulfonatos lineales (LAS), los surfactantes iónicos mas usados, pero dado que el proceso de sulfonacion no es completo, los

detergentes comerciales poseen residuos de LABs en un rango de 20-800 μg/g (Takada y Eganhouse, 1998). La producción industrial de LABs genera mezclas de 26 congéneres de fenilalcanos secundarios, que se diferencian según el largo de cadena (de 10 a 14 carbonos) y la posición del fenilo (2 a 7; Takada y Eganhouse, 1998, Eganhouse, 1986). Normalmente la formula molecular de los LABs se expresa como *n*-C_m, donde 'n' es la posición del fenilo y 'm' es el largo del alquilo. Los LABs son altamente hidrófobos (coeficiente de reparto octanol-agua: log Kow 6.8-9.9; Sherblom et al., 1992) por lo que se asocian a las partículas y la materia orgánica, y son habitualmente usados como marcadores cloacales en sedimentos (Eganhouse, 1986; Eganhouse et al., 1988; Gustafsson et al., 2001; Valls et al., 1989; Zeng et al., 1997). A pesar de que la determinación de LABs en invertebrados acuáticos ha sido bastante utilizada para evaluar la contaminación cloacal (Serrazanetti et al., 1994; Sherblom y Eganhouse, 1991; Tsutsumi et al., 2002), los mediciones de LABs en peces son escasas (Phillips et al., 2001). A diferencia de los esteroles, los LABs son sustancias casi exclusivamente antropogénicas y por ende su señal no posee interferencia debida al aporte de fuentes naturales. Solo hay evidencias de escasas concentraciones de LABs no antropogénicos en crudos y sedimentos, expuestos a condiciones diagenéticas muy particulares (Takada y Eganhouse, 1998). Los LABs son además marcadores de contaminación cloacal altamente específicos, ya que su uso fuera de la industria de detergentes y surfactantes (p. ej. como fluido de perforación en plataformas offshore) es limitado (Takada y Eganhouse, 1998). Al igual que los esteroles fecales, los LABs son altamente resistentes a la degradación bajo condiciones anaeróbicas, siendo preservados por décadas una vez sepultados en los sedimentos (Eganhouse et al., 1983). Una importante característica de los LABs es la degradación selectiva de los congéneres externos (2C y 3C) respecto a los internos (5C, 6C y 7C), generalmente expresada mediante el índice I/E para C12 LABs ($\sum$ 5,6C/$\sum$2,3,4C; Eganhouse, 1986). Este índice ronda la unidad (0.7-1) en los detergentes pero aumenta en material particulado y sedimentos hasta valores cercanos a 7, lo que resulta de utilidad para inferir el grado de degradación de la materia orgánica cloacal (Tsutsumi et al., 2002; Isobe et al., 2004).

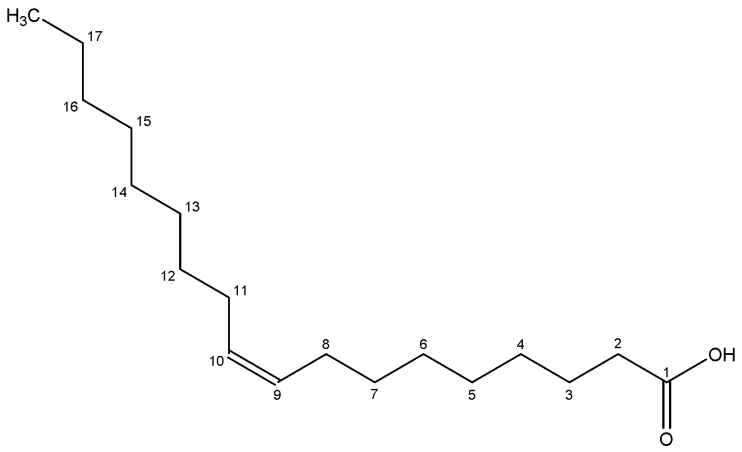


Figura 5. Estructura molecular de un acido graso típico: cis-18:1 n-9 (acido oleico).

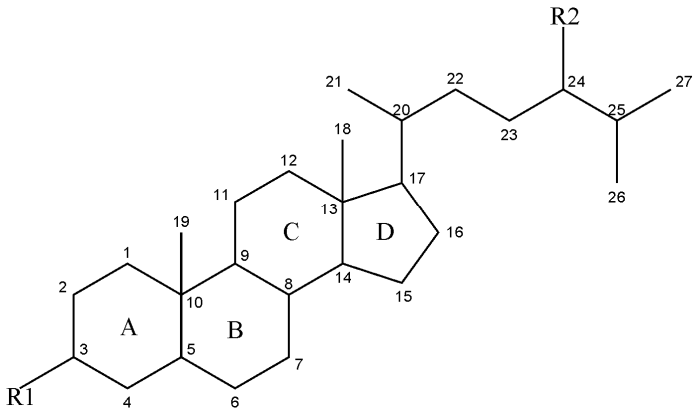


Figura 6. Estructura molecular de los esteroles (sustituciones posibles en R1 y R2 en Tabla 3).

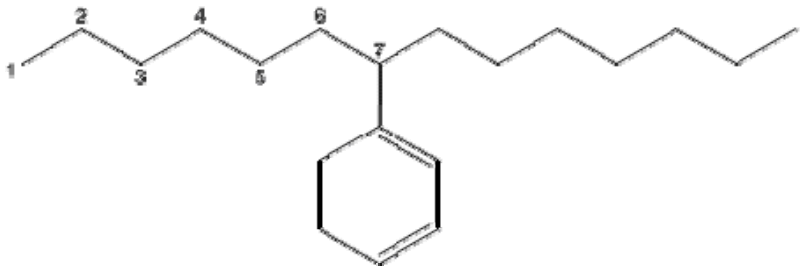


Figura 7. Estructura de un alquilbenceno lineal (LAB): 7-C_{14}.

Hipótesis y Objetivos

En base a la problemática descripta precedentemente se plantean las siguientes hipótesis:

1. El sábalo consume los detritos floculentos no consolidados, que poseen un mayor contenido orgánico que los sedimentos subyacentes.
2. Las descargas de efluentes urbano-industriales en la zona metropolitana del Río de La Plata alteran la composición biogeoquímica de los sedimentos y del material en sedimentación.
3. En Berazategui, la optimización energética en la dieta de los sábalos los lleva a alimentarse de barros contaminados por efluentes urbano-industriales ricos materia orgánica de fácil asimilación.
4. La abundancia de materia orgánica en la dieta de los sábalos de Berazategui favorece el rápido engorde de los peces y facilita la acumulación paralela de los COPs lipofilicos y otros trazadores cloacales como esteroles fecales y alquilbencenos lineales (LABs).
5. Los contaminantes orgánicos producen una alteración en el metabolismo lipidico del sábalo que favorece la acumulación de grasas musculares, lo que a su vez facilita la bioacumulacion de contaminantes orgánicos lipofilicos, constituyendo un mecanismo de retroalimentación positiva.

El objetivo general de este trabajo es evaluar los efectos de la ingesta de detritus urbano-industriales en la composición bioquímica general, lipídica detallada y de trazadores específicos en Sábalos del Río de la Plata y Río Paraná. A tal fin, se fijaron los siguientes objetivos específicos:

- Analizar la variación espacial y etaria de parámetros morfometricos básicos (longitud, peso corporal e índice hepatosomatico), la composición bioquímica general (agua, cenizas y contenido de lípidos, proteínas y glúcidos), y de lípidos en particular (clases lipidicas y ácidos grasos) del músculo e hígado de sábalos del Río de la Plata y Río Paraná.
- Caracterizar la composición bioquímica de la dieta del sábalo e identificar las distintas fuentes de materia orgánica (producción primaria acuática, aportes vegetales terrestres, aportes antropicos) analizando sedimentos, material en sedimentación y contenido estomacal.

- Estudiar la variabilidad de trazadores químicos de fuentes cloacales (esteroles y LABs) en la dieta y músculo de sábalo.
- Evaluar los efectos de la alimentación basada en barros urbano-industriales sobre la morfometría y composición bioquímica del sábalo

Capítulo II.

Materiales y Métodos

Muestreo

El área de muestreo se presenta en la Figura 8 e incluye 20 estaciones agrupadas de la siguiente manera:

- **PAR**: sitios de muestreo ubicados en los ríos Paraná y Paraguay (San Pedro, Ramallo, San Nicolás, Rosario, Victoria, Paraná, La Paz, Esquina, Goya, Bella Vista, Empedrado, Corrientes, Paso de La Patria, Formosa, Puerto PIlcomayo).
- **N**: sitios de PAR ubicados mas de 1000 Km. al Norte de Buenos Aires (Corrientes, Paso de La Patria, Formosa, Puerto PIlcomayo)
- **BZ**: sitio de muestreo en el Río de La Plata, en proximidad al difusor cloacal de Berazategui
- **RLPs**: sitios de muestreo en el Río de La Plata ubicados al Sur de BZ (Berisso, La Balandra, Atalaya, Magdalena).

El periodo de muestreo correspondiente al presente estudio se extendió desde 2002 hasta 2007, colectándose muestras cada 3 meses en BZ y 1-2 veces al año en el resto de las estaciones.

Los sábalos fueron capturados por pescadores locales, con distintos artes de pesca según la zona (trasmallos, redes de arrastre o mallones). Para colectar el material en sedimentación se construyeron trampas de sedimentos fijas, que fueron desplegadas durante 12-36 horas a 1,5 m de la superficie. Las trampas consistían en un tubo Falcon acoplado a la boca de un embudo plástico de 78 cm^2 de superficie que podía ajustarse sobre una soga tendida entre un lastre y una boya (Figura 9). Para el muestreo de sedimentos se empleo una draga de tipo Van Veen de acero inoxidable. Se analizaron en total 602 sábalos adultos (PAR: 307; BZ: 163; RLPs: 129), 37 muestras de material en sedimentación y 30 muestras de sedimento.

Figura 8. Estaciones de muestreo (S: sábalo, T: material en sedimentación, S: sedimentos).

El procesamiento inicial de los sábalos se realizo in situ, salvo en BZ donde los sábalos enteros fueron directamente transportados al LAQAB para su ulterior procesamiento. Se registro, para cada individuo, el peso corporal y la longitud estándar (desde el extremo de la boca hasta la base de la aleta caudal). Se determino el factor de condición (FC) como

$$FC = [\text{peso corporal} \times 100]/\text{longitud}^3$$

Parte de los ejemplares obtenidos en PAR estaban preparados para su comercialización y se hallaban por ende eviscerados al momento del muestreo. En estos casos, el peso total fue estimado en base al peso eviscerado mediante la siguiente ecuación, obtenida a partir de 371 individuos:

$$Peso\ total\ (g) = (1{,}13 \times peso\ eviscerado) + 33{,}55,\ (R^2 = 0{,}99)$$

A continuación, el pez fue abierto por la línea media ventral, determinándose el sexo por inspección de las gónadas. Las vísceras fueron retiradas registrándose cualquier anomalía en las mismas. El hígado fue cuidadosamente aislado del resto de las vísceras, pesado y guardado en un recipiente plástico. El índice hepato-somático (IHS) fue calculado como

$$IHS = [peso\ del\ hígado \times 100]/peso\ corporal$$

El estomago cardíaco (cuyo contenido al ser una cámara de almacenamiento es representativo de la dieta) fue abierto longitudinalmente y si el mismo se hallaba lleno, el material fue recogido en un envase plástico. Luego de registrar el peso corporal eviscerado se extrajo una porción de músculo, de aproximadamente 75 g del flanco izquierdo inmediatamente por debajo de la aleta dorsal. El músculo fue envuelto con papel aluminio lavado previamente con solvente. Las muestras de contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos fueron transportadas refrigeradas y almacenadas en heladera, a 4°C. Las muestras de músculo e hígado fueron transportadas congeladas en hielo seco y almacenadas en congeladores a -20C° hasta su procesamiento realizado dentro de los 15-90 días posteriores.

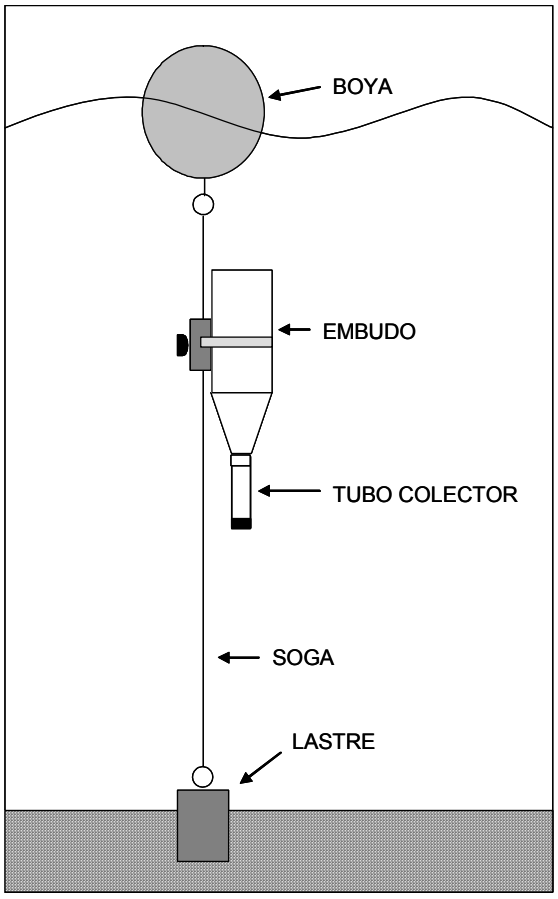


Figura 9. Esquema de la trampa de sedimento para la colección de material en sedimentación.

Análisis bioquímicos

Sábalos

El esquema analítico utilizado para el presente estudio se presenta en la Figura 10. Se determino gravimétricamente el contenido de agua, mediante secado a 120ºC durante 24 horas, y el de cenizas por calcinación del residuo seco a 550ºC durante 12 horas. Las determinaciones de agua y cenizas se realizaron por duplicado, obteniéndose un desvío estándar relativo (DER) promedio de 2,3 ± 2,7 (n= 501 determinaciones) para el agua y de 3,6 ± 3,7 (n= 449 determinaciones) para las cenizas. La extracción de proteínas y carbohidratos de músculo e hígado se realizo en un homogenizador de tipo Potter-Elvehjeim con 20 volúmenes de buffer Tris-ClH, a pH 7, determinándose el contenido de proteínas por espectrofotometría según la técnica de Lowry et al. (1951). Una porción de este extracto acuoso, fue deproteinizada con KOH al 60% a 100ºC durante 20 minutos para la

determinación espectrofotometrica de glucidos totales y glucógeno, según las técnica de Dubois et al. (1956) y Montgomery (1957), respectivamente. La reproducibilidad de los análisis de proteínas y glucidos, evaluada por el DER de análisis pentuplicados de muestras seleccionadas ala azar, fue de 2,1 y 1,9, respectivamente. La extracción de lípidos de músculo e hígado se realizo también en un homogenizador de tipo Potter con 20 volúmenes de cloroformo:metanol (2:1) según el método de Folch et al. (1957). Luego de la partición con solución salina (ClK 0,088% p/v), la fase orgánica conteniendo a los lípidos fue evaporada bajo corriente de nitrógeno, para minimizar la oxidación de los mismos y el contenido lipídico se determinó gravimétricamente. Luego de la resuspensión en un volumen apropiado de cloroformo, el extracto fue almacenado a -20ºC. La reproducibilidad de la técnica de extracción se evaluó a partir de triplicados de muestras con distinto contenido graso: bajo (rango: 3,0-3,4%, desviación estándar relativa: DER=6,4%), intermedio (rango: 9,7-10,5 %, DER=3,3%) y alto (rango: 28,9-30,1%, DER=2,9%). La recuperación del método ensayada mediante el agregado de aceite de soja a muestras de contenido lipidico conocido fue de 98 ± 4,5% (n= 3).

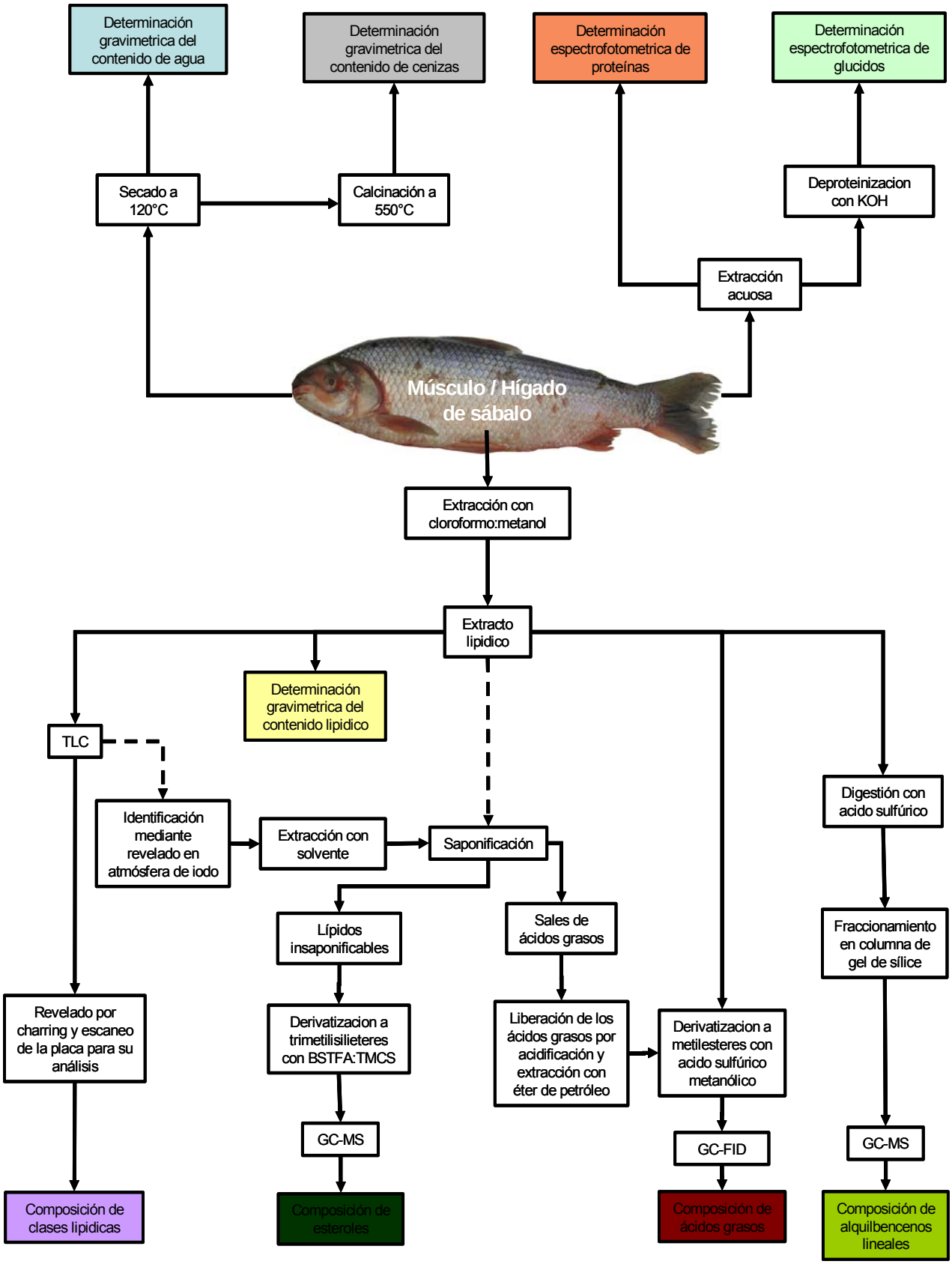


Figura 10. Diagrama analítico general para las muestras de músculo e hígado de sábalo (las líneas punteadas indican análisis realizados solo en una selección de muestras).

El análisis de clases de lipídicas neutras se realizo mediante cromatografía en capa fina (TLC), usando placas de gel de sílice GHL de 250 micrones (Analtech). Luego del ensayar distintos sistemas de solvente (Tabla 1), se decidió efectuar el desarrollo de las placas con éter de petróleo: dietileter: ácido acético glacial (80:30:2). La Figura 11 muestra una separación típica obtenida con este sistema de solventes. El revelado se realizo mediante "charring", rociando las placas con un fino spray de ácido sulfúrico al 50% y calentándolas sobre una plancha calefactora a 180°C. Las placas fueron escaneadas y analizadas con Sigma Gel software (Jandel Scientific). La identificación y cuantificación de las manchas se realizó contra dos calles en cada placa de una mezcla de estándares (monoleina, 1,2- y 1,3- dioleina, referidos conjuntamente como 'DG', trioleina, acido oleico, colesterol y oleato de colesterol; Sigma chemicals).

Tabla 1. Relaciones frontales (Rf) obtenidas por TLC con distintos sistemas de solventes.

Sistema de solventes	Monooleina **MG**	1,2-dioleina **1,2 – DG**	Colesterol **C**	1,3-dioleína **1,3 - DG**	Ácido Oleico **FFA**	Trioleina **TG**	Oleato de colesterol **CE**
EP:DE:AA (80:20:1)	0,026	0,22	0,22	0,41	0,41	0,66	0,76
EP:DE:AA (80:20:3)	0,020	0,17	0,18	0,24	0,42	0,59	0,76
EP:DE:AA (80:30:2)	**0,037**	**0,25**	**0,28**	**0,30**	**0,50**	**0,77**	**0,89**
EP:DE:AA (80:30:3)	0,045	0,31	0,31	0,34	0,45	0,68	0,75
EP:DE:AA (70:30:2)	0,031	0,28	0,28	0,36	0,54	0,073	0,82
EP:DE:M:AA (90:20:2:3)	0,11	0,34	0,34	0,41	0,56	0,82	0,87

EP: éter de petróleo; DE: dietiléter; AA: ácido acético glacial; M: metanol

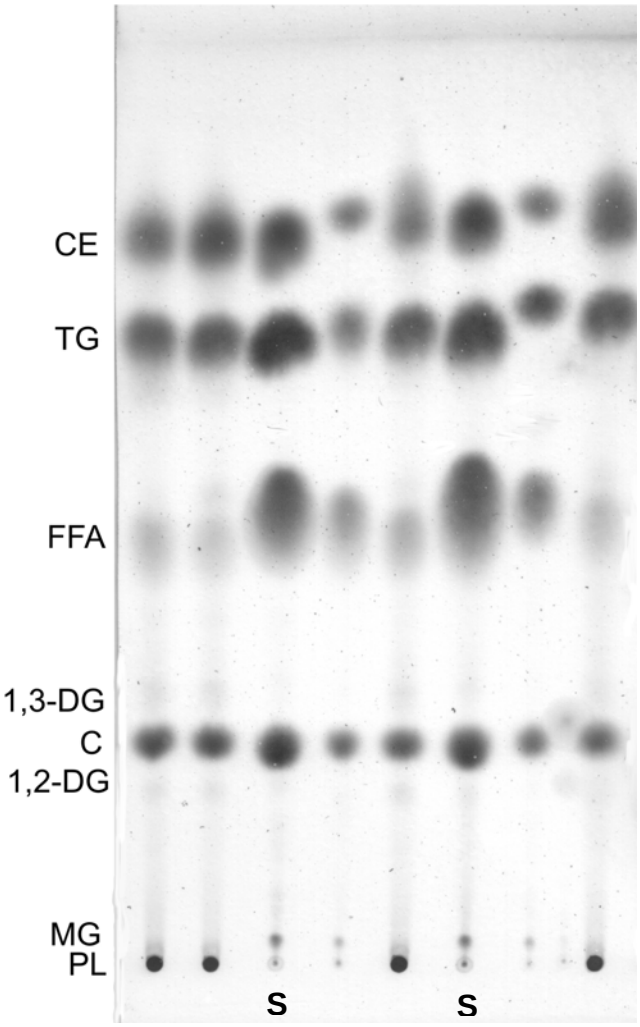


Figura 11. Separación por TLC de lípidos neutros del hígado de sábalos de BZ. Condiciones descriptas en el texto (las calles señaladas con la letra S corresponden a estándares).

La separación de clases lipidicas individuales para la determinación de ácidos grasos se realizo mediante TLC preparativa, revelándose las placas con vapor de yodo en una cuba de vidrio. Una vez localizadas las clases lipidicas a analizar, la sílice conteniendo a las mismas fue raspada y transferida a tubos cónicos, donde fue extraída con cloroformo o cloroformo:metanol (2:1). El extracto fue concentrado a un volumen apropiado y almacenado a -20°C hasta su análisis.

Para el análisis de ácidos grasos, una fracción del extracto lipídico, correspondiente aproximadamente a 2-3 mg de lípidos, fue derivatizada mediante transesterificación con H_2SO_4 metanólico al 1% (12 horas en baño de arena a 70ºC) para obtener los correspondientes metilesteres de ácidos grasos (FAMEs). Los FAMEs fueron extraídos con éter de petróleo y almacenados en un volumen apropiado de éter de petróleo hasta su análisis.

La caracterización del perfil de esteroles se realizo mediante la saponificación de una fracción del extracto lipidico, correspondiente aproximadamente a 2-3 mg de lípidos, con 1M KOH en metanol al 90% (3 horas en baño de arena a 60ºC) previa a la derivatización, a fin de eliminar los compuestos no acilados. Los lípidos insaponificables, incluyendo los esteroles, fueron extraídos con éter de petróleo. Los esteroles fueron derivatizados a sus correspondientes trimetilsililéteres con N,O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida : trimetilclorosilano (BSTFA:TMCS, 10:1). Luego de evaporar el reactivo bajo corriente de nitrógeno, la muestra fue resuspendida en un volumen apropiado de tolueno.

Para el análisis de LABs, una fracción extracto lipidico fue digerida con acido sulfúrico para eliminar la interferencia debida a las grasas. Los LABs fueron separados del extracto digerido mediante cromatografía en columna. Como adsorbente se utilizo gel de sílice (1 g) desactivado con 25 µl de agua y como eluyente se usaron 6 ml de éter de petróleo. La fracción colectada fue concentrada bajo corriente de N_2 a un volumen apropiado para el análisis por GC/MS.

Los extractos de FAMEs fueron analizados en un cromatógrafo gaseoso KONIK 3000 equipado con inyector split-splitess, detector de ionización de llama operados a 250°C y 320°C, respectivamente, y una columna capilar (DB-5, 30m x 0.25 mm, Agilent Technologies) usándose nitrógeno como gas carrier. El programa de temperatura utilizado fue de 65°C a 195°C a 12°C/min, luego a 260ºC a 4ºC/min, y finalmente a 310°C a 5 °C/min. La identificación y cuantificación se realizo mediante la comparación con estándares auténticos de 26 metilesteres de ácidos grasos (C_{8-24} con 0-6 insaturaciones; AccuStandards, Inc., Tabla 2). La Figura 12 presenta dos cromatogramas típicos de ácidos grasos de sábalos, obtenidos con este método.

Tabla 2. Ácidos grasos (como metil esteres) en la mezcla estándar utilizada en el presente estudio.

Nombre técnico	Nombre común
6:0	Caproico
8:0	Caprilico
10:0	Caprico
11:0	Undecanoico
12:0	Laurico
13:0	Tridecanoico
cis9-**14:1**	Miristioleico
14:0	Miristico
cis10-**15:1**	cis-10-Pentadecenoico
15:0	Pentadecanoico
cis9-**16:1**	Palmitoleico
16:0	Palmitico
cis10-**17:1**	cis-10-Heptadecenoico
17:0	Heptadecanoico
cis6,9,12-**18:3**	g-Linolenico
cis9,12-**18:2**	a-Linoleico
cis9-**18:1**	Oleico
trans9-**18:1**	Elaidico
18:0	Estearico
cis5,8,11,14-**20:4**	Araquidonico
cis5,8,11,14,17-**20:5**	cis5,8,11,14,17-Eicosapentaenoico
Cis8,11,14-**20:3**	cis8,11,14-Eicosatrienoico
cis11,14-**20:2**	cis11,14-Eicosadienoico
cis11-**20:1**	cis11-Eicosenoico
cis11,14,17-**20:3**	cis11,14,17-Eicosatrienoico
20:0	Araquidico
21:0	Heneicosanoico
cis4,7,10,13,16,19-**22:6**	cis4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoico
cis13,16-**22:2**	cis13,16-Docosadienoico
cis13-**22:1**	Erucico
22:0	Behenico
23:0	Tricosanoico
cis15-**24:1**	Nervonico
24:0	Lignocerico

Los esteroles fueron analizados en un cromatógrafo gaseoso Agilent 6850 con detector selectivo de masas Agilent 5973N (EI 70eV, 2,94 escaneos/seg, 50-550 uma), equipado con un inyector split-splitless (250^{o}C) y una columna capilar (DB-5, 30m x 0.25 mm, Agilent Technologies). La identificación y cuantificación de los esteroles y compuestos relacionados se realizo con una mezcla de estándares (coprostano, coprostanol, coprostanona, colesterol, dehidrocolesterol, desmosterol; stigmasterol, stigmastanol, Supelco), mediante comparación con librerías espectrales e iones mayoritarios citados en la bibliografía (Tabla 3). La Figura 13 presenta cromatogramas típicos de esteroles en sábalo.

Tabla 3. Características estructurales y espectrométricas de los esteroles analizados (Modificado a partir de Keller y Jahreis, 2004. *: TMS = trimetilsililéteres; los valores entre paréntesis indican la abundancia relativa del ion). Ver posición de radicales 1 y 2 (R1 y R2) en la Figura 6.

Nombre común (nombre sistemático)	R1	Configuración A+B; posición de H en C5	Δ5	R2	Iones mayoritarios (m/z) de los TMS derivados*	Otras insaturaciones
Colesterol (3β-colestan-5-en-3-ol)	β-OH		+		329(100), 368(55), 353(40)	
Coprostanol (3β,5β-colestan-3-ol)	β –OH	Cis/5□ β			370(100), 215(60), 355 (37)	
Epicoprostanol (3α,5β-colestan-3-ol)	α-OH	Cis/5 β			215 (100), 370(84), 257 (35)	
24-etilcoprostanol (24-etil-3β,5β-colestan-3-ol)	β-OH	Cis/5 β		-C2H5	398(100), 215(70), 363(50)	
Dihidrocolesterol (3β,5α-colestan-3-ol)	β-OH	Trans/5□α			215(100), 445(40), 355(35)	7
Colestanol (3α,5α-colestan-3-ol)	α-OH	Trans/5□α			215(100), 233(85), 373(65)	
β –sitosterol (24-etilcolesta 5-en-3β -ol)	β-OH		+	-C2H5	129(100), 357(85), 396(65)	
γ-sitosterol (24S-etilcolesta 5-en-3β -ol)	β-OH		+	-C2H5	414(100), 255(75), 329(75)	
Stigmasterol (24-etilcolesta-5,22E-dien-3β -ol)	β-OH		+	-C2H5	129(100), 255(70), 394(40)	22
Stigmastanol (3β,5α-stigmastan-3-ol)	β-OH	Trans/5□α		-C2H5	215(100), 473(30), 383(30)	
Desmosterol (3β-colesta-5,24-dien-3-ol)	β-OH		+		129(100), 343(60), 253(40)	24
Coprostanona (5β-colestan-3-ona)	=O	Cis/5□ β			217(100), 357(45), 372(25)	
Coprostano (5β-colestano)	-H	Cis/5 β			217(100), 357(45), 372(25)	

Los alquilbencenos lineales (LABs) fueron analizados en un cromatógrafo gaseoso Agilent 6850 con detector selectivo de masas Agilent 5973N (EI 70eV, 2.94 escaneos/seg, 50-550 uma), equipado con un inyector split-splitless (250°C) y una columna capilar (DB-5, 30m x 0.25 mm, Agilent Technologies). La temperatura del horno se programó de 65°C (2 min) a 130°C (1 min) a 12°C/min y luego a 300°C (10 min) a 5°C/min. La cuantificación se realizó con una mezcla de LABs (n-C10 a n-C14, Tabla 4), gentilmente cedida por una empresa petroquímica, monitoreando los iones específicos m/z: 91 y 105. La Figura 14 presenta dos cromatogramas típicos de LABs en músculo de Sábalo.

Tabla 4. Contribución relativa de congéneres con 10-14 carbonos (C10-14) y diferente posición del grupo fenilo (2-7) de la mezcla estándar de LABs.

Congénere	Contribución relativa (%)
5-C10	3,9
4-C10	3,0
3-C10	2,1
2-C10	0,3
6-C11	8,0
5-C11	10,5
4-C11	9,2
3-C11	6,4
2-C11	1,2
6-C12	11,6
5-C12	9,2
4-C12	7,5
3-C12	5,2
2-C12	0,9
7/6-C13	7,9
5-C13	4,9
4-C13	3,6
3-C13	2,5
2-C13	0,4
7/6-C14	0,5
5-C14	0,4
4-C14	0,4
3-C14	0,3
2-C14	0,1

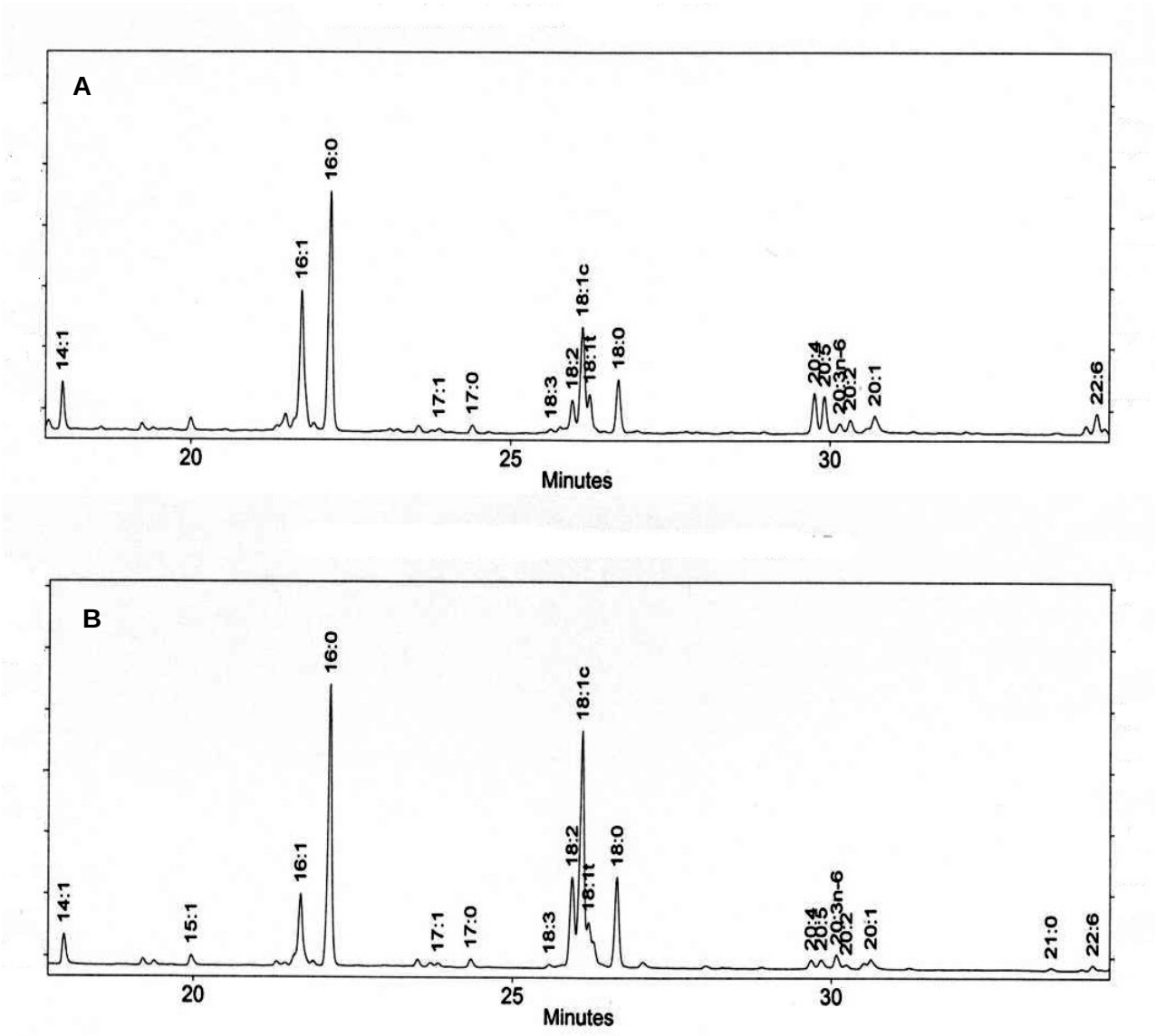


Figura 12. Cromatogramas de ácidos grasos del músculo de Sábalo del Norte (A) y Berazategui (B).

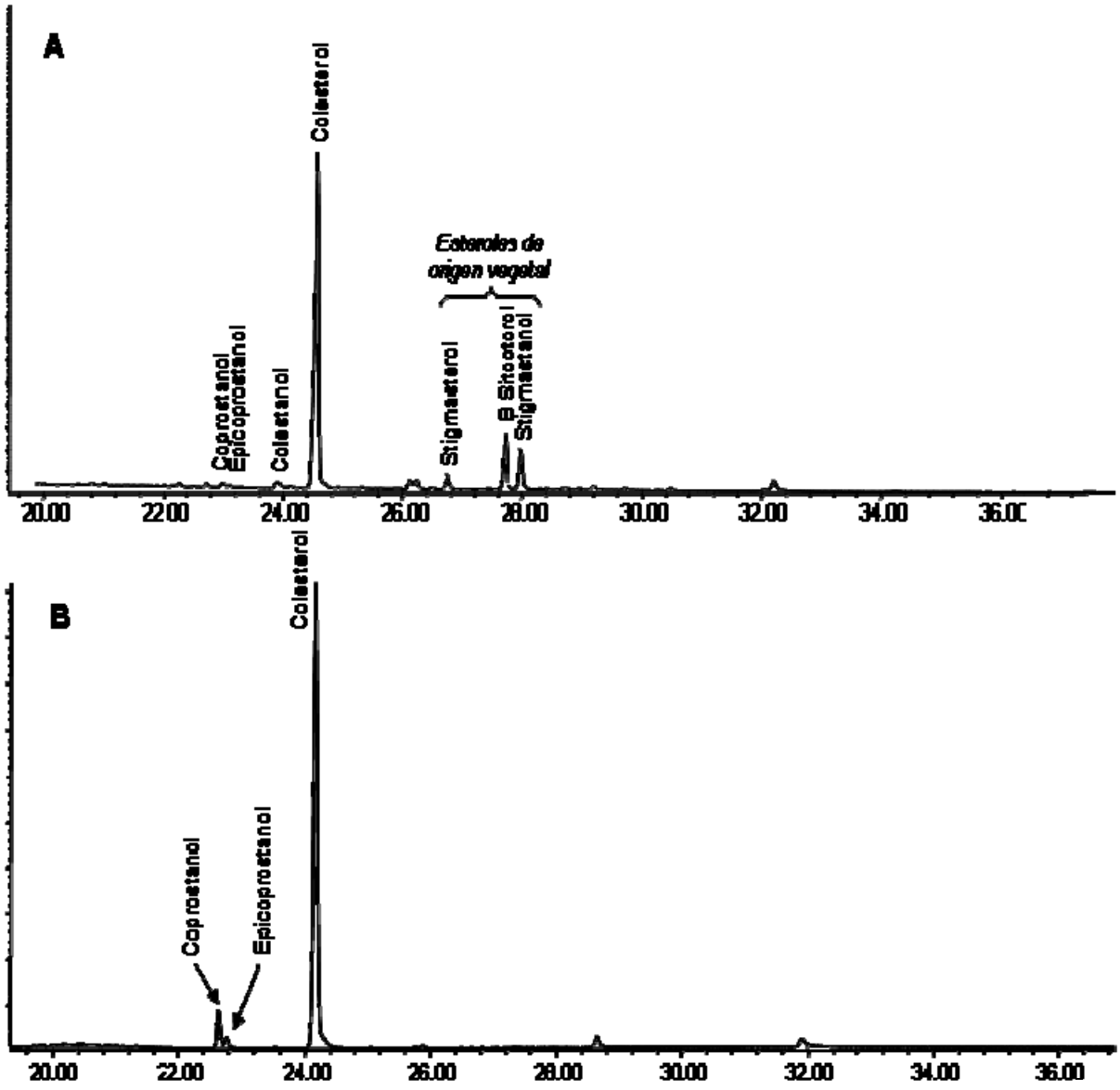


Figura 13. Cromatogramas de esteroles en músculo de Sábalo del Norte (A) y Berazategui (B).

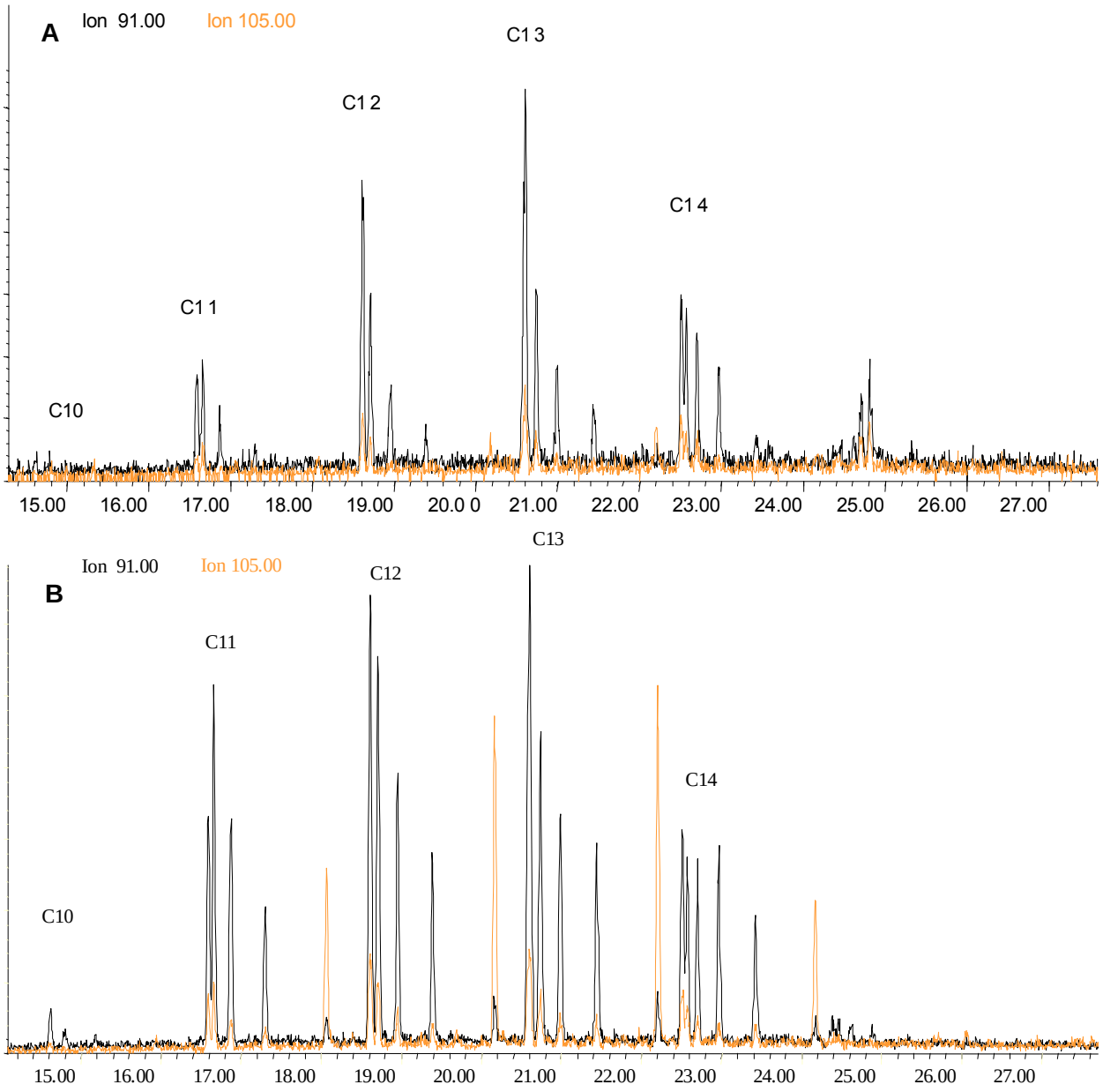


Figura 14. Cromatogramas de alquilbencenos lineales en músculo de Sábalo del Norte (A) y Berazategui (B).

Contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos

Para el análisis de contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos se realizaron algunas modificaciones a la metodología aplicada a las muestras de tejido. La determinación de proteínas y glucidos se realizo en base a las técnicas ya mencionadas, efectuando correcciones con blancos de muestras para descontar la absorbancia no debida al analito (Gerchakov y Hatcher, 1972). Los lípidos fueron extraídos del material húmedo (1-

5 g) con al menos 6 volúmenes de éter de petroleo:diclorometano:acetona (2:2:1). El material fue mezclado enérgicamente con el solvente de extracción mediante varillas de acero inoxidable y sometido a la acción de un baño ultrasónico durante 15 minutos. Luego de centrifugar, el solvente sobrenadante fue trasvasado a un balón donde fue concentrado bajo corriente de nitrógeno y tratado con SO_4Na_2 anhidro para la eliminación de restos de agua. El extracto concentrado fue trasvasado a viales prepesados, donde se evaporo el solvente para la determinación gravimetrica del contenido lipidico. Luego, la muestra fue resuspendida en un volumen apropiado de diclorometano.

En muestras de sedimentos, material en sedimentación y contenido estomacal, con composiciones lipídicas complejas, las clases no cuantificadas fueron identificadas mediante comparación de sus Relaciones frontales (Rf) con los valores citados en la literatura (Volkman et al., 1981; Kates, 1986) o aisladas por TLC preparativa para su análisis. Para esto, luego del desarrollo con el sistema de solventes usado, las placas fueron reveladas con Yodo (método no destructivo y reversible). Las manchas correspondientes a compuestos no eluibles fueron extraídas con cloroformo: metanol (2:1); una alícuota fue analizada por TLC, y el resto fue destinado al análisis de ácidos grasos. Las restantes manchas (esteroles, alcoholes y pigmentos; ácidos grasos libres; triglicéridos y esteres de colesterol), se rasparon a sendos tubos donde se saponificaron (1M KOH en metanol al 90%, 3 horas a 60°C). Los compuestos no saponificables fueron extraídos con hexano: dietileter (4:1) y la fase acuosa fue acidifica para liberar los ácidos saponificados, que luego fueron extraídos de igual modo. Las diversas fracciones fueron analizadas por TLC, usándose cloroformo:metanol:agua:ácido acético (25:15:4:2) para la fracción no eluible, hexano:dietileter (96:4) para los esteres de colesterol, y hexano:dietileter:ácido acético glacial (80:30:2) para las restantes.

Tanto para el análisis de ácidos grasos como para el análisis de esteroles, los lípidos fueron saponificados del modo descrito anteriormente. Luego de la extracción de los insaponificables, la fase acuosa fue acidificada a pH ≈ 2 con 6M HCl para liberar los ácidos grasos, que fueron luego extraídos con éter de petróleo y transesterificados a FAMEs.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizo el software XLstat (Addinsoft SRL, Paris). Los datos se presentan como *promedio* ± *desvió estándar*. El desvió estándar relativo (DER) se calculo como *(desvió estándar x 100) / promedio*. Las comparaciones múltiples entre muestras fueron analizadas mediante ANOVA y el test de Tukey, sobre datos con transformación logarítmica o arcoseno, según correspondiese. Para evaluar las diferencias entre pares de medias y entre pendientes de curvas de regresión, así como la significancia de los coeficientes de correlación se utilizo el test de *t* de Student. El nivel de significancia utilizado fue $p > 0.05$, salvo indicación contraria.

Capitulo III

Características morfométricas básicas

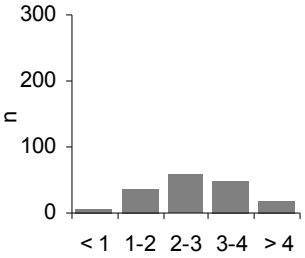
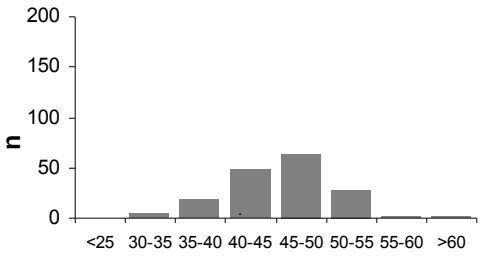
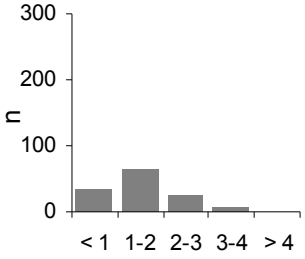
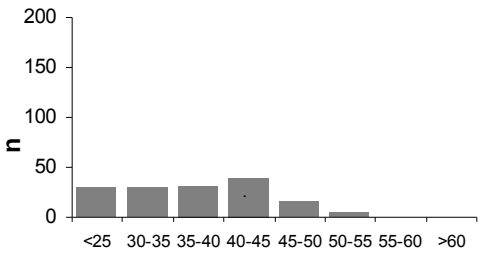
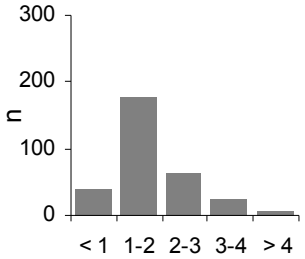
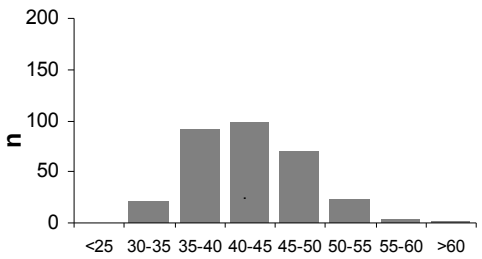
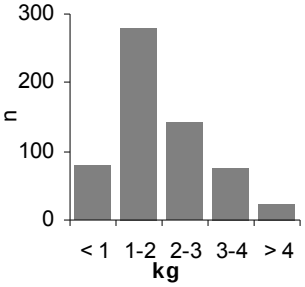
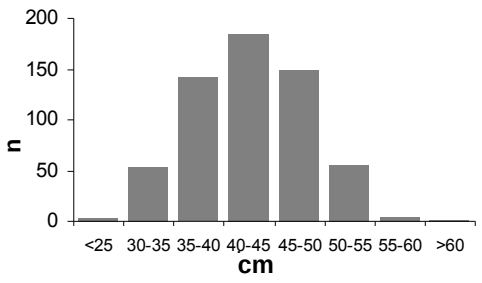
Durante el periodo de estudio se analizaron 602 sábalos adultos (163 de BZ, 129 de RLPs y 307 de PAR), con una relación general entre sexos de 0.61 (machos / hembras. La longitud oscilo entre 28 y 60 cm. (promedio: 42 ± 5,6 cm.) y el peso entre 0,5 y 5,9 kg. (promedio: 2,0 ± 1,0 kg.). Las distribuciones de frecuencia en base a la longitud estándar se presentan en la Tabla 5. Considerando todas las estaciones de muestreo, la distribución de frecuencias maximiza en 40-45 cm, en concordancia con Oldani y Oliveros (1984) que observaron una mayor frecuencia de sábalos de 44-47 cm en el Paraná medio. Los sábalos de BZ son más largos, siendo la clase de longitud estándar mas frecuente la de 45-50 cm. Esta diferencia es más marcada en la distribución de frecuencias por clase de peso. Los sábalos de BZ presentan una distribución de frecuencias acampanada, que maximiza en 2-3 kg (coeficiente de asimetría: 0,24), mientras que los de RLPs y PAR tienen distribuciones sesgadas hacia la izquierda (coeficiente de asimetría: 0,77 y 1,5 respectivamente), con máximos en 1-2kg.

La relación longitud-peso (LP) es habitualmente expresada como: $P = aL^b$
donde '*P'* es el peso total en gramos, '*a'* el factor de condición relativo, '*L'* la longitud estándar en centímetros y '*b'* el coeficiente de alometria. Los parámetros '*a'* y '*b'* fueron calculados por regresión a partir de la expresión linearizada de la ecuación

$$\log P = \log a + b \log L$$

La pendiente de la relación LP incluyendo los sábalos de todas las locaciones (3,36; r^2 = 0,82) es significativamente mayor a 3 ($p < 0.05$). En los sábalos de BZ, el valor de la pendiente '*b*' es aun mas alto (3,53; r^2 = 0,86; Figura 15), siendo significativamente ($p<0.05$) superior al de los sábalos de PAR y RLPs. Este valor es atípico, ya que en general, el valor de *b* tiende a 3, reflejando la relación cúbica entre el peso y la longitud que caracteriza al crecimiento isométrico (Ecoutin y Albaret, 2003). De acuerdo a la base de datos de relaciones LP de FishBase (n = 2565), el valor promedio de *b* es de 3,00±0,25, variando dentro de un rango de entre 2,06 y 3,94 (Froese y Pauly, 2005). Solo el 1,7% de los valores de esta base de datos superan el de la pendiente de los sábalos de BZ.

Tabla 5. Características morfométricas y distribuciones de frecuencia por clase de peso y longitud de los Sábalos (FC: factor de condición). Los superíndices indican diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de cada zona de muestreo (minúscula) y entre promedios generales (mayúscula).

Estación	Peso	n	Longitud	FC	Distribución de frecuencias de peso	Distribución de frecuencias de longitud
BZ	< 1 kg	5	34±2,5^{a}	2,1±0,66^{b}		
	1-2 kg	37	40±2,0^{a}	2,6±0,37^{b}		
	2-3 kg	57	45±2,4^{a}	2,9±0,41^{c}		
	3-4 kg	47	49±1,8^{a}	3,0±0,33^{b}		
	> 4 kg	17	52±2,7^{a}	3,3±0,38^{a}		
	Promedio	163	**45±4,9^{C}**	**3,0±0,47^{B}**		
RLPs	< 1 kg	34	33±2,7^{a}	2,2±0,14^{b}		
	1-2 kg	65	39±3,3^{a}	2,5±0,28^{b}		
	2-3 kg	24	45±3,4^{a}	2,6±0,48^{b}		
	3-4 kg	5	48±1,7^{a}	2,8±0,28^{a}		
	Promedio	**122**	**39±5,3^{A}**	**2,4±0,35^{A}**		
PAR	< 1 kg	39	35±2,3^{b}	1,9±0,25^{a}		
	1-2 kg	177	40±3,3^{a}	2,2±0,34^{a}		
	2-3 kg	63	47±2,4^{b}	2,3±0,35^{a}		
	3-4 kg	25	50±1,8^{b}	2,7±0,37^{a}		
	> 4 kg	7	53±4,4^{b}	3,2±0,57^{a}		
	Promedio	311	**42±5,3^{B}**	**2.3±0,46^{A}**		
Todos	< 1 kg	78	34±2,7^{a}	2,0±0,35^{ab}		
	1-2 kg	279	40±3,2^{a}	2,3±0,39^{a}		
	2-3 kg	144	46±2,7^{b}	2,6±0,47^{b}		
	3-4 kg	77	49±2.0^{a}	2,9±0,38^{b}		
	> 4 kg	24	52±3,2^{b}	3,3±0,46^{a}		
	Promedio	602	**42±5,6^{B}**	**2,5±0,52^{A}**		

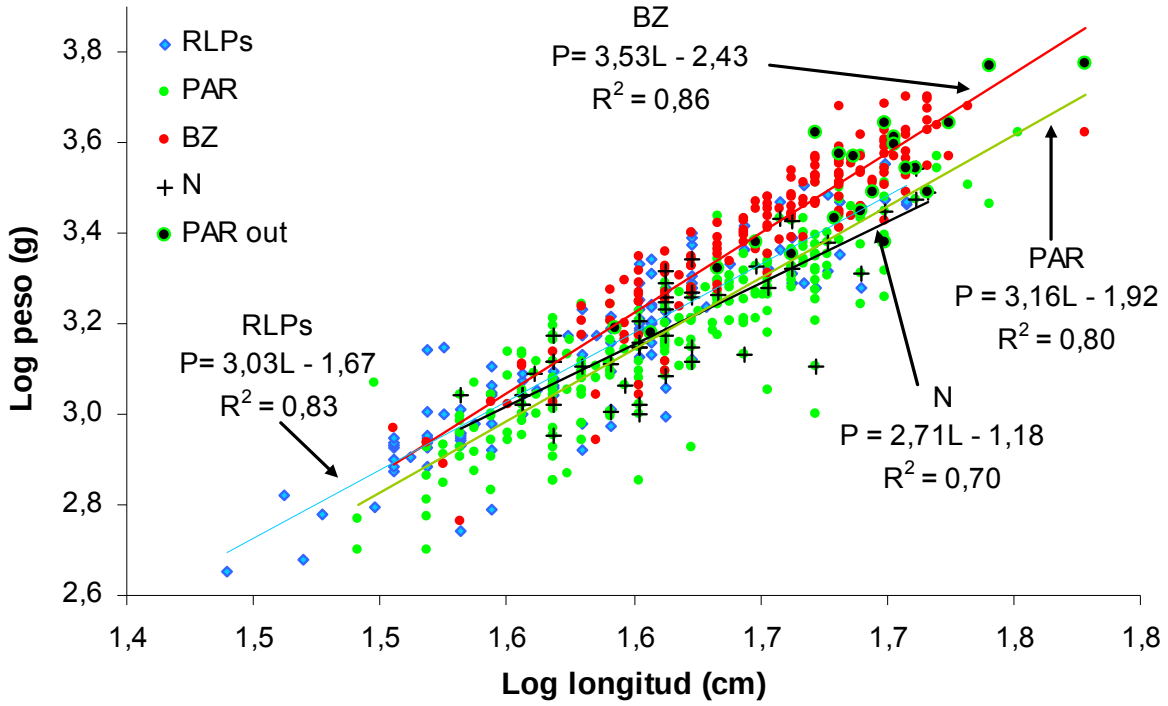


Figura 15. Relación Longitud-Peso de los sábalos (PAR out: sábalos de PAR excluidos por valores extremos semejantes a los de BZ, ver texto).

Los sábalos agrupados como PAR presentan una pendiente ligeramente inferior a la general (3,16; R^2 = 0,80), de la que no difiere en forma significativa, pero constituyen un grupo heterogéneo con mezcla de stocks del norte y sur debido a los hábitos migratorios del sábalo. En el cauce del río Paraná, particularmente en su tramo bajo y medio se mezclan sábalos de distintos orígenes, incluyendo los provenientes de BZ. Con el objeto de caracterizar la relación LP de los sábalos del extremo Norte de la cuenca (N) sin influencia de BZ, se calculó la relación LP para los sábalos provenientes de las estaciones de muestreo ubicadas a mas de 1000 Km. (Figura 8), ya que desplazamientos mayores a esta distancia son inusuales (Sverlij et al., 1993). La pendiente de estos peces es significativamente mas baja que la del total de sábalos de PAR (*b* = 2,71 Vs. 3,16; $p < 0,05$) y concuerda con los valores de *b* reportados para sábalos del río Paraná, que oscilan entre 2,11 y 3,26, con un promedio general de 2,74 ± 0,35 (Tabla 6). Los sábalos de los ríos Pilcomayo y Bermejo también tienen valores bajos (rango: 2,55 - 2,89; promedio: 2,76 ± 0,15; Kasyanov e Izyumov, 2000; Escobar 2004). Los sábalos de RLPs muestran una relación LP claramente isométrica (*b* = 3,03; R^2 = 0.83). Como criterio complementario de reducción de la variabilidad de los peces del Paraná, se recalculo la relación LP excluyendo 22 individuos con valores extremos (PAR out) que aparecen en la Figura 15 en el área de

dispersión de los ejemplares de BZ. El valor de '*b*' excluyendo a estos sábalos se reduce a 2,91 y no se diferencia significativamente de la pendiente de los peces del N. Este criterio de exclusión es reforzado por los datos de contaminantes determinados en estos peces. En efecto, las concentraciones de hidrocarburos alifáticos y PCBs en estos sábalos son muy elevadas (106 ± 75 y 8,9±5,1 µg/g ph, respectivamente), similares a los de los sábalos de BZ (82 ± 53 y 5,3 ± 3,6 µg/g ph), y 2-3 ordenes de magnitud superiores que los de los peces del N (5,3 ± 4,8 y 0,01 ± 0,02 µg/g, respectivamente; Colombo et al., 2004).

Tabla 6. Valores del factor de condición relativo '*a*' y del coeficiente de alometria '*b*' reportados para sábalos de la cuenca del Paraná y Río de la Plata.

Lugar	*a*	*B*	Cita
Puerto Margarita, río Pilcomayo	0,10	2,58	Kasyanov y Izyumov, 2000
Crebo, rio Pilcomayo	0,07	2,66	
Pilaya River, rio Pilcomayo	0,04	2,80	
Las Lomitas, río Pilcomayo	0,03	2,89	
Villa Montes, río Pilcomayo	0,03	2,89	
río Bermejo	0,11	2,55	Escobar, 2004
Alto Paraná	0,00	2,91	Bechara et al., 1999
Santa Fe	0,01	3,08	Cordiviola de Yuan, 1971
	0,01	3,26	
	0,02	2,92	
	0,02	2,86	
	0,24	2,86	
Corrientes	0,24	2,34	Bonetto, 1980
	0,28	2,27	
	0,48	2,11	
	0,33	2,22	
	0,08	2,65	
	0,03	2,90	
Isla Carabajal, Paraná	0,04	2,75	Carozza y Cordiviola de Yuan, 1991
	0,03	2,85	
Itaipu	0,02	3,07	Benedito-Cecilio et al, 1997
N	0,07	2,71	Este trabajo
PAR	0,01	3,16 (2,91*)	
BZ	0,00	3,53	
RLPs	0,02	3,03	

* depurados, excluyendo PAR out

La Tabla 7 presenta los valores de la '*b*' en relación con el sexo, calculados a partir de un total de 454 peces (ya que parte de los sábalos colectados para el presente estudio se hallaban eviscerados). En PAR, la pendiente de la relación LP para las hembras es significativamente menor que para los machos (2,93 vs. 3,31 respectivamente; $p < 0,05$), lo

que podría estar asociado con el esfuerzo reproductivo. Dado que los ovarios pueden constituir hasta 30 % del peso corporal (Sverlij et al., 1993), la oviposicion podría significar una perdida de peso importante. En RLPs se observa lo opuesto, es decir una pendiente significativamente mayor en las hembras que en los machos (3,27 vs. 2,71; $p < 0,05$), probablemente reflejando el aumento de peso de las hembras debido al crecimiento de la gónadas previo al desove. La diferencia de la relación LP entre sexos no se observa en los sábalos BZ (3,31 vs. 3,34), donde posiblemente sea enmascarada por el anormal engorde de estos ejemplares.

Tabla 7. Pendientes de la relación LP (*b*) según sexo. Los asteriscos indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre sexos (entre paréntesis se indica el numero de individuos analizados).

Zona de muestreo	Hembras	Machos
PAR*	2,93 (92)	3,31 (41)
RLPs*	3,27 (65)	2,71 (66)
BZ	3,31 (126)	3,34 (64)

El factor de condición (FC = [peso corporal x 100]/longitud^3) es una medida individual de la relación entre peso y longitud. El FC promedio incluyendo los sábalos de todas las estaciones de muestreo es 2,5 ± 0,5 y esta correlacionado con el peso corporal ($r = 0,68$), aumentando desde 2,0 ± 0,4 en sábalos de menos de 1 kg a 3,3 ± 0,5 en sábalos de más de 4 kg (Tabla 5).Comparando clases de peso similares, los sábalos de BZ tienen valores significativamente mas altos ($p < 0,05$) que los de PAR, salvo los peces de mas de 4 kg de peso corporal, cuyos FC no se diferencian entre si (3,3 ± 0,38 vs. 3,2 ± 0,57), lo que concuerda con el aumento del IC observado por otros autores en poblaciones de peces expuestas a contaminación cloacal (Porter y Janz, 2003; Alberto et al., 2005). La diferencia entre los FC de los sábalos de BZ y RLPs, es menos pronunciada, observándose valores significativamente ($p < 0,05$) inferiores en estos últimos en los peces de mas de 2 kg de peso. La gran alometria positiva que caracteriza a los peces de BZ sugiere que la franja costera de Buenos Aires, fuertemente contaminada por descargas urbano-industriales, provee abundantes recursos alimenticios que permiten el engorde de los sábalos.

El índice hepatosomático (IHS = [peso del hígado x 100]/peso corporal), muestra un amplio rango de variación (0,3 – 3,0) y un promedio general de 1,2 ± 0,49 (Figura 16). A diferencia de lo observado con respecto al FC, el IHS no esta correlacionado con el peso ($r = 0,041$). El IHS de los sábalos de BZ es significativamente superior al de los sábalos de

PAR (1,4 ± 0,48 vs. 0,74 ± 0,29; p < 0,0001) y RLPs (1,4 ± 0,48 vs. 1,1 ± 0,20; p < 0,001). Esta hipertrofia del hígado ha sido observada en sábalos expuestos a sedimentos contaminados por efluentes urbanos (Almeida et al., 2005) y puede deberse a la intensificación de los mecanismos de detoxificación que tienen sede en este órgano (van der Oost et al., 2003). Esta interpretación es apoyada por la observación de una traza más degradada de hidrocarburos alifáticos en el hígado con respecto al músculo, como lo indican la reducción de los índices C17/pristano y C18/fitano (0,58 ± 0,37 y 0,45 ± 0,33 en el hígado vs. 1,0 ± 0,55 y 0,81 ± 0,41 en músculo; Colombo, 2005, comunicación personal).

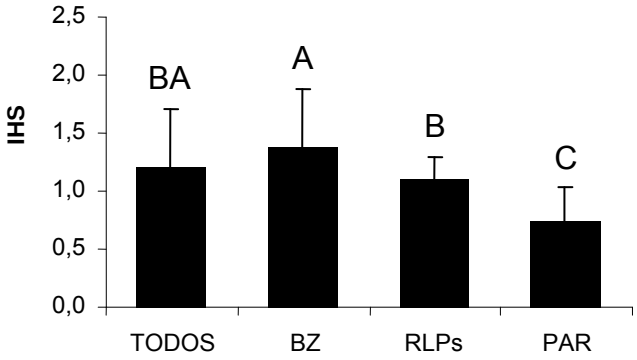


Figura 16. Indice hepatosomatico (IHS) de los sábalos. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre zonas de muestreo (p < 0,05).

Capitulo IV

Composición bioquímica general

Músculo

La composición bioquímica general del músculo se presenta en la Tabla 8 La matriz de correlación entre los parámetros morfometricos y los componentes bioquímicos se presenta en la Tabla 9. En términos generales, el agua es el constituyente mas abundante del músculo (68 ± 11 %), seguida por una proporción relativamente homogénea de proteínas (16 ± 3,8 % del peso húmedo, ph), un contenido lipídico elevado y altamente variable (14 ± 14 % ph) y bajas proporciones de cenizas y de carbohidratos (1,3 ± 0,29 y 0,21 ± 0,12 % ph respectivamente).

Los glucidos no exhiben correlación con otros parámetros morfometricos o bioquímicos (Tabla 9) y su escasa concentración refleja la preferencia de lípidos y proteínas como depósitos de energía en peces (Henderson, 1996). El glucógeno constituye 29 ± 20% de los glúcidos totales. El contenido de cenizas esta significativamente correlacionado con el contenido de agua y de lípidos ($r = 0,65$ y $r = - 0,63$, respectivamente, $p < 0,01$). Las proteínas presentan una variación moderada en relación al resto de los componentes bioquímicos (desviación estándar relativa, DER= 24 %) reflejando el rol estructural de las mismas en peces (Huss, 1995). La correlación inversa observada entre lípidos y proteínas ($r = -0,66$) se debe a que son componentes complementarios del músculo, que representan conjuntamente 91± 8,0 % del peso seco del órgano.

Tabla 8. Composición bioquímica en porcentaje del peso húmedo (% ph) del músculo de los sábalos por categorías de peso. Los superíndices indican diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de cada zona de muestreo (minúscula) y entre promedios generales (mayúscula).

	Peso (kg)	n	Agua	Cenizas	Proteínas	Glucidos	Lípidos
					(% ph)		
BZ	< 1	3	78±0,90^{a}	0,90±0,46^{a}	18±0,84^{a}	0,27±0,058^{b}	2,9±1,8^{a}
	1-2	20	72±7,4^{a}	1,3±0,21^{a}	16±4,8^{a}	0,24±0,057^{b}	11±9,5^{b}
	2-3	32	61±11^{a}	1,1±0,31^{a}	14±5,4^{a}	0,23±0,088^{b}	24±13^{b}
	3-4	32	57±11^{a}	1,1±0,31^{a}	13 ±3,1^{a}	0,20±0,063^{a}	27±13^{b}
	> 4	13	49±8,7^{a}	1,0±0,40^{a}	13±2,5^{a}	0,27±0,10^{b}	38±9,7^{a}
	Promedio	**100**	**62±13^{A}**	**1,2±0,32^{A}**	**14,6±3,2^{A}**	**0,3±0,079^{B}**	**24±14^{B}**
RLPs	< 1	8	78±1,8^{a}	1,6±0,28^{b}	18±1,4^{a}	0,3±0,035^{b}	1,7±1,3^{a}
	1-2	18	74±2,6^{b}	1,5±0,23^{b}	18±2,9^{b}	0,4±0,16^{b}	6,8±4,6^{a}
	2-3	12	69±5,7^{b}	1,3±0,36^{b}	17±2,5^{b}	0,3±0,067^{b}	13±6,1^{a}
	3-4	4	67±9,0^{b}	1,4±0,30^{a}	16±3,7^{b}	0,3±0,082^{a}	13±11^{a}
	Promedio	**42**	**73±5,6^{B}**	**1,5±0,30^{B}**	**18±2,6^{B}**	**0,32±0,11^{C}**	**8,1±6,7^{A}**
PAR	< 1	13	78±1,3^{a}	1,4±0,12^{b}	18±1,4^{a}	0,069±0,11^{a}	1,8±0,87^{a}
	1-2	65	76±3,7^{b}	1,5±0,11^{b}	18±1,8^{b}	0,15±0,12^{a}	3,8±3,5^{a}
	2-3	30	72±6,0^{b}	1,4±0,18^{b}	17±3,1^{b}	0,20±0,13^{a}	8,3±7,0^{a}
	3-4	19	64±8,5^{b}	1,3±0,25^{a}	17±3,7^{b}	0,20±0,11^{a}	15±10^{a}
	> 4	7	48±8,4^{a}	1,0±0,17^{a}	12±3,2^{a}	0,11±0,069^{a}	38±12^{a}
	Promedio	**134**	**72±8,9^{B}**	**1,4±0,2^{B}**	**17±2,8^{B}**	**0,16±0,12^{A}**	**8,0±10^{A}**
Todos	< 1	24	78±1,4^{a}	1,4±0,32^{b}	18±1,3^{a}	0,18±0,15^{a}	1,9±1,2^{a}
	1-2	103	75±4,8^{b}	1,4±0,18^{ab}	18±2,9^{b}	0,20±0,14^{a}	5,7±6,0^{a}
	2-3	74	67±9,7^{ab}	1,3±0,30^{b}	16±4,4^{ab}	0,232±0,11^{a}	16±12^{a}
	3-4	55	60±11^{a}	1,2±0,30^{ab}	15±3,8^{ab}	0,21±0,086^{a}	22±13^{b}
	> 4	20	49±8,4^{a}	1,0±0,33^{a}	12±2,7^{a}	0,22±0,12^{a}	38±10^{a}
	Promedio	**276**	**68±11^{AB}**	**1,3±0,29^{AB}**	**16±3,8^{B}**	**0,21±0,12^{A}**	**14±14^{A}**

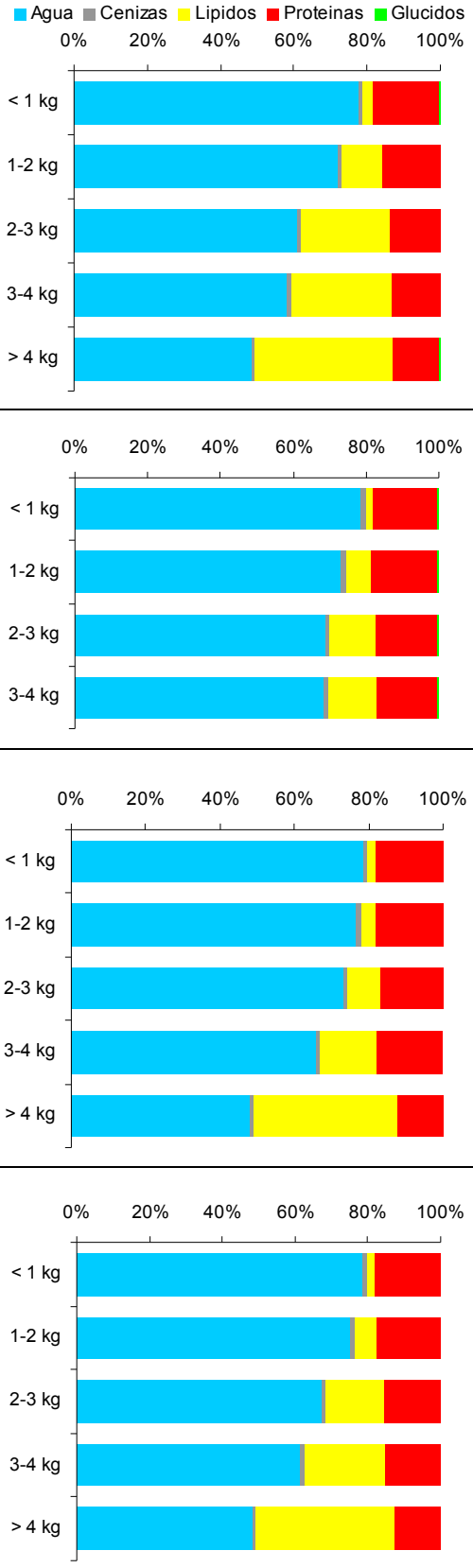


Tabla 9. Coeficientes de correlación (r) entre los componentes bioquímicos en el músculo, el peso y la longitud de todos los sábalos estudiados. Los superíndices indican las estaciones de muestreo con coeficientes significativos (S: RLPs, B: BZ, P: PAR, N: norte extremo; p < 0,01).

	Glucidos	Proteínas	Lípidos	Cenizas	Agua	Peso (g)
	(% ph)					
Longitud (cm)	0,027	-0,33	$0,54^{SBPN}$	$-0,32^{P}$	$-0,56^{SBPN}$	$0,89^{SBPN}$
Peso	0,069	$-0,41^{P}$	$0,73^{SBPN}$	$-0,44^{P}$	$-0,75^{SBPN}$	
Agua	-0,072	$0,53^{BP}$	$-0,95^{SBPN}$	$0,65^{SBP}$		
Cenizas	$0,12^{PN}$	$0,44^{P}$	$-0,63^{BPN}$			
Lípidos	0,087	$-0,66^{BP}$				
Proteínas	$-0,053^{N}$					

La variación de la composición bioquímica con los parámetros morfometricos, particularmente con el peso corporal, se asocia a la covariación entre el contenido de agua y de lípidos, que presentan entre si el índice de correlación mas elevado entre los parámetros bioquímicos (r = - 0,95, Tabla 9). Esta relación inversa refleja el reemplazo de agua por lípidos que tiene lugar a medida que el pez crece. La Figura 17 compara la relación entre lípidos y agua del sábalo con otros valores reportados para especies de alto y bajo contenido lipídico. En el sábalo, esta relación se asemeja a la de otros peces de alto tenor graso muscular como los Scombridae, diferenciándose de la de peces magros como la merluza o la tilapia que poseen pendientes mas bajas.

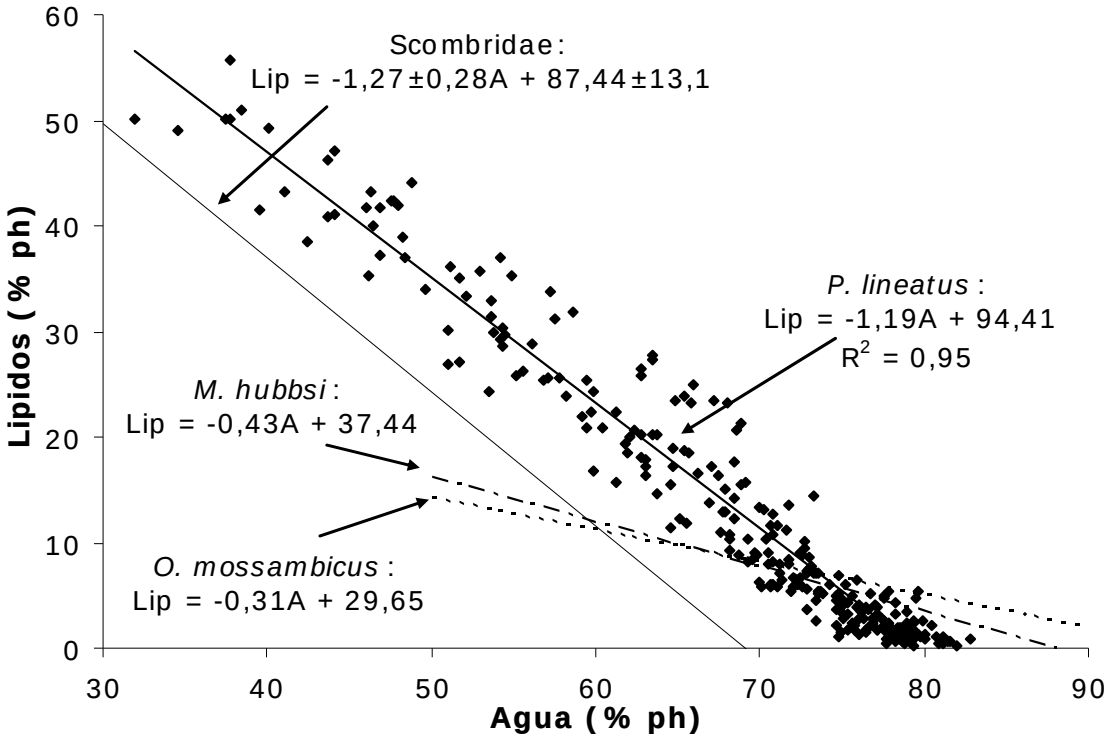


Figura 17. Relación entre el contenido lípidico (Lip) y el contenido de agua (A, en % ph) del sábalo (este trabajo), de Scombridos (en base a Vlieg 1988; Wheeler y Morrissey 2003; Morrissey et al., 2004), de la merluza (*Merluccus hubbsi*; Mendez y Gonzalez 1997) y de la tilapia (*Oreochromis mossambicus*; Salam et al. 2001).

Las diferencias geográficas mas importantes en la composición bioquímica general del músculo se vinculan al contenido lipidico. Los sábalos de BZ poseen un contenido lipídico atípicamente elevado (24 ±14 % ph), que puede superar el 50% del peso húmedo en individuos de mas de 4 kg de peso (rango: 0.90-55,7 % ph). Este valor supera significativamente al de los sábalos de PAR y RLPs (8,0 ± 10 y 8,1 ± 6,7 % respectivamente; $p < 0,0001$) y esta diferencia se acentúa aun mas al compararlos con los sábalos de N (3,4 ± 3,2 %; $p < 0,0001$). El contenido lipídico de los sábalos de BZ supera ampliamente los valores reportados para sábalos del Río de La Plata (7,1-11%, salvo un valor de 34% considerado como "excepcionalmente alto"; Brenner, 1953), río Uruguay (0,2-7,1%; Angelini y Seigneur., 1992), río Paraná medio (5,6-14%; Bayo y Maitre, 1983), río Paraná superior (3,7%; Matsuhita y Souza, 1994), y otras especies de Prochilodus de Brasil (*Prochilodus scrofa*: 2,5±1,7%, Maia et al., 1983; *Prochilodus cearensis*: 3,8±1,5%, Maia et al., 1999 y *Prochilodus* sp.: 6,7-9,0%, Luzia et al., 2003). Los sábalos del N tienen un bajo contenido lipidico (3,4 ± 3,2%), comparable a los valores citados en la literatura. De acuerdo a la base de datos de FishBase (www.fishbase.org), que cuenta con la composición bioquímica de 528 especies de peces, solo el 8 % de los peces tiene un contenido lipidico promedio de mas de 10% ph (Froese y Pauly, 2005). A fines comparativos, la Tabla 10 confronta el

contenido lipídico del sábalo con el de otros peces de alto contenido graso. Tanto en términos de promedio como de rango, los sábalos de BZ se ubican claramente entre los peces más grasos de la literatura.

Tabla 10. Contenido lipídico en peces grasos comparados con el sábalo (nd: no disponible).

Familia	Especie	Lípidos (% ph)	Longitud (cm)	Peso (g)	Referencia
Anguillidae	*Anguilla anguilla*	8,0-31	nd	nd	Huss 1995
Anoplopomatidae	*Anoplopoma fimbria*	15	nd	nd	USDA 2002
Berycidae	*Beryx splendens*	8,0 – 20	45 (44 - 46)	2306 (2009 - 2932)	Vlieg 1988
Carangidae	*Seriolella caerulea*	9,6 – 16	51 (48 - 57)	4010 (3078 - 4802)	Vlieg 1988
Characidae	*Colossoma sp.*	16 – 18	nd	nd	Huss 1995
Clupeidae	*Alosa sapidissima*	15	nd	nd	Ackman 2000
Clupeidae	*Brevoortia sp.*	14±0,2	nd	nd	Mendez et al. 1996
Clupeidae	*Clupea harengus*	0,4-22	nd	nd	Huss 1995
Cyprinidae	*Cyprinus carpio*	2,3-22	54 (42 - 68)	2733 (1086 - 5987)	Rice et al. 2002
Gempylidae	*Nessiarcus nassutus*	16	nd	nd	Brennan y Gormley 1999
Notacanthidae	*Notacanthus chemnititizii*	11±4,1	nd	nd	Sigursgisladottir y Palmadottir 1993
Osmeridae	*Mallotus villosus*	15±5,3	nd	nd	Sigursgisladottir y Palmadottir 1993
Pimelodidae	*Pseudoplatystoma tigrinum*	8,9	nd	nd	Huss 1995
Pleuronectidae	*Reinhardtius hippoglossoides*	13,8	nd	nd	USDA 2002
Salmonidae	*Oncorhynchus tshawytscha*	2,0-11	< 50 - >78	nd	Peters et al. 2003
Salmonidae	*Salmo salar*	0,3-19	nd	nd	Sigursgisladottir y Palmadottir 1993; Huss 1995
Salmonidae	*Salmo salar*	0,3-14	nd	nd	Huss 1995
Salmonidae	*Salmo trutta*	1,2-11	nd	nd	Huss 1995
Salmonidae	*Salmo trutta*	14±0,5	53 ± 10	2730 ± 160	Miller et al. 1993
Salmonidae	*Salvelinus namaycush siscowet*	25±3,0 (22-27)	54 ± 2 (51 - 59)	1677 ± 203 (1400 - 2070)	Miller et al. 1992
Salmonidae	*Salvelinus namaycush*	12 ± 1,0 (5,5 - 17)	59±3 (44 - 76)	2474 ± 348 (820 - 3950)	Miller et al. 1993
Scombridae	*Allothunnus fallai*	16 – 29	73 (69 - 76)	7134 (5721 - 8019)	Vlieg 1988
Scombridae	*Katsuwonus pelamis*	4,6 - 10	47 (45 - 49)	2187 (2012 - 2465)	Vlieg 1988
Scombridae	*Scomber australasicus*	2,6 – 18	45 (43 - 47)	1395 (1094 - 1665)	Vlieg 1988
Scombridae	*Scomber scombrus*	16 ± 0,6	nd	nd	Kirsch et al. 1998
Scombridae	*Thunnus alalunga*	0,7 – 19	nd	6070 (2460-11620)	Morrisey et al. 2004
Trachichthyidae	*Hoplostethus atlanticus*	7,8 – 11	42 (39 - 46)	1539 (1358 -1815)	Vlieg 1988
Prochilodontidae	*Prochilodus lineatus* (N)	3,4 ± 3,2 (0,2 - 14)	41 ± 4,4 (34 - 52)	1628 ± 605 (500 - 3472)	Este trabajo
Prochilodontidae	*Prochilodus lineatus* (PAR)	8,0 ± 10 (0,2 - 50)	43 ± 5,8 (33 - 60)	2054 ± 1049 (500 - 5927)	Este trabajo
Prochilodontidae	*Prochilodus lineatus* (RLPs)	8,1 ± 6,7 (0,3 - 30)	41 ± 5,4 (30 - 51)	1820 ± 724 (600 - 3550)	Este trabajo
Prochilodontidae	*Prochilodus lineatus* (BZ)	24 ± 14 (0,9 - 56)	45 ± 4.9 (32 - 55)	2889 ± 1056 (776 - 5900)	Este trabajo

La pendiente de la relación lípidos-peso es significativamente mayor ($p < 0,05$) en los peces de BZ que en los del N (% lípidos = 0,0085 peso (g) – 2,7; r= 0,70 vs. %lípidos = 0,0023 peso (g) – 0,40; r= 0,44; Figura 18), indicando un aumento mas rápido del contenido lipídico a medida que el pez crece. La pendiente de los peces de PAR (%lípidos = 0,0076 peso (g) – 7,3, r= 0,77) no difiere significativamente de la de BZ, pero al excluir los 22 individuos PAR out, cuyos valores extremos de lípidos y señal de hidrocarburos y PCBs los identifica como procedentes de BZ, la pendiente se reduce significativamente ($p < 0,05$), asemejándose a la de N (% lípidos = 0,0029 peso (g) – 0,48; r= 0,58), confirmando la mezcla de distintos "stocks" de sábalos en el cauce medio del Paraná. Como se observa en la Figura 16, los sábalos de PAR out se ubican dentro de los límites de confianza ($p < 0,05$) de la relación peso-lípidos de los sábalos de BZ y fuera de la de los sábalos de N. Los sábalos de RLPs tienen una relación lípidos-peso (% lípidos = 0,0060 peso (g) – 2,8, r= 0,64) intermedia, con una pendiente significativamente diferente tanto de la de N como de BZ ($p < 0,05$).

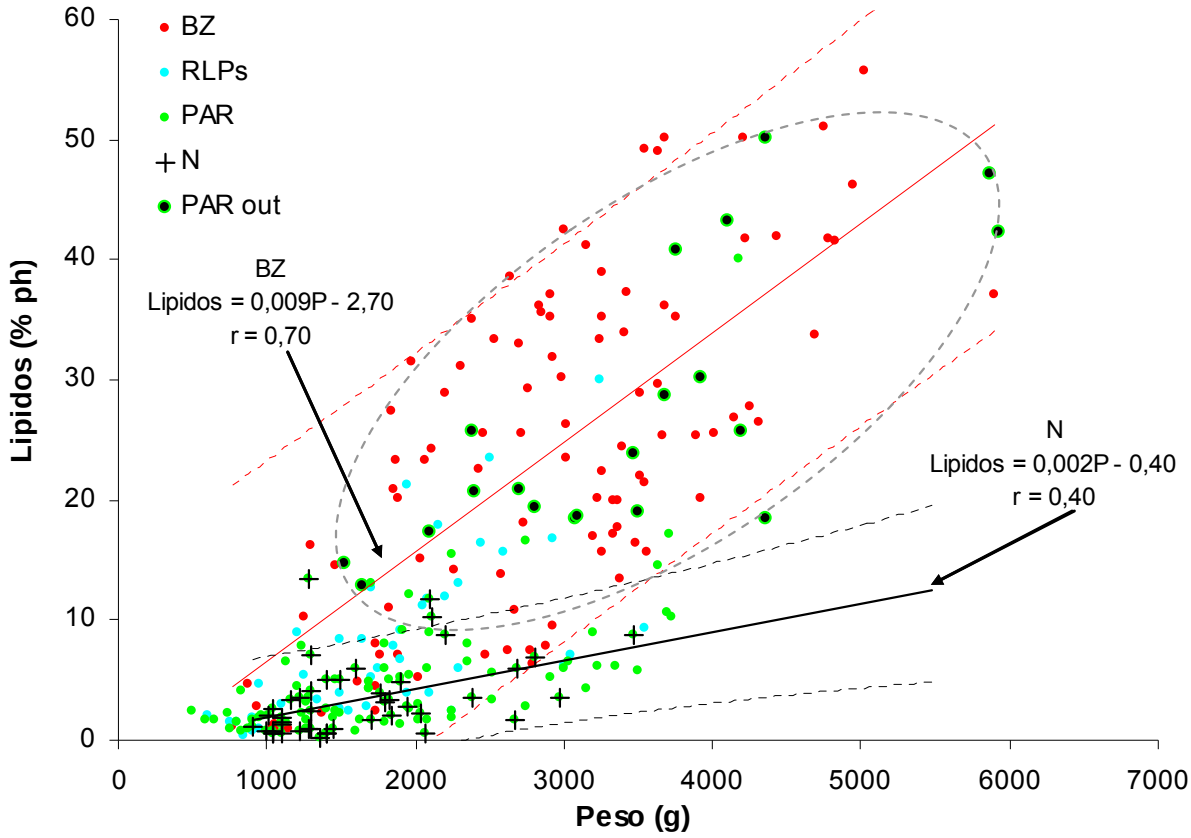


Figura 18. Relación del contenido de lípidos (% ph) con el peso (P, en gramos). Las líneas punteadas marcan los límites de confianza ($p < 0,05$) de estas relaciones para BZ (rojo) y N (negro). La elipse punteada engloba a los individuos de PAR identificados como procedentes de BZ.

Los individuos referidos como PARout están entre los de mayor contenido lipídico de PAR, lo que indica que la migración río arriba se realiza sin una disminución marcada de los depósitos de grasa muscular. Esto es sustentado por Bayley (1973), que afirma que la fuente principal de energía para la migración es la grasa visceral. Considerando que el sábalo puede tener hasta 7% de grasa visceral (Brenner 1953) y que el contenido calórico típico de los lípidos es 37.7 KJ/g, la grasa visceral de un sábalo de 3 kg contiene ~7920 KJ, lo que de acuerdo al consumo calórico de 4,2-17 cal/m recorrido para *Prochilodus mariae* (Saldaña y Venables, 1983) es suficiente para migrar mas de 500 km. Estos sábalos obesos actúan como transportadores de contaminantes a lo largo de la cuenca (Colombo et al., 2004).

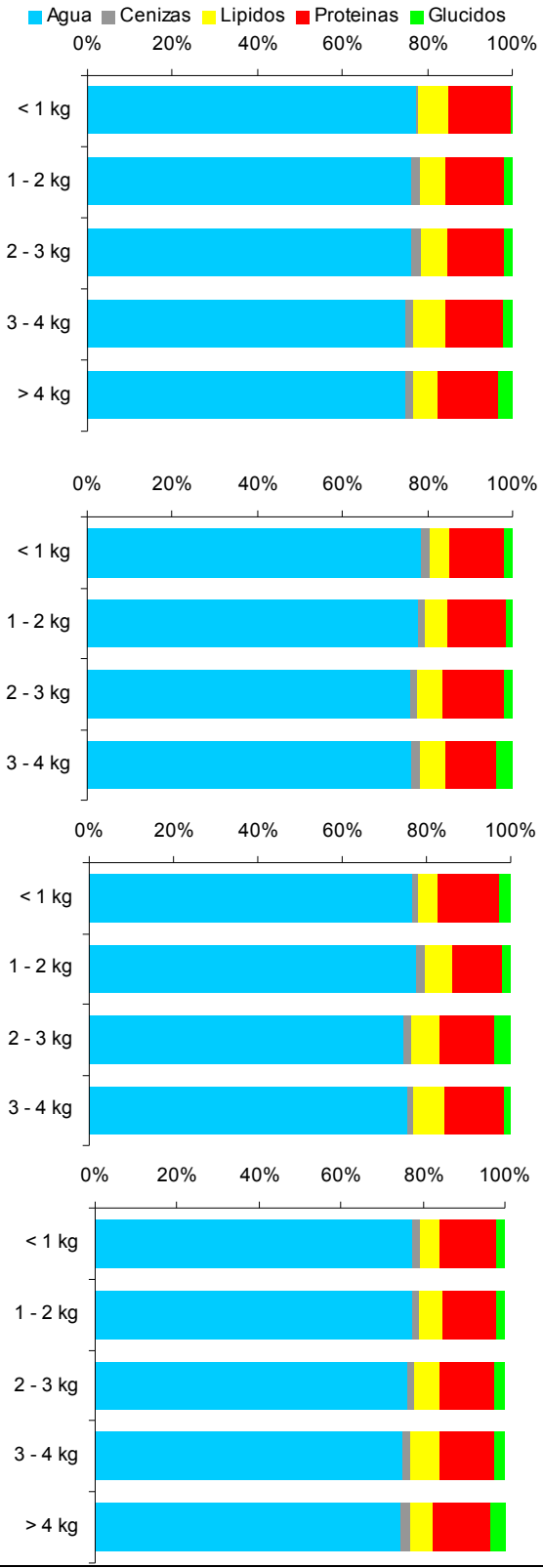
La existencia de sábalos con tenores grasos musculares anormalmente elevados en la zona mas contaminada del área de estudio, sugiere un cambio de la dieta habitual del sábalo, consistente en detritos de origen vegetal pobres en grasas que obligan al pez a sintetizar sus lípidos a partir de glúcidos (Bayo y Cordiviola de Yuan, 1992) a una dieta basada en el consumo elevado de materia orgánica antropogénica.

Hígado

La composición bioquímica general del hígado se presenta en la Tabla 11. La matriz de correlación entre los componentes bioquimicos y los parámetros morfometricos se presenta en la Tabla 12. En comparación al músculo, el hígado tiene una composición bioquímica más conservativa y poco correlacionada con los parámetros morfométricos. En general, el agua constituye 76 ± 3,1 % del hígado y es muy poco variable (DER: 4,1%). El contenido proteico es significativamente mayor que el lipídico (13 ± 2,6 % vs. 6,1 ± 2,1 % ph; $p < 0,0001$). El contenido de carbohidratos, si bien minoritarios, es significativamente mayor que en el músculo (2,2 ± 1,8 % ph; $p < 0,001$), debido a la acumulación de glucidos dietarios en forma de glucogeno, que representa 77 ± 22% de los glúcidos totales. El contenido de cenizas (1,8 ± 0,61 % ph) no se diferencia significativamente al del músculo.

Tabla 11. Composición bioquímica en porcentaje del peso húmedo (% ph) del hígado de los sábalos agrupados por categorías de peso corporal. Los superíndices indican diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de cada zona de muestreo (minúscula) y entre promedios generales (mayúscula).

	Peso (kg)	N	Agua	Cenizas	Proteínas	Glucidos	Lípidos
			(% ph)				
BZ	< 1	3	78±2,5^{a}	0,68±0,95^{a}	14±2,2^{a}	0,54±0,071^{a}	7,3±0,6^{b}
	1-2	18	76±2,2^{a}	1,8±0,61^{a}	14±2,3^{b}	1,9±1,4^{a}	5,9±1,7^{a}
	2-3	22	76±2,4^{a}	2,0±0,7^{b}	13±2,0^{a}	1,9±1,4^{a}	6,4±1,4^{b}
	3-4	29	75±4,9^{a}	1,9±0,85^{a}	13±4,3^{a}	2,4±1,6^{a}	7,3±3,2^{b}
	> 4	12	76±2,7	2,1±0,55	14±2,1	3,6±2,4	5,7±1,3
	Promedio	**84**	**76±3,5^{A}**	**1,9±0,75^{A}**	**14±3,0^{A}**	**2,3±1,7^{A}**	**6,5±2,3^{B}**
RLPs	< 1	8	78±1,9^{a}	1,8±0,29^{b}	13±2,1^{a}	1,8±1,3^{a}	4,5±1,3^{a}
	1 - 2	19	77±2,3^{a}	1,6±0,41^{a}	14±1,7^{b}	1,4±1,3^{a}	5,4±1,7^{a}
	2 - 3	14	76±2,6^{a}	1,5±0,36^{a}	15±2,1^{a}	2,0±2,2^{a}	6,0±1,7^{a}
	3 - 4	3	76±1,4^{a}	2,2±0,85^{a}	12±1,3^{a}	3,7±1,8^{a}	5,9±2,2^{a}
	Promedio	**44**	**77±2,4^{A}**	**1,7±0,43^{A}**	**14±2,0^{A}**	**1,8±1,7^{A}**	**5,5±1,7^{A}**
PAR	< 1	7	76±3,8^{a}	1,8±0,48^{b}	14±2,3^{a}	2,8±1,6^{a}	4,6±1,0^{a}
	1 - 2	22	76±2,1^{a}	2,0±0,35^{b}	12±1,5^{a}	1,9±1,9^{a}	6,1±2,1^{a}
	2 - 3	6	74±3,1^{a}	1,9±0,21^{b}	13±2,4^{a}	3,9±3,2^{a}	6,1±1,5^{a}
	3 - 4	5	75±2,2^{a}	1,9±0,17^{a}	14±2,3^{a}	1,6±1,8^{a}	7,0±2,7^{b}
	Promedio	**40**	**76±2,7^{A}**	**1,9±0,34^{A}**	**13±2,1^{A}**	**2,4±2,2^{A}**	**5,9±1,9^{A}**
Todos	< 1	18	77±2,9^{a}	1,7±0,57^{b}	14±2,1^{a}	2,1±1,5^{a}	4,9±1,4^{a}
	1-2	59	77±2,2^{a}	1,8±0,47^{a}	13±2,0^{a}	1,8±1,6^{a}	5,6±1,7^{a}
	2-3	42	76±2,6^{a}	1,8±0,62^{a}	14±2,1^{a}	2,2±2,1^{a}	6,2±1,5^{a}
	3-4	37	75±4,5^{a}	1,9±0,80^{b}	13±3,9^{a}	2,5±1,6^{a}	7,2±3,1^{b}
	> 4	12	76±2,7	2,1±0,55	14±2,1	3,6±2,4	5,7±1,3
	Promedio	**168**	**76±3,1^{A}**	**1,8±0,61^{A}**	**13±2,6^{A}**	**2,2±1,8^{A}**	**6,0±2,1^{A}**



Como se aprecia en la Tabla 12, no hay una tendencia clara de variación de la composición bioquímica general del hígado con los parámetros morfometricos. A excepción de la covariación inversa de las proteínas y los lípidos con el contenido de agua (r = -0,49 y –0,63 respectivamente), los componentes bioquimicos no están correlacionados entre si.

A diferencia de lo observado en el músculo, la composición bioquímica general del hígado no muestra diferencias geográficas significativas. Si bien el contenido lipídico del hígado de los sábalos de BZ (6,5 ± 2,3 % ph) es significativamente mas elevado que el de los sábalos de RLPs (5,5 ± 1,7 %; $p < 0,012$), este no difiere del registrado en los sábalos de PAR (5,7 ± 1,9 ph),

Tabla 12. Coeficientes de correlación (r) entre los componentes bioquímicos en el hígado, el peso y la longitud de todos los sábalos estudiados. Los superíndices indican las estaciones de muestreo con coeficientes significativos (S: RLPs, B: BZ, P: PAR; N: norte extremo; $p < 0,01$).

	Glucidos	Proteínas	Lípidos	Cenizas	Agua	Peso
			(% ph)			(g)
Longitud (cm)	$0,22^{N}$	0,026	$0,24^{S}$	$0,14^{N}$	$-0,24^{S}$	0,92
Peso	$0,25^{BN}$	0,070	$0,24^{S}$	$0,14^{N}$	$-0,25^{SN}$	
Agua	$-0,26^{PN}$	$-0,49^{BPN}$	$-0,63^{SBPN}$	0,0014		
Cenizas	0,036	-0,22	-0,075			
Lípidos	-0,059	0,043				
Proteínas	$-0,19^{S}$					

Sedimento, material en sedimentación y contenido estomacal

La composición bioquímica de los sedimentos, material en sedimentación y contenidos estomacales se presenta en la Figura 19 y la Tabla 13. En BZ, las concentraciones de lípidos, proteínas y carbohidratos del material en sedimentación son significativamente mas elevadas que las del sedimento (0,99 ± 0,63; 1,6 ± 0,78 y 1,8 ± 0,87% vs. 0,23 ± 0,14; 0,76 ± 0,48 y 0,71 ± 0,58% ph, respectivamente; $p < 0,05$), evidenciando la intensa degradación de la materia orgánica que tiene lugar en la interfase agua-sedimento. Las proporciones de estos componentes en el contenido estomacal de los sábalos de BZ también son significativamente mas altas que en los sedimentos ($p < 0,05$), asemejándose a las del material en sedimentación (lípidos: 0,95 ± 0,90 % ph; proteínas: 0,86 ± 0,55 % ph y carbohidratos: 2,4 ± 1,4 % ph). Esto sugiere que los sábalos consumen preferentemente el material floculento recién depositado, rico en materia orgánica y no el

sedimento consolidado. Esta interpretación es reforzada por la similitud del perfil de hidrocarburos (básicamente petrogénicos), PCBs y LABs del músculo de los Sábalos con el material sedimentable colectado en las trampas (Colombo et al., 2007a, 2007b). En particular, la abundancia de LABs y esteroles fecales con un incipiente estado de alteración en el músculo, indica que los Sábalos ingieren el detritus urbano-industrial recién depositado en cercanía de los efluentes (ver capitulo VII, marcadores de contaminación cloacal). En el Paraná, tanto el material en sedimentación (lípidos: 0,026 ± 0,025% ph; proteínas: 0,30 ± 0,25 % ph y carbohidratos: 0,16 ± 0,15 % ph), como los sedimentos (0,0077 ± 0,017; 0,091 ± 0,083 y 0,095 ± 0,094 % ph, respectivamente), tienen contenidos 4-20 veces más bajos que los de BZ ($p < 0,01$), reflejando los menores aportes de materia orgánica de origen predominantemente natural, en contraste con la abundancia de materia orgánica antropogénica en BZ. El contenido estomacal de los sábalos de PAR tiene, con respecto al de los sábalos de BZ, menores proporciones de lípidos (0,33 ± 0,20 % ph) y carbohidratos (1,7 ± 0,47 % ph) y mayor contenido de proteínas (1,2 ± 0,40 % ph), si bien estas diferencias no son significativas.

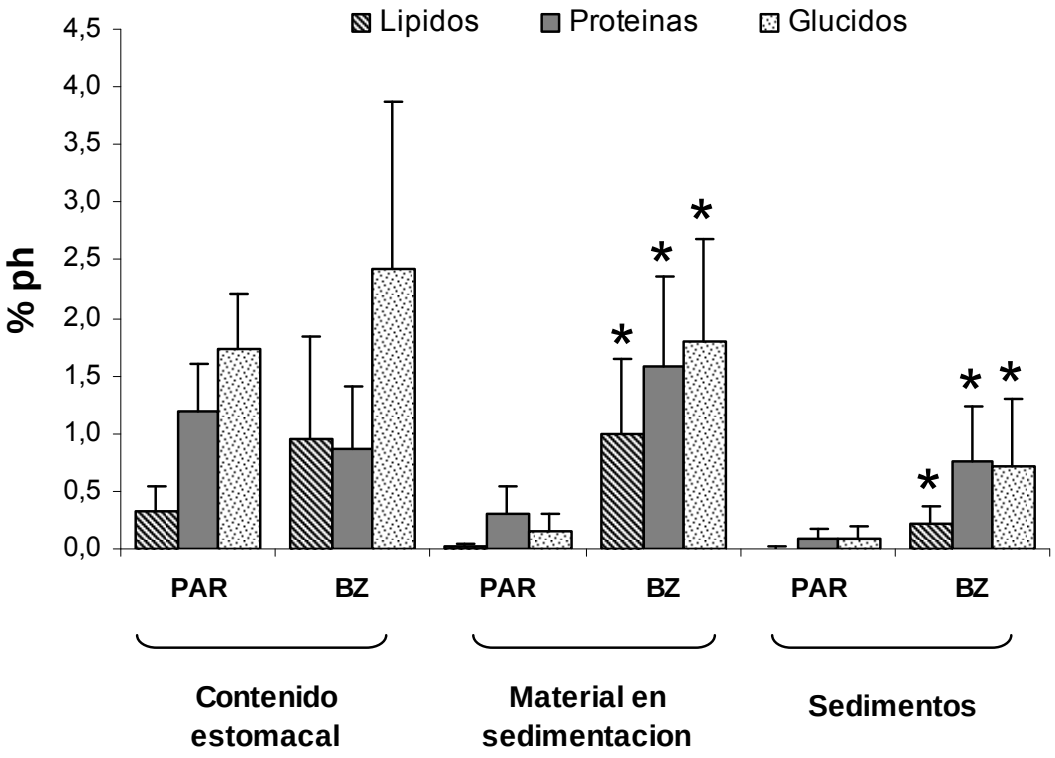


Figura 19. Composición bioquímica del contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos. Las barras marcadas con asterisco indican diferencias significativas entre estaciones para cada compartimiento.

Tabla 13. Composición bioquímica (como porcentaje del peso húmedo) del contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos. (PP: Puerto Pilcomayo, For: Formosa, COR: Corrientes, EMP: Empedrado, BV: Bella Vista, ESQ: Esquina, LP: La Paz, P: Paraná, ROS: Rosario, VIC: Victoria).

	Contenido estomacal				Material en sedimentación				Sedimentos		
	Lípidos	Proteínas	Glucidos		Lípidos	Proteínas	Glucidos		Lípidos	Proteínas	Glucidos
	(% ph)				(% ph)				(% ph)		
					Paraná						
PP	0,043	1,5	1,4	**FOR**	0,02	0,67	0,38	**PP**	0,0014	nd	nd
PP	0,47	1	1,5	**COR**	0,01	0,19	0,14	**FOR**	0,01	0,13	0,18
EMP	0,6	1,1	1,7	**BV**	0,01	0,11	0,04	**COR**	0,0011	0,2	0,2
EMP	0,3	1,1	2,1	**P**	0,02	0,11	0,01	**COR**	0,0013	0,2	nd
EMP	0,48	1,2	0,99	**VIC**	0,07	0,44	0,23	**COR**	0	0,02	0,0029
EMP	0,24	1,4	2,2					**EMP**	0,003	nd	0,2
ESQ	0,45	1,7	2,3					**BV**	0	0,1	0,16
ESQ	0,41	1,1	2,2					**ESQ**	0,002	nd	nd
ESQ	0,011	0,7	1,3					**LP**	0,002	0,1	0,1
								P	0,055	0,2	0,2
								ROS	nd	0,041	0,002
Promedio Paraná	0,33±0,20	1,2±0,29	1,7±0,47		0,026±0,025	0,30±0,25	0,16±0,15		0,0077±0,017	0,091±0,083	0,095±0,094
					Berazategui (BZ)						
	2,1	1,8	2,6		0,78	0,7	2,9		0,07	0,2	0,28
	0,15	0,5	3,4		2,1	2,7	3		0,1	0,78	0,4
	0,22	0,6	0,4		2,7	2,5	3,2		0,14	1,4	0,6
	0,49	0,5	3,1		0,33	1	1,2		0,37	1,3	0,9
	2,3	0,9	2,6		0,43	1	1,3		0,31	0,4	1,8
	1	0,32	3,6		0,11	0,6	0,8		0,37	0,54	0,31
	0,37	1,4	1,2		0,69	1	2,8				
					0,58	1	1,9				
					1,4	1,9	3,3				
					1,3	2,4	2,7				
					0,42	1,2	2				
					0,78	0,56	0,94				
					0,75	0,58	0,67				
					0,89	0,57	1,1				
					0,7	0,6	0,99				
					0,4	2	1,3				
					1,3	2,2	1,3				
					0,4	2,2	1,3				
					1,3	2	1,6				
					0,33	-	-				
					1,8	2,5	1,9				
					1,2	2,3	2,6				
					2,4	0,78	0,87				
					1,3	1,5	1,3				
					0,43	2,4	3,5				
					1	1,1	0,86				
					0,6	1,3	0,81				
					1,1	2,4	1,9				
					1,1	2,8	2,2				
Promedio BZ	0,95±0,90	0,86±0,55	2,4±1,2		0,99±0,63	1,6±0,78	1,8±0,87		0,23±0,14	0,76±0,48	0,71±0,58

La relación entre abundancia de Sábalos y disponibilidad de materia orgánica ha sido previamente notada en la literatura. Por ejemplo, Quirós y Baigun (1985), indican una asociación entre la variabilidad espacial del Sábalo y la concentración de materia orgánica en la columna de agua. Según Villar et al. (2001), el mayor contenido de materia orgánica como pérdida por ignición del contenido estomacal de los sábalos del río de La Plata respecto de los sedimentos sugiere que el sábalo se alimenta selectivamente en los sitios de deposición de materia orgánica de origen antrópico.

Capitulo V

Composición lipidica general

Músculo

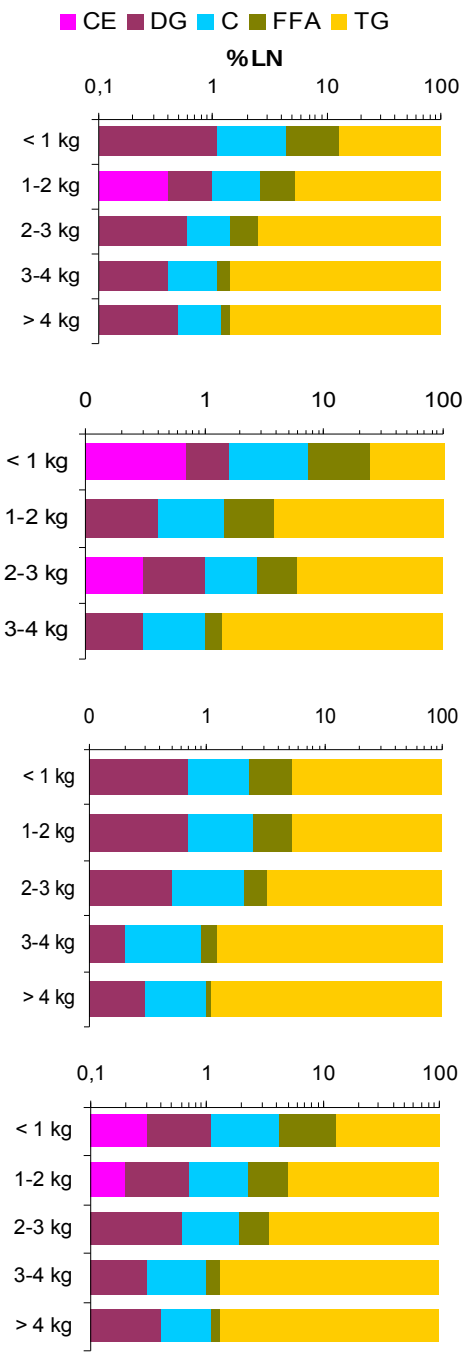
Los lípidos neutros, cuya composición se presenta en la Tabla 14, constituyen 87 ± 15 % del total de los lípidos musculares del sábalo, y al igual que en otros peces de alto contenido lipidico (Nichols et al., 2002; Copeman y Parrish, 2004), están constituidos en su mayor parte por triglicéridos (96 ± 4,1 %), seguidos por bajas proporciones de ácidos grasos libres (2,0 ± 2,8 %) y colesterol (1,5 ± 1,5 %), y proporciones aun mas bajas de diglicéridos (0,54 ± 0,49 %) y esteres de colesterol (0,13 ± 0,46 %).

Como se aprecia en la Figura 20, la composición lipídica del músculo varía en relación al contenido lipídico. A medida que este aumenta, la proporción de triglicéridos sube desde 83 ± 16 % en sábalos con menos de 1% de lípidos, a mas de 99 ± 1,1 % en peces con mas de 10% de grasa muscular, evidenciando la importancia del músculo como deposito de energía en esta especie. Concomitantemente, las proporciones de las restantes clases lipídicas disminuyen rápidamente (18 ± 15 % en sábalos con menos de 1% de lípidos, a 1,6±1,4 % en sábalos con mas de 10% de lípidos). Los ácidos grasos libres constituyen una fracción significativa de los lípidos neutros en los individuos con menos de 1 % de contenido lípidico (11 ± 13 %), reflejando probablemente su mayor actividad metabólica.

A diferencia de lo que ocurre con la composición bioquímica general, no se observan diferencias en la composición de clases lipídicas del músculo entre los sábalos de BZ y el resto, probablemente debido la amplia predominancia de los TG en los individuos con más de 10% de grasa.

Tabla 14. Composición de clases lipídicas como porcentaje de los lípidos neutros (% LN, escala logarítmica) del músculo de sábalo (nd: no detectable). Los superíndices indican diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de cada zona de muestreo (minúscula) y entre promedios generales (mayúscula).

	Peso (kg)	n	DG	C	FFA	TG	CE
			(% LN)				
BZ	< 1	3	1,1±0,95^{a}	3,3±1,6^{b}	8,7±5,0^{a}	86±5,6^{a}	nd
	1-2	20	0,60±0,70^{a}	1,6±1,7^{a}	2,7±5,4^{a}	95±7,9^{a}	0,42±0,98^{a}
	2-3	32	0,54±0,54^{a}	0,76±0,33^{a}	1,1±1,6^{a}	98±2,4^{a}	0,12±0,30^{a}
	3-4	32	0,38±0,54^{a}	0,71±0,22^{a}	0,28±0,45^{a}	99±0,85^{a}	nd
	> 4	13	0,45±0,63^{a}	0,66±0,15^{a}	0,21±0,35^{a}	99±0,85^{a}	0,0080±0,0028^{a}
	Promedio	**100**	**0,51±0,60^{A}**	**0,97±0,85^{A}**	**1,1±2,4^{A}**	**97±3,4^{B}**	**0,12±0,48^{A}**
RLPs	< 1	8	0,91±1,1^{a}	5,7±5,3^{b}	17±18^{a}	79±23^{a}	0,67±1,2^{a}
	1-2	18	0,43±0,80^{a}	1,1±0,59^{a}	2,3±4,1^{a}	97±2,5^{a}	0,043±0,18^{a}
	2-3	12	0,68±1,1^{a}	1,7±2,3^{a}	3,4±7,3^{a}	96±7,2^{a}	0,32±0,97^{a}
	3-4	4	0,27±0,31^{a}	0,66±0,18^{a}	0,43±0,87^{a}	99±1,2^{a}	nd
	Promedio	**42**	**0,58±0,92^{A}**	**2,1±3,1^{A}**	**5,3±11^{B}**	**93±12^{A}**	**0,24±0,77^{A}**
PAR	< 1	13	0,58±0,30^{a}	1,6±0,52^{a}	3,0±2,0^{a}	95±2,1^{a}	0,083±0,13^{a}
	1-2	65	0,57±0,45^{a}	1,8±1,6^{a}	2,9±3,3^{a}	95±4,7^{a}	0,14±0,38^{a}
	2-3	30	0,41±0,41^{a}	1,6±1,9^{a}	1,2±1,8^{a}	97±3,8^{a}	0,059±0,14^{a}
	3-4	19	0,15±0,19^{a}	0,74±0,22^{a}	0,27±0,42^{a}	99±0,63^{a}	nd
	> 4	7	0,23±0,43^{a}	0,72±0,28^{a}	0,14±0,26^{a}	99±0,74^{a}	0,10±0,18^{a}
	Promedio	**134**	**0,46±0,42^{A}**	**1,5±1,5^{A}**	**2,0±2,8^{A}**	**96±4,1^{A}**	**0,094±0,28^{A}**
Todos	< 1	24	0,75±0,71^{a}	3,2±3,5^{ab}	8,4±12^{a}	89±15^{a}	0,27±0,75^{a}
	1-2	103	0,55±0,57^{a}	1,6±1,5^{a}	2,8±3,9^{a}	95±5,2^{a}	0,18±0,54^{a}
	2-3	74	0,51±0,63^{a}	1,3±1,5^{a}	1,5±3,4^{a}	97±4,9^{a}	0,13±0,44^{a}
	3-4	55	0,29±0,44^{a}	0,72±0,22^{a}	0,29±0,47^{a}	99±0,80^{a}	nd
	> 4	20	0,38±0,56^{a}	0,68±0,20^{a}	0,16±0,31^{a}	99±0,80^{a}	0,036±0,11^{a}
	Promedio	**276**	**0,49±0,59^{A}**	**1,4±1,7^{A}**	**2,2±5,1^{A}**	**96±6,3^{A}**	**0,13±0,46^{A}**



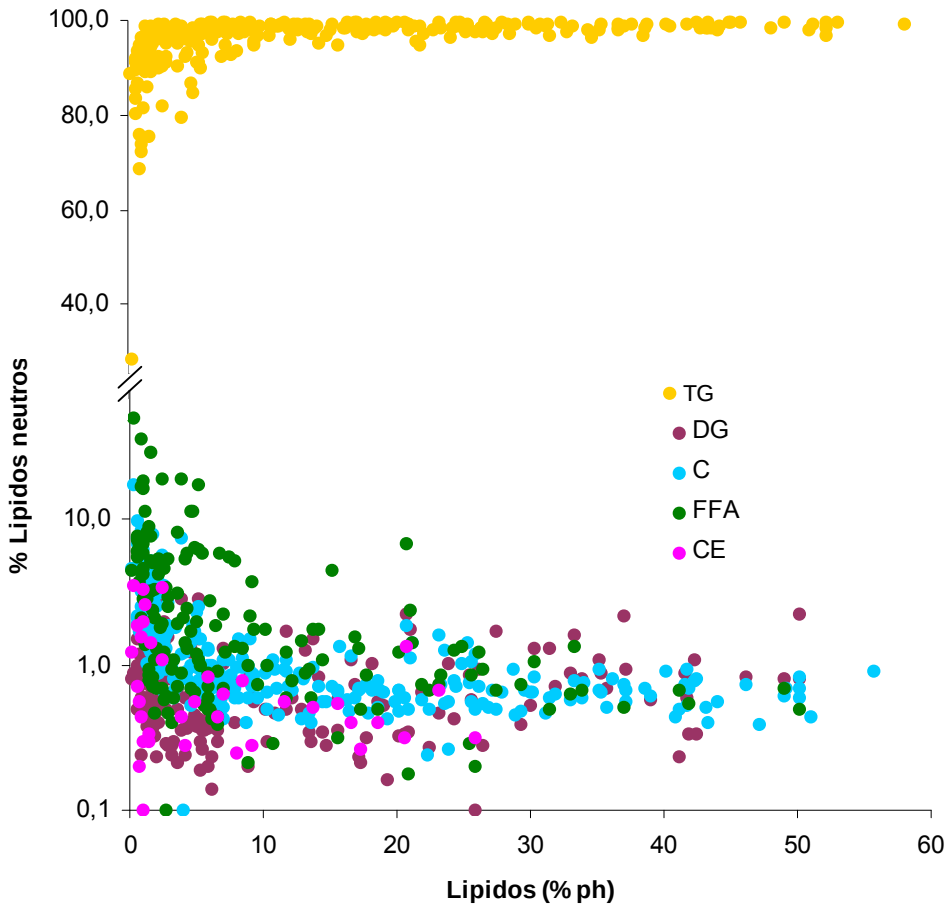


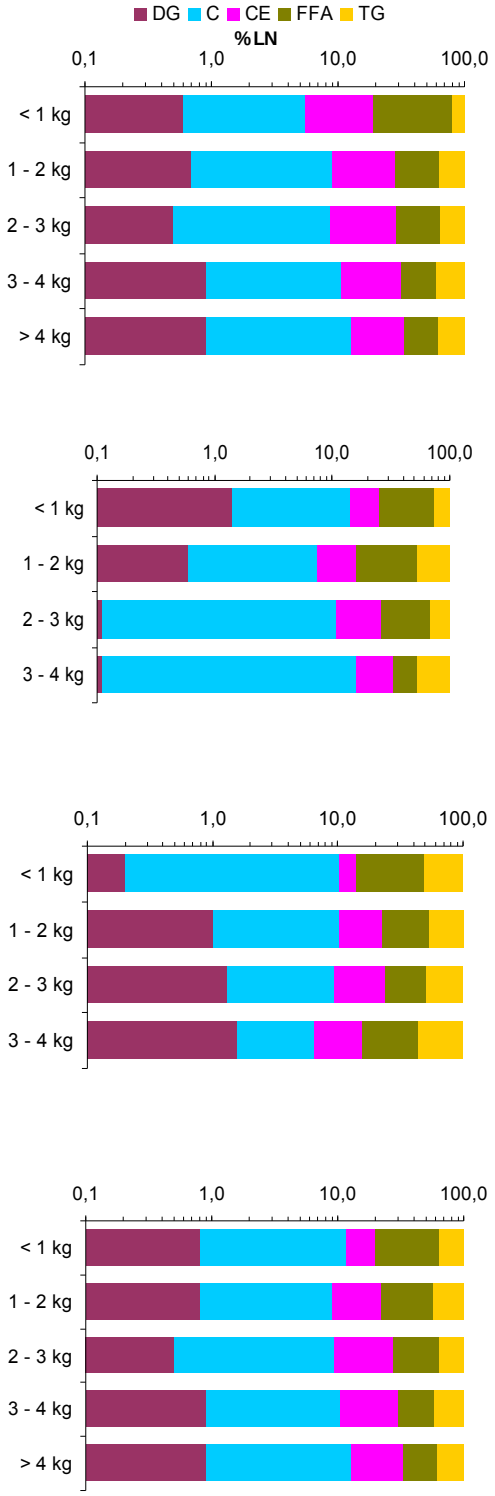
Figura 20. Variación de la abundancia relativa de las distintas clases de lípidos neutros con el contenido graso muscular. TG: triglicéridos; DG: diglicéridos; C: colesterol; FFA: ácidos grasos libres; CE: esteres de colesterol.

Hígado

La composición de los lípidos neutros del hígado se presenta en la Tabla 15. El hígado posee, con respecto al músculo, una menor proporción de lípidos neutros (55 ± 18 %) y una contribución más equilibrada de las distintas clases lipídicas. La composición lipídica del hígado no esta claramente correlacionada con parámetros morfométricos o bioquímicos. Los lípidos neutros más abundantes del hígado son los triglicéridos (40 ± 21 %) y los ácidos grasos libres (34 ± 19 %). Los esteres de colesterol, prácticamente insignificantes en el músculo, representan 16 ± 11 % de los lípidos neutros del hígado, mientras que el colesterol no esterificado constituye el 9,2 ± 5,5, reflejando el rol clave del hígado en el metabolismo de los esteroles. Los diglicéridos, aunque minoritarios, son mas abundantes que en el músculo (0,78 ± 0,91%).

Tabla 15. Composición de clases lipídicas como porcentaje de lípidos neutros (% LN, escala logarítmica) del hígado del sábalo (nd: no detectable). Los superíndices indican diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de cada zona de muestreo (minúscula) y entre promedios generales (mayúscula).

	Peso (kg)	n	DG	C	FFA	TG	CE
			(% LN)				
BZ	< 1	3	0,58±0,035^{a}	5,0±0,13^{a}	61±0,72^{b}	20±0,65^{a}	13±1,0 ^{b}
	1 - 2	18	0,69±0,82^{a}	8,3±4,3^{a}	34±18^{a}	37±22^{a}	20±10^{b}
	2 - 3	22	0,55±0,58^{a}	8,1±3,8^{a}	35±17^{ab}	36±16^{a}	20±8,6^{a}
	3 - 4	29	0,89±1,1^{b}	9,5±4,6^{b}	29±16^{a}	40±18^{a}	21±8,3^{b}
	> 4	12	0,95±1,0	12±5,7	28±18	39±22	20±11
	Promedio	**84**	**0,76±0,88^{A}**	**9,1±4,6^{A}**	**32±17^{A}**	**38±19^{A}**	**20±9,1^{B}**
RLPs	< 1	8	1,4±1,0^{b}	13±6,7^{b}	49±9,8^{a}	25±16^{a}	11±5,0^{b}
	1 - 2	19	0,59±1,1^{a}	7,0±3,4^{a}	37±23^{a}	47±24^{a}	8,3±7,4^{a}
	2 - 3	14	0,12±0,25^{a}	11±9,5^{a}	43±22^{b}	31±21^{a}	15±12^{a}
	3 - 4	3	0,05±0,092^{a}	16±12^{b}	21±13^{a}	46±22^{a}	18±13^{b}
	Promedio	**44**	**0,55±0,96^{A}**	**9,8±7,4^{A}**	**40±21^{A}**	**38±23^{A}**	**12±9,6^{A}**
PAR	< 1	7	0,25±0,42^{a}	9,9±1,9^{b}	35±13^{a}	51±16^{c}	3,9±4,4^{a}
	1 - 2	22	0,96±0,79^{a}	9,1±5,1^{a}	32±20^{a}	46±21^{a}	12±11^{a}
	2 - 3	6	1,3±0,94^{b}	8,1±6,2^{a}	28±18^{a}	49±19^{a}	14±14^{a}
	3 - 4	5	1,6±1,6^{b}	4,8±1,6^{a}	28±27^{a}	57±22^{a}	9,3±13^{a}
	Promedio	**40**	**0,93±0,88^{A}**	**8,8±4,7^{A}**	**31±19^{A}**	**48±20^{B}**	**11±11^{A}**
Todos	< 1	18	0,83±0,92^{a}	11±5,2^{b}	45±14^{a}	35±20^{b}	8,4±5,8^{ab}
	1 – 2	59	0,76±0,91^{a}	8,2±4,4^{a}	34±20^{a}	44±23^{a}	13±11^{a}
	2 – 3	42	0,51±0,66^{a}	8,9±6,5^{a}	37±19^{b}	36±19^{a}	18±11^{a}
	3 - 4	37	0,87±1,1^{a}	9,7±5,6^{b}	28±16^{a}	42±19^{a}	20±9,4^{b}
	> 4	12	0,95±1,0	12±5,7	28±18	39±22	20±11
	Promedio	**168**	**0,8±0,9^{A}**	**9,2±5,5^{A}**	**34±19^{A}**	**40±21^{A}**	**16±11^{AB}**



La composición lipídica del hígado no está claramente correlacionada con parámetros morfométricos o bioquímicos. Tampoco se observan correlaciones significativas ($p < 0,05$) entre las clases lipidicas, a excepción de la correlación inversa entre triglicéridos y ácidos grasos libres ($r = -0,77$).

Los hígados de sábalos de BZ tienen una proporción de CE significativamente mayor que los de RLPs y PAR (20 ± 9,1 vs, 12 ± 9,6 y 11 ± 11 % respectivamente; $p < 0,0001$). Este aumento del CE podría deberse a un mayor aporte de lípidos y carbohidratos en la dieta (MacDonald, 1966) o a la interferencia de contaminantes en el metabolismo de los esteroles, ya que la síntesis de colesterol puede verse incrementada por la exposición a PCBs (Kohli et al, 1979; Yagi e Itokawa, 1980).

Sedimento, material en sedimentación y contenido estomacal

La composición de clases lipídicas de contenidos estomacales, material en sedimentación y sedimentos se presenta en la Figura 21 y Tabla 16. En términos generales, las proporciones de FFA, TG y CE en el contenido estomacal y el material en sedimentación son comparables y 2-6 veces más elevadas que las correspondientes a los sedimentos ($p < 0,01$), indicando que el sábalo ingiere preferencialmente el material recién depositado con abundante materia orgánica fresca, en contraste con la materia orgánica del sedimento, mucho mas degradada. Esto es reflejado por la diferente composición de los lípidos en el material en sedimentación y contenido estomacal que contienen una fracción de lípidos no caracterizados (NC= 65 ± 15% y 62 ± 16 de los lípidos totales, respectivamente) significativamente menor que en los sedimentos (87 ± 8,0 %; $p < 0,0001$). Los contenidos estomacales poseen respecto al material en sedimentación una mayor concentración de triglicéridos (16 ± 13 vs 9,2 ± 2,9 %; $p < 0,04$), debido probablemente a aportes del estomago. Las proporciones de colesterol, en cambio, no difieren significativamente entre los tres compartimentos (contenido estomacal: 2,6 ± 1,4 %; material en sedimentación: 3,6 ± 3,1 %; sedimentos: 2,1 ± 2,3 %), posiblemente reflejando la resistencia de los esteroles a la degradación en comparación a los lípidos acilados (Gaskell y Eglington, 1974; Meyers e Ishiwatari, 1993).

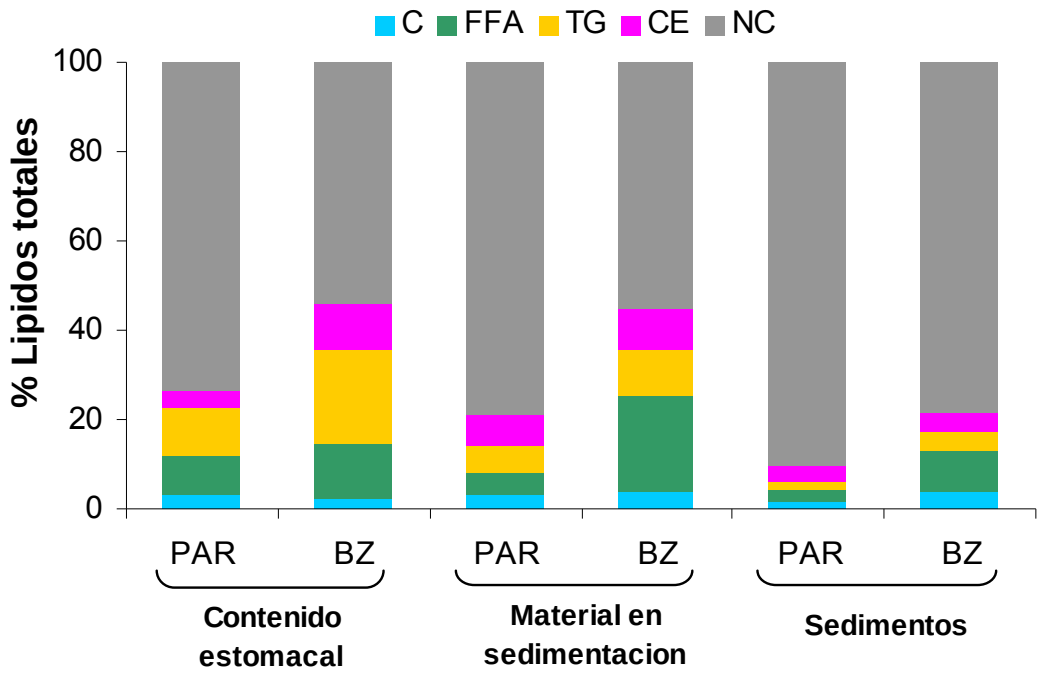


Figura 21. Composición lipídica del contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos (NC: lípidos no caracterizados).

La composición lipidica de los contenidos estomacales, el material en sedimentación y los sedimentos muestra claras variaciones geográficas. En BZ estos tres compartimientos poseen, en relación a PAR, proporciones significativamente mayores de FFA y TG y menores proporciones de lípidos no caracterizados ($p < 0,05$; Tabla 14), evidenciando los aportes de material orgánica fresca antropogénica provenientes del emisario cloacal. Este enriquecimiento en grasas fácilmente asimilables como los FFA en un área altamente contaminada como BZ puede facilitar la absorción dietaria de xenobióticos (Kuksis, 1986; Van Veld, 1990).

Tabla 16. Composición lipídica como % de lípidos totales del contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos.

	C	FFA	TG	CE	NC
			Contenido estomacal		
PP	5,9	16	3,4	15	60
PP	1,5	5,4	49	0,3	44
EMP	4,2	7,4	5,8	2,5	80
EMP	3,5	9,8	2,3	2,0	82
EMP	4,5	11,6	2,5	2,2	79
EMP	2,7	9,7	2,3	1,1	84
ESQ	1,6	7,9	8,9	2,3	79
ESQ	1,4	9,3	11,5	1,8	76
ESQ	1,8	4,8	11,1	3,7	79
Promedio PAR	3,0±1,6	9,1±3,3	11±15	3,4±4,4	74±13
BZ	1,8	18	16	10	54
BZ	1,3	23	20	18	37
BZ	2,0	6,3	16	7,5	69
BZ	3,0	8,0	26	11	52
BZ	1,1	6,1	31	5,5	56
BZ	2,6	12	17	7,2	61
BZ	2,0	14	24	12	48
Promedio BZ	2,0±0,66	12±6,2	21±5,8	10±4,2	54±9,8
			Material en sedimentacion		
FOR	1,6	5,4	2,5	5,9	85
COR	3,6	8,1	6,1	4,9	77
BV	2,0	2,4	7,2	7,0	81
P	2,8	3,9	6,8	9,6	77
VIC	6,4	4,9	5,6	8,6	75
Promedio PAR	3,3±1,9	4,9±2,1	5,6±1,9	7,2±1,9	79±4,1
BZ	11	22	12	10	44
BZ	1,9	27	14	2,4	55
BZ	10	24	7,7	9,4	49
BZ	8,8	27	9,0	11	45
BZ	1,4	13	9,3	8,7	67
BZ	2,7	30	14	11	43
BZ	1,1	12	10	6,6	70
BZ	1,5	20	11	3,0	64
BZ	1,6	6,8	8,9	8,5	74
BZ	1,6	5,7	9,0	5,4	78
BZ	2,7	26	7,8	8,2	55
BZ	2,4	28	13	13	44
BZ	2,5	28	9,3	17	43
BZ	2,4	32	12	13	42
Promedio BZ	3,7±3,5	22±8,6	10±2,1	9,0±3,9	55±13
			Sedimentos		
PP	1,9	5,7	1,7	4,9	86
FOR	1,8	4,9	nd	1,8	91
COR	2,6	3,3	1,7	6,6	86
COR	0,64	2,2	1,6	2,9	93
EMP	1,0	2,4	2,1	3,4	91
BV	1,0	1,8	1,0	nd	96
ESQ	1,0	2,3	2,0	5,0	90
LP	1,3	1,7	2,6	4,1	90
Promedio PAR	1,4±0,64	3,0±1,5	1,6±0,80	3,6±2,1	90±3,5
BZ	8,7	12,4	6,0	6,8	66
BZ	1,1	4,7	4,2	2,9	87
BZ	1,9	9,9	2,6	3,5	82
Promedio BZ	3,9±4,2	9,0±3,9	4,3±1,7	4,4±2,1	79±11

C: colesterol, FFA: ácidos grasos libres,; TG: triglicéridos, CE: esteres de colesterol, NC: no caracterizado, PP: Puerto Pilcomayo, FOR: Formosa, COR: Corrientes, EMP: Empedrado, BV: Bella Vista, ESQ: Esquina, LP: La Paz, P: Paraná, VIC: Victoria.

Con el objeto de estudiar con mayor detalle los componentes de la fracción de lípidos no caracterizada, se analizaron distintas fracciones separadas a partir del extracto total con sistemas de solvente de desarrollo acordes a su polaridad, distinguiendo a los lípidos no acilados mediante saponificación. La fracción no eluible con el sistema de solventes empleado para la cuantificación de las clases lipídicas no posee fosfolípidos (salvo en los contenidos estomacales, en cuyo caso podrían atribuirse a contaminación del material dentro del estomago). Los sedimentos, el material en sedimentación y los contenidos estomacales tienen una composición compleja de esteroles, observándose un grupo de esteroles con una RF ligeramente inferior a la del colesterol (Figura 22). Además, en la fracción correspondiente a compuestos con Rf similar a la del colesterol hay dos clases de lípidos no acilados, que de acuerdo a sus Rf corresponderían a pigmentos vegetales (Rf = 0,18) y alcoholes (Rf = 0,35; Volkman et al., 1981; Kates, 1986). Es interesante remarcar que las manchas correspondientes a pigmentos son sólo abundantes en el contenido estomacal de los Sábalos de Paraná, lo que apoyaría la interpretación de una dieta natural con aportes vegetales.

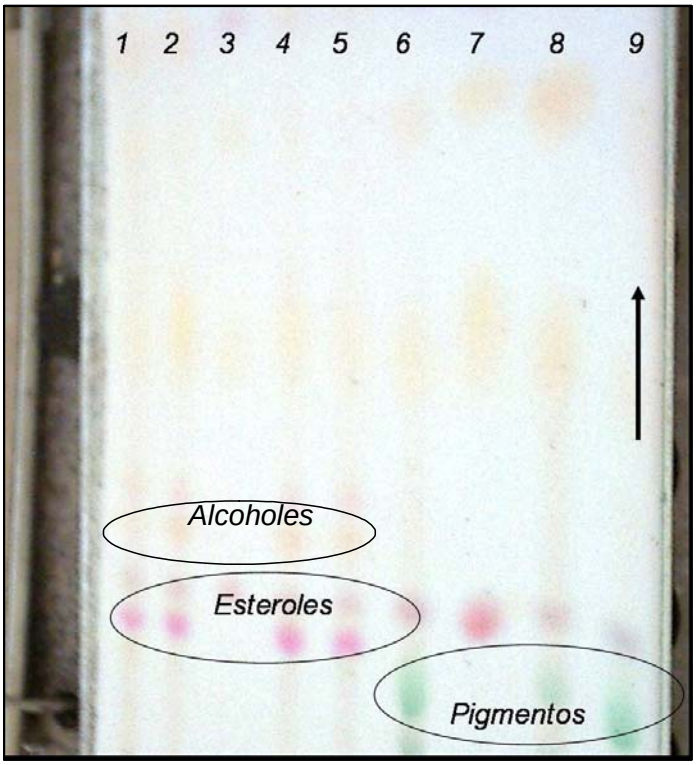


Figura 22. Corrida de cromatografía en capa fina (sistema de solventes: éter de petróleo: dietileter: ácido acético glacial, 80:30:2) en la fase inicial del charring de lípidos en material en sedimentación (calles 1, 2, 4 y 5) y contenido estomacal de sábalos de PAR (Esquina; calles 6, 8 y 9). Las calles 3 y 7 corresponden a estándares. Obsérvense los colores característicos de las manchas de pigmentos vegetales (solo abundantes en el contenido de los peces de PAR) y de las manchas de esteroles (que son dobles en el material en sedimentación).

Las fracciones correspondientes a los ácidos grasos libres y a los triglicéridos no incluyen otras clases lipidicas. El análisis de la banda de mayor Rf y de menor polaridad, correspondiente a los esteres de colesterol (CE, Figura 23), reveló que posee compuestos no saponificables muy poco polares, probablemente hidrocarburos que son muy abundantes en el material sedimentable de Berazategui (Colombo et al., 2007c), esteroles esterificados y otra clase de compuestos que de acuerdo a los Rf citados en la literatura podrían corresponder a cetonas (Volkman et al., 1981; Smith y Eglington, 1983).

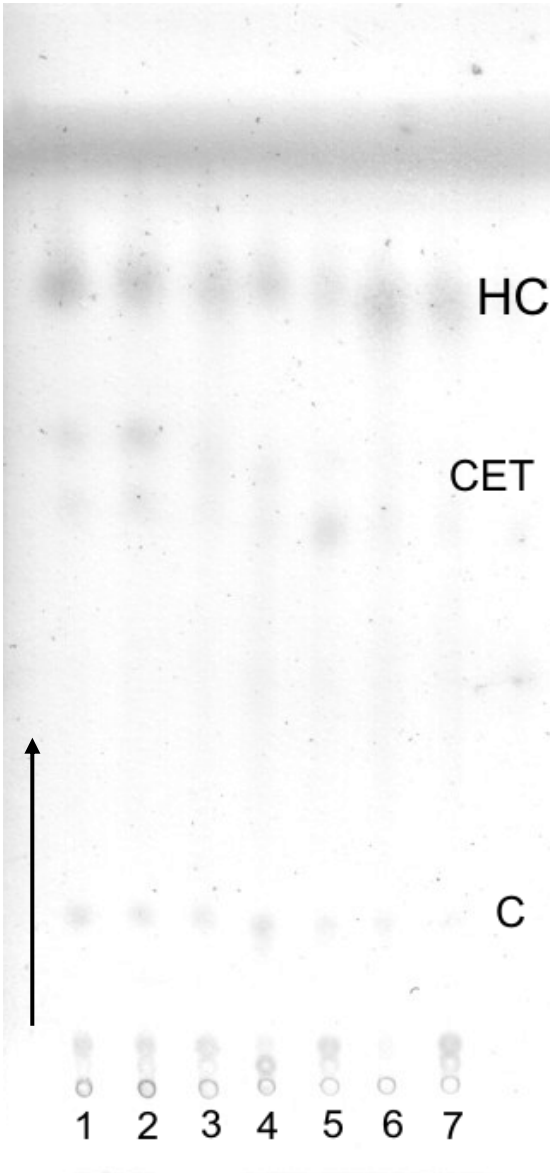


Figura 23. Corrida de cromatografía en capa fina de la fracción menos polar de los lípidos del material en sedimentación de BZ (calles 1, 2 y 5) y el contenido estomacal de sábalos de BZ (calles 3 y 7) y PAR (calles 4 y 6; sistema de solventes: hexano:dietileter (96:4), C: colesterol, CET: cetonas, HC: hidrocarburos).

Capitulo VI

Composición lipidica detallada: ácidos grasos

Músculo

La composición de ácidos grasos totales del músculo se presenta en la Tabla 17 como concentraciones en mg/g de lípidos totales y la Figura 24 como proporción del total de ácidos grasos. El perfil de ácidos grasos está claramente dominado por ácidos grasos de 16 y 18 carbonos, coincidiendo con lo observado previamente en el sábalo y otros peces de la cuenca (Brenner, 1953; Brenner et al, 1961; Bayo y Maitre, 1983; Mendez et al., 1996). Los ácidos grasos mayoritarios son el 18:1 n-9 (148 ± 67 mg/g lípido; 22 ± 5,9 % del total), 16:0 (165 ± 45 mg/g; 25 ± 3,1 %), 16:1 n-7 (74 ± 40 mg/g; 11 ± 5,5 %) y 18:0 (60 ± 25 mg/g; 8,8 ± 2,4 %). Los ácidos grasos polinsaturados (AGP) son relativamente abundantes (140 ± 51 mg/g lípidos) constituyendo el 21 ± 5,4 % del total, principalmente representados por el 18:2 (49 ± 35 mg/g; 7,0 ± 3,8 %), el 20:5 n-3 (22 ± 18 mg/g; 3,5 ± 2,9 %) el 22:6 n-3 (17 ± 15 mg/g; 2,9 ± 2,5 %) y el 20:4 n-6 (16 ± 19 mg/g; 2,6 ± 2,9 %). La abundancia de estos AGP es un rasgo característico en peces y refleja su importancia metabólica, p.ej. como precursores de eicosanoides (prostaglandinas, leucotrienos) o modulando mecanismos de transducción celular en micro-dominios de membrana (Sargent et al., 1995; Ma et al., 2004).

La composición de los ácidos grasos muestra una clara variación con la talla de los sábalos (Figura 25) observándose un incremento significativo ($p < 0,05$) en la abundancia del 18:1 n-9 (91 ± 26 a 254 ± 42 mg/g de lípido; 17 ± 3,3 a 29 ± 2,8 %) y del 18:2 (31 ± 16 a 98 ± 16 mg/g lípido; 5,4 ± 2,0 a 11 ± 1,8%) con reducción de los demás ácidos a medida que el pez crece de < 1kg a > 4 kg. Esta tendencia refleja el mayor peso de la composición de los triglicéridos a medida que el pez crece y engorda, y el efecto de los xenobióticos en el metabolismo lipídico que es más marcado en los peces de mayor talla de Berazategui.

Tabla 17. Concentración de ácidos grasos (mg/g de lípidos totales) del músculo del sábalo. Los superíndices indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las zonas de muestreo.

Acidos grasos	BZ	RLPs	PAR	N	TODOS
10:0	0,29±0,79^{a}	0,31±0,70^{a}	0,23±0,79^{a}	0,35±0,94^{a}	0,26±0,77^{a}
11:0	0,13±0,57^{a}	0,057±0,26^{a}	0,075±0,32^{a}	0,068±0,28^{a}	0,086±0,40^{a}
12:0	0,98±1,1^{a}	0,50±0,86^{a}	0,67±0,95^{a}	0,62±0,83^{a}	0,72±1,0^{a}
13:0	0,20±0,38^{a}	0,042±0,015^{a}	0,094±0,28^{a}	0,082±0,29^{a}	0,11±0,30^{a}
14:1 n-5	1,1±3,4^{a}	1,2±4,6^{a}	3,4±6,2^{a}	3,0±4,4^{a}	2,4±5,4^{a}
14:0	20±7,6^{a}	16±6,6^{a}	14±8,1^{a}	13±7,1^{a}	16±8,1^{a}
15:1 n-5	0,77±2,1^{a}	0,43±1,5^{a}	1,2±2,1^{a}	0,94±1,8^{a}	0,9±2,0^{a}
15:0	6,8±3,1^{a}	4,7±2,4^{a}	4,3±3,0^{a}	4,2±2,5^{a}	5,0±3,1^{a}
16:1 n-7	61±30^{a}	76±38^{a}	80±44^{a}	72±40^{a}	74±40^{a}
16:0	181±44^{b}	149±43^{a}	161±43^{ab}	153±33^{a}	165±45^{ab}
17:1 n-7	4,0±2,6^{a}	3,3±2,0^{a}	3,2±2,9^{a}	2,4±2,5^{a}	3,4±2,7^{a}
17:0	7,5±2,8^{a}	6,3±3,2^{a}	6,6±3,0^{a}	6,1±2,9^{a}	6,8±3,0^{a}
18:3 n-6	3,1±2,2^{a}	1,1±1,0^{a}	2,5±2,7^{a}	2,6±3,3^{a}	2,4±2,4^{a}
18:2 n-6	80±32^{b}	38±26^{a}	38±29^{a}	37±31^{a}	49±35^{a}
18:1 n-9	198±62^{b}	122±46^{a}	132±62^{a}	124±67^{a}	148±67^{a}
18:1 n-11	46±18^{b}	33±11^{a}	34±16^{a}	31±12^{a}	37±17^{ab}
18:0	76±24b	50±18^{a}	55±24^{a}	55±25^{a}	60±25^{ab}
20:4 n-6	8,0±6,5a	11±8,0^{a}	22±23^{b}	29±29^{b}	16±19^{ab}
20:5 n-3	11±8,8^{a}	26±15^{b}	26±20^{b}	32±22^{b}	22±18^{b}
20:3 n-6	13±5,9^{a}	7,6±3,3^{a}	9,8±6,1^{a}	10±5,6^{a}	10±5,9^{a}
20:2 n-6	7,0±7,6^{a}	5,4±6,5^{a}	6,0±6,7^{a}	5,5±5,7^{a}	6,2±6,9^{a}
20:3 n-3	15±9,5^{a}	16±10^{a}	17±9,4^{a}	16±10^{a}	16±9,6^{a}
20:0	2,0±1,3^{a}	2,2±2,5^{a}	1,4±1,9^{a}	1,2±1,3^{a}	1,7±1,9^{a}
21:0	0,67±1,3^{a}	1,0±1,6^{a}	1,6±2,5^{a}	2,0±3,4^{a}	1,3±2,1^{a}
22:6 n-3	8,1±5,9^{a}	17±11^{b}	22±16^{bc}	27±18^{bc}	17±15^{b}
22:2 n-6	0,34±0,87^{a}	0,19±0,37^{a}	0,48±1,6^{a}	0,44±0,89^{a}	0,39±1,3^{a}
22:1 n-5	0,10±0,26^{a}	0,076±0,23^{a}	0,31±1,7^{a}	0,25±0,54^{a}	0,21±1,2^{a}
22:0	0,43±1,1^{a}	0,31±0,48^{a}	0,37±0,77^{a}	0,52±0,90^{a}	0,38±0,82^{a}
23:0	0,1±0,5^{a}	0,19±0,41^{a}	0,11±0,28^{a}	0,14±0,29^{a}	0,13±0,38^{a}
24:1 n-9	1,7±2,4^{a}	1,2±1,6^{a}	2,6±4,4^{a}	2,8±5,5^{a}	2,1±3,6^{a}
24:0	0,088±0,25^{a}	0,16±0,34^{a}	0,13±0,32^{a}	0,14±0,32^{a}	0,13±0,31^{a}
Total	**757±188^{b}**	**590±143^{a}**	**647±167^{a}**	**633±151^{a}**	**667±178^{a}**
AGM	**313±84^{b}**	**237±73^{a}**	**258±85^{a}**	**236±92^{a}**	**269±87^{a}**
AGP	**145±42^{ab}**	**122±37^{a}**	**143±58^{ab}**	**160±59^{b}**	**140±51^{ab}**
AGP>20C	**62±23^{a}**	**83±35^{ab}**	**103±54^{bc}**	**121±62^{c}**	**89±47^{b}**

AGM: ácidos grasos monoinsaturados; AGP: ácidos grasos polinsaturados; AGP >20C: ácidos grasos polinsaturados con mas de 20 carbonos

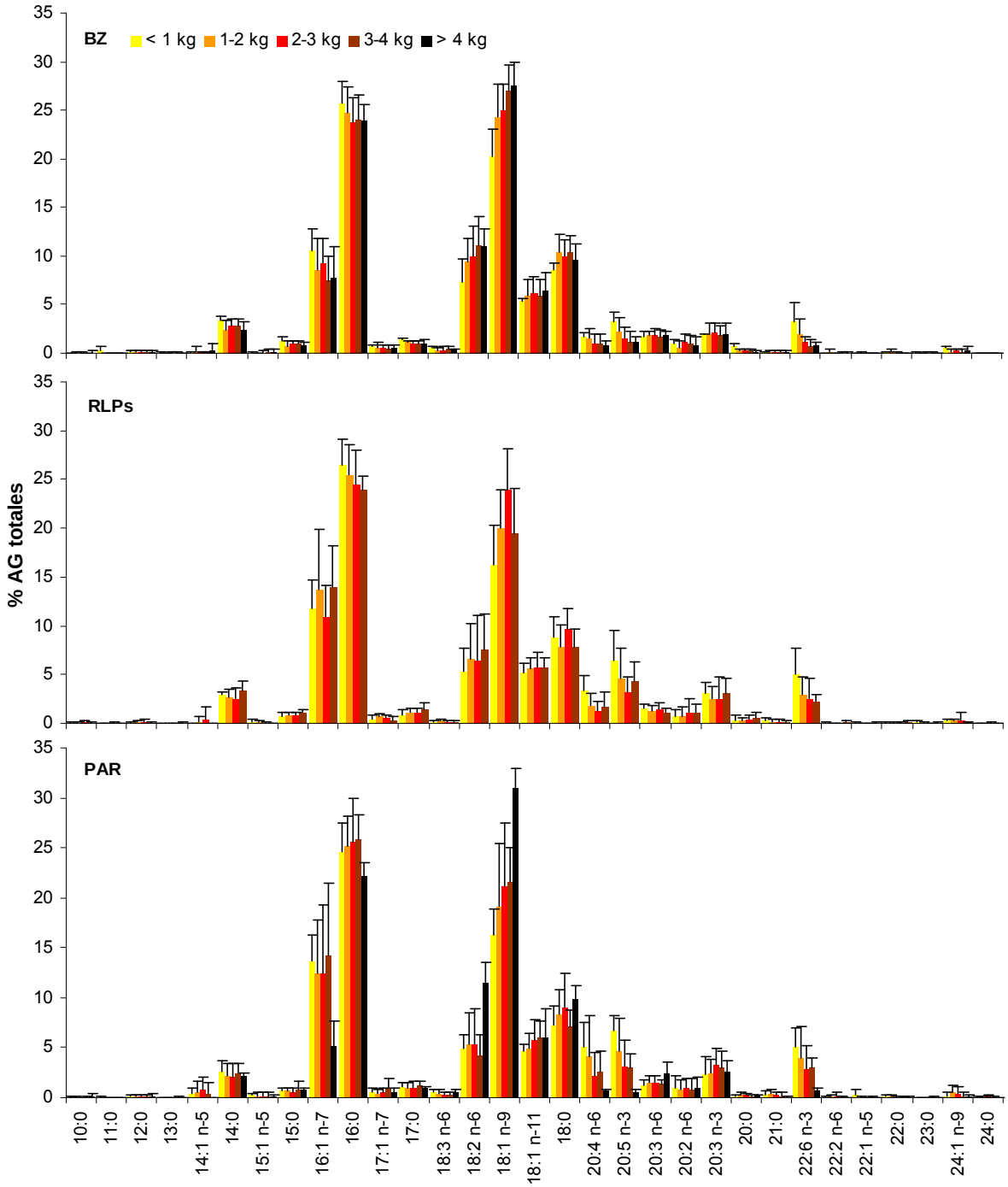


Figura 24. Composición de ácidos grasos (% del total) del músculo de los sábalos.

El patrón general observado en la composición de ácidos grasos del músculo de los Sábalos es la reducción en la abundancia relativa de AGP (de 32 ± 6,3 % a 18 ± 3,1 %; r = 0,60) y aumento en la proporción de los monoinsaturados (AGM; de 26 ± 8,6 % a 43 ± 3,0 %; r = -0,58) a medida que aumenta el contenido de grasa desde < 1% a mas de 10% ph (Figura 25). Esta covariación inversa entre AGP y AGM refleja básicamente la diferencia, en términos de composición de ácidos grasos, entre triglicéridos y fosfolipidos (PL), tal como ha sido observado previamente en otras especies (Agren et al., 1987; Belling et al., 1997, Mendez et al., 1996).

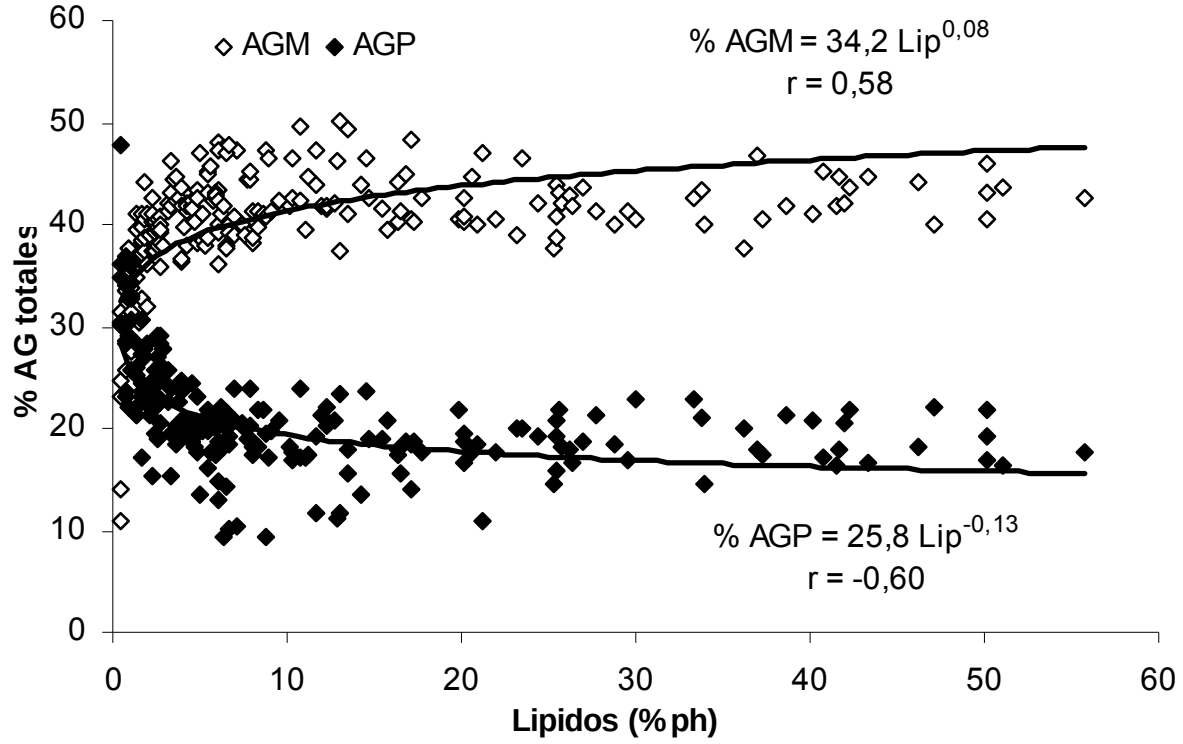


Figura 25. Variación de los ácidos grasos monoinsaturados (AGM) y polinsaturados (AGP) con el contenido lipídico muscular (Lip: % de lípidos en base húmeda).

La Figura 26 presenta la composición de ácidos grasos de fosfolípidos y triglicéridos del músculo de Sábalos. Los triglicéridos, que como se discutió previamente están directamente relacionados con el contenido lipidico y talla de los peces, poseen, respecto a los fosfolipidos, proporciones significativamente mas altas de 18:1 n-9 (26,1 ± 3,1 vs. 17,4 ± 6,1 %; p < 0,01). Por el contrario, los fosfolipidos están enriquecidos en AGP (26 ± 3,1 vs. 17 ± 6,1 %; p < 0,01), especialmente 22:6 n-6. Esta diferencia en el perfil de ácidos grasos de PL y TG es frecuentemente observada en peces (Koslova y Khotimchemko, 2000) y está

relacionada con el distinto rol funcional de ambas clases lipidicas. Los TG sirven fundamentalmente como deposito de energía y su composición refleja básicamente la de la dieta. En contraste, los fosfolipidos como componentes estructurales de la membrana celular con composición regulada genéticamente (Peng et al., 2003), tienen una mayor proporción de AGP que debido a su bajo punto de fusión permiten regular la fluidez de la membrana plasmática y mantenerla osmoticamente estable (Bell et al., 1986; Sargent et al., 1995).

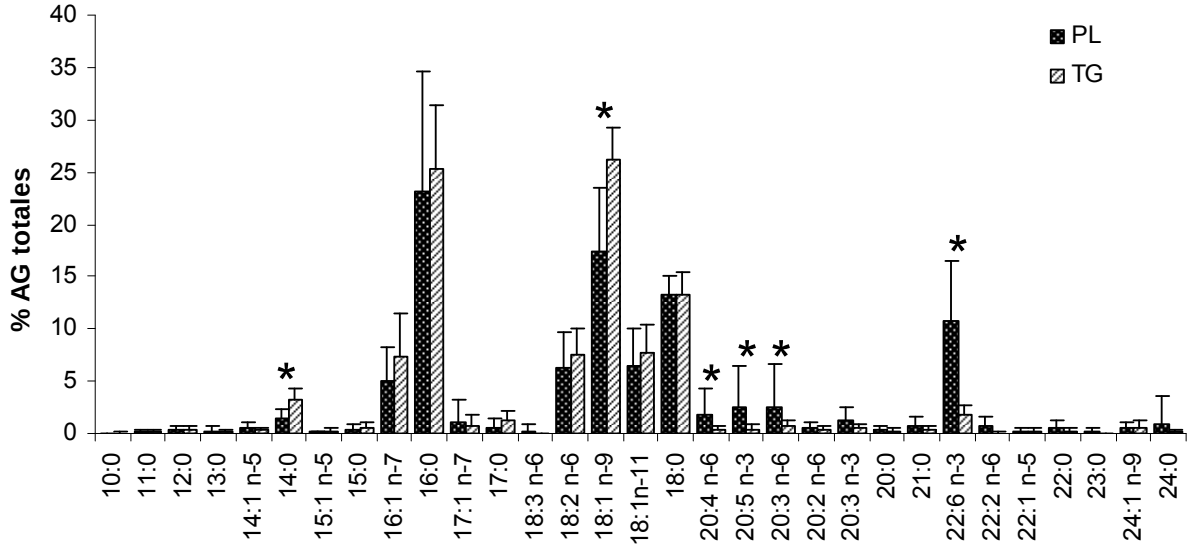


Figura 26. Composición de ácidos grasos de los fosfolipidos (PL) y triglicéridos (TG) del músculo. Los asteriscos señalan diferencias significativas entre PL y TG ($p < 0,05$).

Superpuesta a la variación general de la composición de los ácidos grasos con la talla y contenido lipídico descripta precedentemente, se observan diferencias entre los Sábalos provenientes de Berazategui y Paraná (Tabla 17; Figura 24). En efecto, comparados con Paraná, los sábalos de BZ tienen una proporción significativamente mayor ($p < 0,0001$) de ácidos de 18 carbonos (53 ± 6,8 vs. 40 ± 10 %), especialmente 18:1 n-9 (26 ± 3,6 vs. 20 ± 6,2 %) y 18:2 n-6 (10 ± 2,9 vs. 5,5 ± 3,2 %), y proporciones significativamente menores ($p < 0,0001$) de 16:1 (8,3 ± 3,9 vs. 12 ± 5,8 %) y de AGP con más de 20 carbonos (AGP>20C: 8,4 ± 3,0 vs. 16 ± 8,2 %), particularmente 20:4, 20:5 y 22:6. Esta diferencia es aun más notoria al comparar los sábalos de BZ con los del extremo Norte (18 carbonos: 39 ± 11 %; 18:1: 19 ± 7,1; 18:2: 5,6 ± 3,4 %; AGP >20C: 20 ± 10 %), apoyando la interpretación de mezcla de sábalos del sur y el norte en el Paraná medio.

Esta diferencia en la composición de ácidos grasos en los sábalos de BZ reflejaría la influencia de los efluentes urbano-industriales en la dieta, con un componente relacionado a la ingesta de materia orgánica fácilmente asimilable que facilita el engorde y acumulación de triglicéridos enriquecidos en ácidos grasos de 18 carbonos y pobres AGP como se explicó precedentemente, y otro asociado a la interferencia de los xenobioticos en el metabolismo lipídico.

El anabolismo de los ácidos grasos en peces es similar al de los mamíferos (Bell et al., 1986; Henderson, 1996) y comprende básicamente la elongación y desaturación a partir del 16:0 de origen dietario o producto de la síntesis "de novo". Este proceso se realiza mediante la intervención de enzimas específicas, elongasas y desaturasas. En peces, las desaturasas más importantes son la Δ9, enzima clave responsable de la producción de 18:1; y Δ5 y Δ6 involucradas en la producción de AGP a partir de 18:1, 18:2 y 18:3.

Experiencias de laboratorio realizadas con ratas expuestas a contaminantes orgánicos persistentes como PCBs y DDTs han demostrado su interferencia con las desaturasas. Por ejemplo, Matsusue et al. (1997) reportan el aumento del 18:1 y 18:2 y la disminución de 20:4 por el incremento de la actividad Δ9 y la disminución de la actividad Δ6 en ratas expuestas a PCBs. Posteriormente, Matsusue et al. (1999) verifican que los PCBs coplanares inhiben las actividades Δ5 y Δ6 provocando una reducción de AGP. Similarmente, en ratas expuestas a DDT, se observó una reducción de la actividad desaturasa y elongasa en el hígado, que resulto en una deficiencia de AGP de cadena larga (Darsie et al., 1975). Según Tinsley y Lowry (1969), la interferencia de contaminantes orgánicos en la actividad de las desaturasas podría relacionarse al hecho de que estas enzimas son oxidasas de función mixta, aunque Matsusue et al. (1999) plantea que también podría deberse a alteraciones hormonales.

Tendencias similares en la composición de ácidos grasos se observaron en situaciones de obesidad patológica. En ratones genéticamente hiperobesos se observo que hay una sobreexpresion de C18-20 elongasas y Δ9 desaturasas, que resulta en la acumulación de 18:1, y una disminución de los AGP >20C (Wang et al., 2006). El 18:1 así producido es el sustrato preferencial de sus respectivas aciltransferasas (Ntambi y Miyazaki, 2004) y es rápidamente incorporado en TG y CE facilitando su almacenamiento y transporte. De manera similar, en humanos hiperobesos, se verifica una sobrexpresion de la Δ9, que resulta en monoinsaturacion de los lípidos, acumulación de TG y disminución de la oxidación de ácidos grasos (Hulver et al., 2005).

En los Sábalos de Berazategui alimentados en efluentes urbanos fuertemente contaminados, la alteración de estos mecanismos enzimáticos (estimulación de la actividad Δ9 e inhibición de la actividad Δ6 o de C18-20 elongasas) como producto de la interferencia de contaminantes como PCBs y DDTs en conjunto con la asimilación facilitada de triglicéridos dietarios, explicaría la particular composición de ácidos grasos de estos peces obesos. Este proceso constituiría un bucle de retroalimentación positiva ya que el aumento de triglicéridos favorecería la bioacumulación de contaminantes lipofílicos como PCBs que a su vez potenciarían la acumulación de TG.

Hígado

La composición de ácidos grasos del hígado del sábalo se presenta en la Tabla 18 como concentraciones en mg/g de lípido y en la Figura 27 como abundancia relativa. En general, el perfil de ácidos grasos hepático se diferencia del muscular por su mayor proporción de AGP (29 ± 8,7 vs. 21 ± 5,4 % AG; $p < 0,0001$), especialmente 22:6 (6,6 ± 4,4 vs. 2,9 ± 2,5 %; $p < 0,0001$), y sus menores proporciones de 18:1 n-9 (18 ± 5,3% vs. 22 ± 5,9 %; $p < 0,0001$) y 16:1 (8,0 ± 3,8 vs. 11 ± 5,5 % AG; $p < 0,0001$).

Tabla 18. Concentración de ácidos grasos (mg/g lípidos totales) del hígado del sábalo. Los superíndices indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las zonas de muestreo.

Ácidos grasos	BZ	RLPs	PAR	N	Todos
10:0	0,29±0,90^{a}	0,10±0,53^{a}	0,13±0,46^{a}	0,20±0,61^{a}	0,18±0,69^{a}
11:0	0,051±0,37	nd	nd	nd	0,021±0,24
12:0	0,53±0,94^{a}	0,22±0,84^{a}	0,41±0,64^{a}	0,56±0,75^{a}	0,40±0,84^{a}
13:0	0,046±0,15^{a}	0,054±0,34^{a}	0,052±0,19^{a}	0,058±0,20^{a}	0,050±0,23^{a}
14:1 n-5	0,86±2,3^{a}	0,98±2,9^{a}	4,8±7,2^{b}	4,4±5,5^{b}	2,0±4,7^{ab}
14:0	8,5±4,7^{ab}	7,3±5,0^{a}	11±7,5^{bc}	13±8,7^{c}	8,9±5,9^{ab}
15:1 n-5	0,40±1,3^{a}	0,34±1,1^{a}	0,97±2,1^{a}	0,63±1,4^{a}	0,54±1,6^{a}
15:0	3,5±1,9^{ab}	2,9±2,6^{a}	3,7±3,1^{ab}	4,9±3,5^{b}	3,4±2,5^{ab}
16:1 n-7	33±20^{a}	51±27^{b}	63±29^{b}	62±35^{b}	47±28^{b}
16:0	111±27^{a}	132±34^{b}	141±34^{b}	141±37^{b}	126±34^{b}
17:1 n-7	3,8±2,5^{a}	2,6±2,2^{a}	3,8±3,2^{a}	4,4±3,5^{a}	3,4±2,7^{a}
17:0	5,0±2,6^{a}	6,2±2,9^{a}	7,7±3,4^{ab}	8,8±3,2^{b}	6,1±3,1^{a}
18:3 n-6	2,0±2,8^{b}	0,49±1,1^{a}	1,4±1,6^{b}	1,3±1,7^{ab}	1,4±2,2^{b}
18:2 n-6	59±26^{b}	32±22^{a}	30±19^{a}	31±15^{a}	43±27^{b}
18:1 n-9	118±33^{b}	96±32^{a}	95±41^{a}	89±30^{a}	105±37^{ab}
18:1 n-11	34±11^{a}	32±10^{a}	35±8,9^{a}	33±8,4^{a}	34±10^{a}
18:0	66±19^{a}	64±19^{a}	61±16^{a}	61±15^{a}	64±18^{a}
20:4 n-6	18±12^{a}	14±9,7^{a}	28±18^{b}	32±19^{b}	19±14^{a}
20:5 n-3	9,8±7,6^{a}	29±20^{b}	30±21^{b}	29±19^{b}	22±19^{ab}
20:3 n-6	23±12^{b}	10±8,8^{a}	13±7,4^{a}	14±6,1^{a}	16±11^{ab}
20:2 n-6	6,4±6,7^{a}	5,8±7,5^{a}	6,2±4,1^{a}	5,8±2,8^{a}	6,2±6,3^{a}
20:3 n-3	17±9,4^{a}	15±7,3^{a}	18±8,0^{a}	20±7,1^{a}	17±8,4^{a}
20:0	1,9±2,6^{a}	1,2±3,2^{a}	1,5±1,3^{a}	1,6±1,4^{a}	1,6±2,5^{a}
21:0	0,96±2,1^{a}	0,50±1,3^{a}	3,1±3,9^{b}	3,6±4,8^{b}	1,4±2,7^{ab}
22:6 n-3	24±15^{a}	46±31^{b}	53±32^{b}	56±28^{b}	39±29^{ab}
22:2 n-6	0,35±0,88^{a}	0,49±2,8^{a}	1,4±4,6^{a}	1,6±5,9^{a}	0,70±3,0^{a}
22:1 n-5	0,24±0,53^{a}	0,087±0,30^{a}	0,32±1,1^{a}	0,19±0,70^{a}	0,21±0,69^{a}
22:0	0,26±0,58^{a}	0,26±0,88^{a}	0,19±0,38^{a}	0,19±0,34^{a}	0,24±0,64^{a}
23:0	0,19±0,50^{a}	0,15±0,35^{a}	0,16±0,32^{a}	0,17±0,31^{a}	0,17±0,41^{a}
24:1 n-9	1,5±2,2^{a}	1,3±2,4^{a}	5,4±7,2^{b}	6,1±7,9^{b}	2,5±4,6^{a}
24:0	0,38±1,4^{a}	0,22±0,42^{a}	0,20±0,46^{a}	0,22±0,35^{a}	0,28±0,94^{a}
AGM	**192±52^{a}**	**183±55^{a}**	**208±57^{a}**	**200±57^{a}**	**194±55^{a}**
AGP	**159±58^{a}**	**153±64^{a}**	**181±72^{a}**	**190±61^{a}**	**163±64^{a}**
AGP>20	**98±39^{a}**	**121±57^{ab}**	**149±68^{b}**	**158±60^{b}**	**119±58^{ab}**
Total	**548±96^{a}**	**551±111^{a}**	**619±129^{a}**	**627±144^{a}**	**569±114^{a}**

AGM: ácidos grasos monoinsaturados; AGP: ácidos grasos polinsaturados; AGP >20C: ácidos grasos polinsaturados con mas de 20 carbonos.

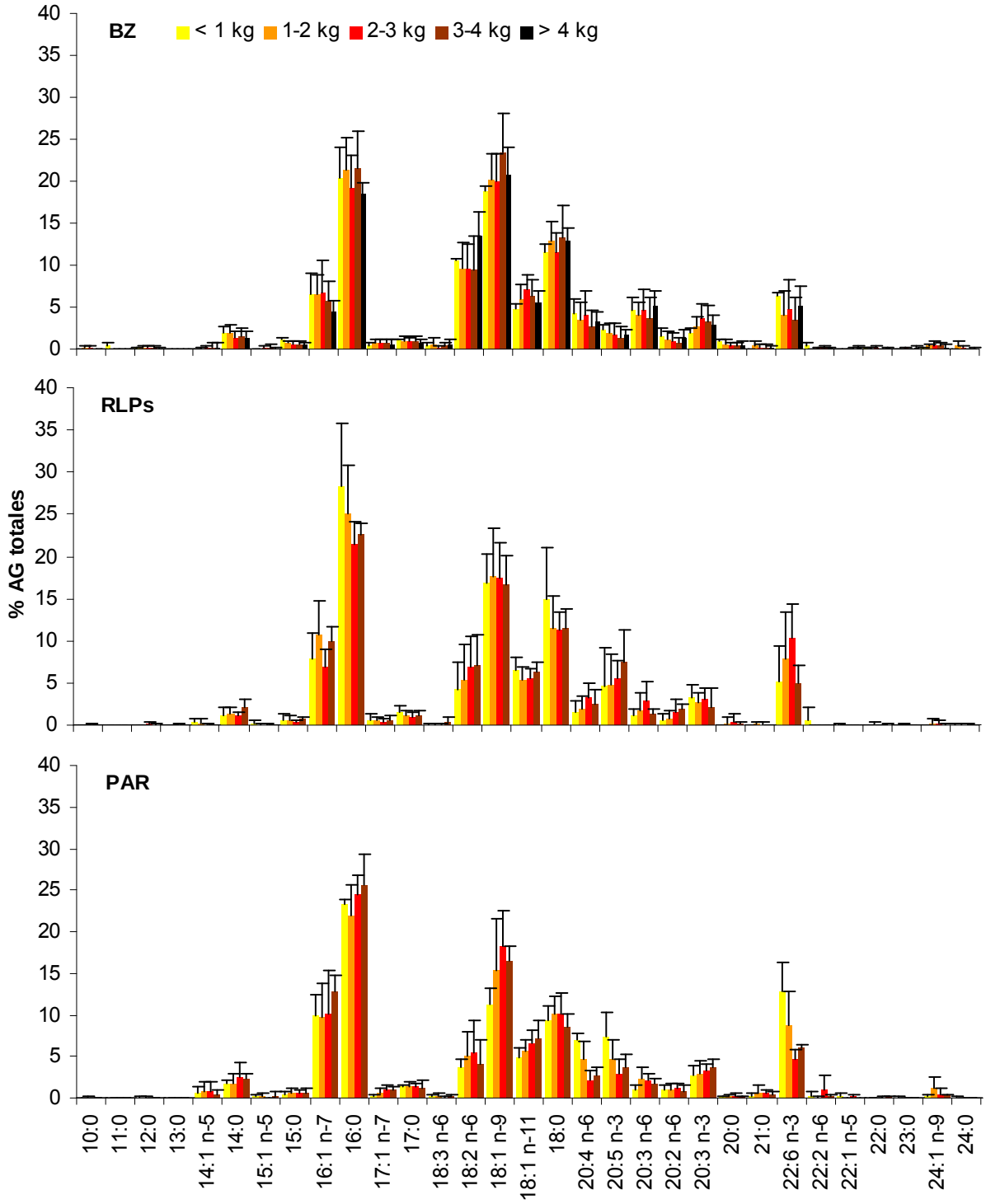


Figura 27. Composición de ácidos grasos (% del total) del hígado de los sábalos.

La covariación entre AGP y AGM en el hígado no es tan clara como en el músculo (r = -0,37 y 0,60 vs. -0,60 y 0,58; Figura 28), debido a que el hígado, órgano clave en el metabolismo de ácidos grasos, tiene una composición de clases lipidicas más compleja, con una menor proporción de lípidos neutros.

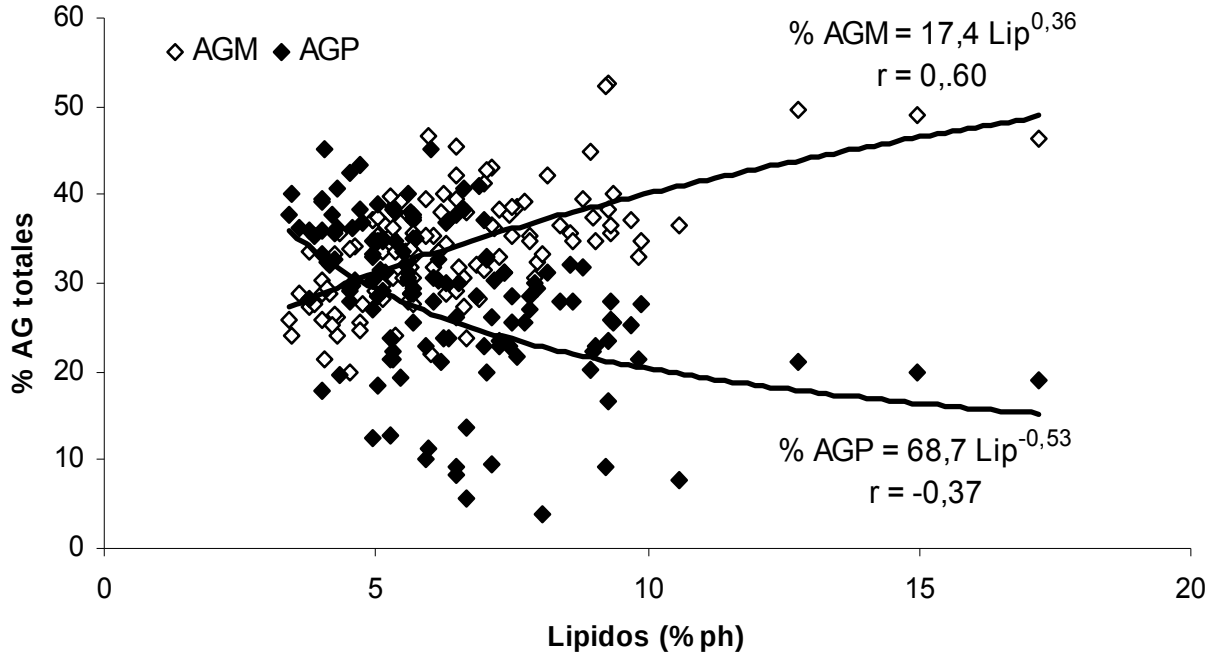


Figura 28. Variación de los ácidos grasos monoinsaturados (AGM) y polinsaturados (AGP) con el contenido lipídico hepático (Lip: % de lípidos en base húmeda).

Tal como se observo en el músculo, los fosfolipidos y triglicéridos hepáticos muestran una diferente composición de ácidos grasos (Figura 29). Los fosfolipidos tienen, respecto a los triglicéridos, proporciones significativamente menores de 16:0 (18 ± 6,7 vs. 22 ± 4,1 %; $p < 0,016$), 18:1n-9 (17 ± 7,3 vs 23 ± 2,7; $p < 0,001$) y mayores proporciones de AGP (31 ± 6,0 vs 18 ± 4,2 %; $p < 0,0001$).

.

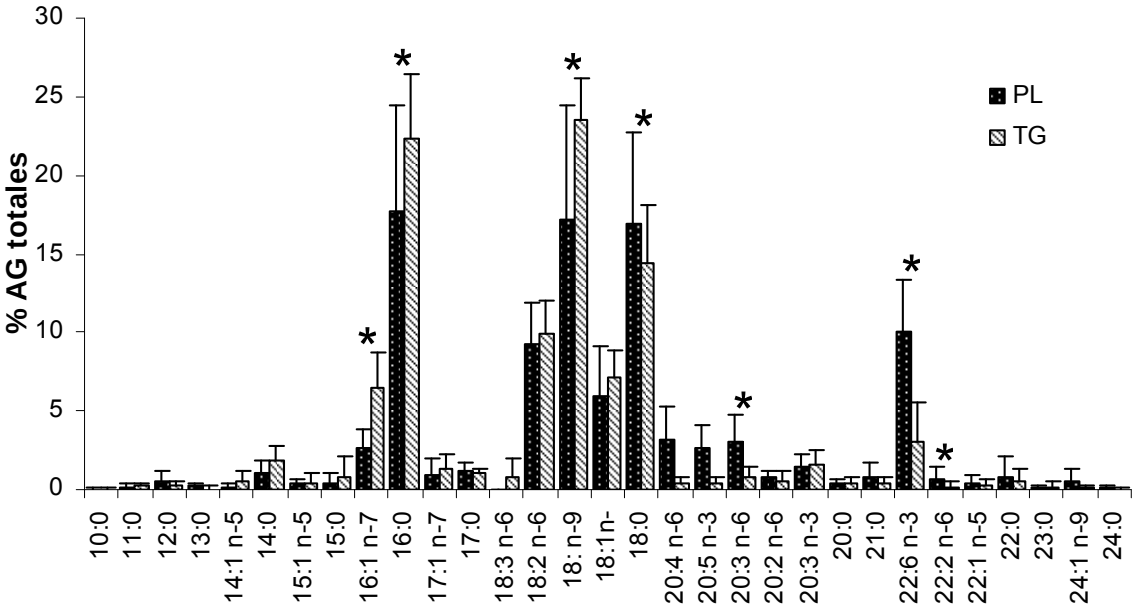


Figura 29. Composición de ácidos grasos de los fosfolipidos (PL) y triglicéridos (TG) del hígado. Los asteriscos señalan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre PL y TG.

En los hígados de los sábalos de BZ se observa, en comparación a los de PAR, la misma tendencia que en el músculo, es decir, una mayor abundancia de ácidos grasos de 18 carbonos (51 ± 5,2 vs. 36 ± 9,1 %; $p < 0,0001$), particularmente 18:1 n9 y 18:2 n-6, y menores proporciones de 16:1 (5,9 ± 2,7 vs. 10 ± 3,9 %; $p < 0,0001$) y de AGP de cadena larga (18 ± 7,0 vs. 24 ± 7,9 %; $p < 0,0001$), especialmente 20:5 y 22:6. Sin embargo, esta diferencia no estaría asociada al mayor contenido lipídico de los hígados de BZ, ya que el aumento del mismo no esta acompañado por un incremento en la proporción de triglicéridos, como ocurre en el músculo. Esto probablemente refleja el efecto mayor de la interferencia de los contaminantes orgánicos en el metabolismo lipídico del hígado (ver composición del músculo), como órgano sede del metabolismo de xenobioticos.

Sedimento, material en sedimentación y contenido estomacal

La Tabla 19 y la Figura 30 presentan la composición de ácidos grasos del sedimento, material en sedimentación y contenido estomacal. La concentración de ácidos grasos aumenta desde los sedimentos, donde los ácidos grasos constituyen el 6,2 ± 6,1 % de los lípidos, al material en sedimentación y al contenido estomacal, en los que representan 16 ± 7,6 y 26 ± 18 % respectivamente, evidenciando la mayor degradación de los barros acumulados en el fondo. Con respecto a lo observado en músculo e hígado, la composición de ácidos grasos de sedimentos, material en sedimentación y contenidos estomacales tiene

mayores proporciones de ácidos grasos saturados, en especial 16:0 y 18:0, y menores proporciones de AGP, particularmente los de cadena larga. Esta diferencia en AGP de cadena larga del músculo e hígado del sábalo con respecto a la dieta puede deberse a la síntesis de los mismos por elongación y desaturación, a partir de 18:2 y 18:3 dietarios (Henderson, 1996; Sargent et al., 1995) así como a la mayor digestibilidad de los AGP con respecto a los AGM y a los ácidos saturados (90-98% vs. 75-94 y 50-80% Sigurgisladottir et al., 1992) .Al igual que ocurre con la composición bioquímica y de clases lipídicas, la composición de ácidos grasos de los sedimentos difiere de la del material en sedimentación y los contenidos estomacales, principalmente por su menor proporción de AGP (2,9 ± 2,6 vs. 8,1 ± 4,6 y 12 ± 4,2 % AG, respectivamente; $p < 0,001$), en particular 18:2 n-6 y 22:6 n-6, consistente con la degradación preferencial de materia orgánica fresca en la interfase del sedimento.

La concentraciones de ácidos grasos son más elevadas en Berazategui que en Paraná, tanto para sedimentos (117 ± 80 vs. 38 ± 25 mg/g de lípidos; $p < 0,02$) como para el material en sedimentación (187 ± 68 vs. 108 ± 69 mg/g lípidos; $p < 0,05$), reflejando el aporte de materia orgánica antropogénica fresca en Berazategui. En el contenido estomacal esta diferencia no alcanza a ser significativa (293 ± 212 vs. 236 ± 157 mg/g).

Tabla 19. Concentración de ácidos grasos (mg/g de lípido) en el contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos de Berazategui y Paraná. Los asteriscos indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las estaciones de muestreo.

Acido graso	Contenido estomacal		Material en sedimentación		Sedimentos	
	BZ	PAR	BZ	PAR	BZ	PAR
10:0	nd	nd	nd	nd	nd	nd
11:0	nd	0,060±0,22	nd	nd	nd	nd
12:0	nd	nd	0,055±0,13	nd	nd	nd
13:0	nd	nd	nd	nd	nd	nd
14:1 n-5	0,48±0,29	0,83±0,78	0,53±0,62	nd	0,048±0,11	0,82±1,1
14:0	11±7,2	12±10	6,1±3,9	3,0±2,4	6,6±4,2	1,4±1,2
15:1 n-5	0,26±0,47	nd	0,15±0,42	nd	0,26±0,58	nd
15:0	3,3±3,2	3,0±3,8	0,82±0,76	2,1±1,7	1,1±1,0	0,71±0,62
16:1 n-7	26±25	37±35	7,9±3,9	8,9±7,9	5,9±2,7	5,7±4,4
16:0	91±62	81±66	69±33*	34±21	48±34*	13±9,4
17:1 n-7	1,1±1,1	2,5±1,4	1,1±1,4	1,1±1,3	0,41±0,48	1,7±2,3
17:0	3,4±0,59	4,1±3,3	1,9±1,1	2,0±1,7	1,5±0,93	0,79±0,78
18:3 n-6	0,22±0,53	0,35±0,64	0,96±1,5	nd	0,17±0,38	0,053±0,098
18:2 n-6	22±20	8,6±8,2	12±6,6	5,3±5,6	5,8±5,0	0,33±0,52
18:1 n-9	59±56	32±17	33±19*	16±15	18±15*	6,1±3,7
18:1 n-11	19±20	12±8,6	14±9,8	3,0±2,4	4,9±3,5	1,3±1,5
18:0	37±27	22±11	31±15	21±18	21±13*	5,6±3,6
20:4 n-6	1,7±1,5	2,3±1,5	0,18±0,44	nd	0,041±0,091	0,030±0,058
20:5 n-3	2,9±2,6	2,7±2,2	0,25±0,46	nd	0,072±0,16	nd
20:3 n-6	2,0±0,93	2,2±1,5	0,35±0,73	nd	0,41±0,30	0,024±0,063
20:2 n-6	0,47±1,2	0,66±1,4	0,30±0,52	nd	nd	0,030±0,077
20:3 n-3	7,6±4,6	7,0±5,8	2,1±2,7	nd	1,1±1,9	0,040±0,10
20:0	2,1±2,7	0,99±1,3	1,8±2,1	2,4±3,1	0,98±0,80	nd
21:0	0,38±0,62	1,1±1,1	0,56±0,68	0,44±0,97	0,48±0,31	nd
22:6 n-3	1,1±1,4	2,4±2,0	1,2±1,7	0,57±1,3	0,11±0,25	nd
22:2 n-6	nd	0,030±0,073	0,066±0,13	0,26±0,59	nd	nd
22:1 n-5	nd	0,14±0,25	0,032±0,11	nd	nd	nd
22:0	0,76±0,54	0,14±0,27	0,88±0,63	2,8±3,9	0,53±0,36	nd
23:0	0,25±0,50	0,11±0,28	0,038±0,068	0,82±1,0	nd	nd
24:1 n-9	0,53±0,70	0,76±0,86	0,53±0,69	0,20±0,44	0,85±1,2	0,026±0,073
24:0	0,43±0,32	0,36±0,82	0,55±0,33	4,7±6,1	0,23±0,32	0,20±0,27
AGM	**106±96**	**85±56**	**57±26***	**29±16**	**30±21**	**16±11**
AGP	**37±22**	**26±19**	**17±9,4***	**6,2±5,2**	**7,7±6,8***	**0,52±0,59**
AGP>20	**16±8,2**	**17±11**	**4,5±3,9***	**0,84±1,3**	**1,8±2,2**	**0,13±0,30**
Total	**293±212**	**236±157**	**188±68***	**108±69**	**117±80***	**38±25**

AGM: ácidos grasos monoinsaturados; AGP: ácidos grasos polinsaturados; AGP >20C: ácidos grasos polinsaturados con mas de 20 carbonos.

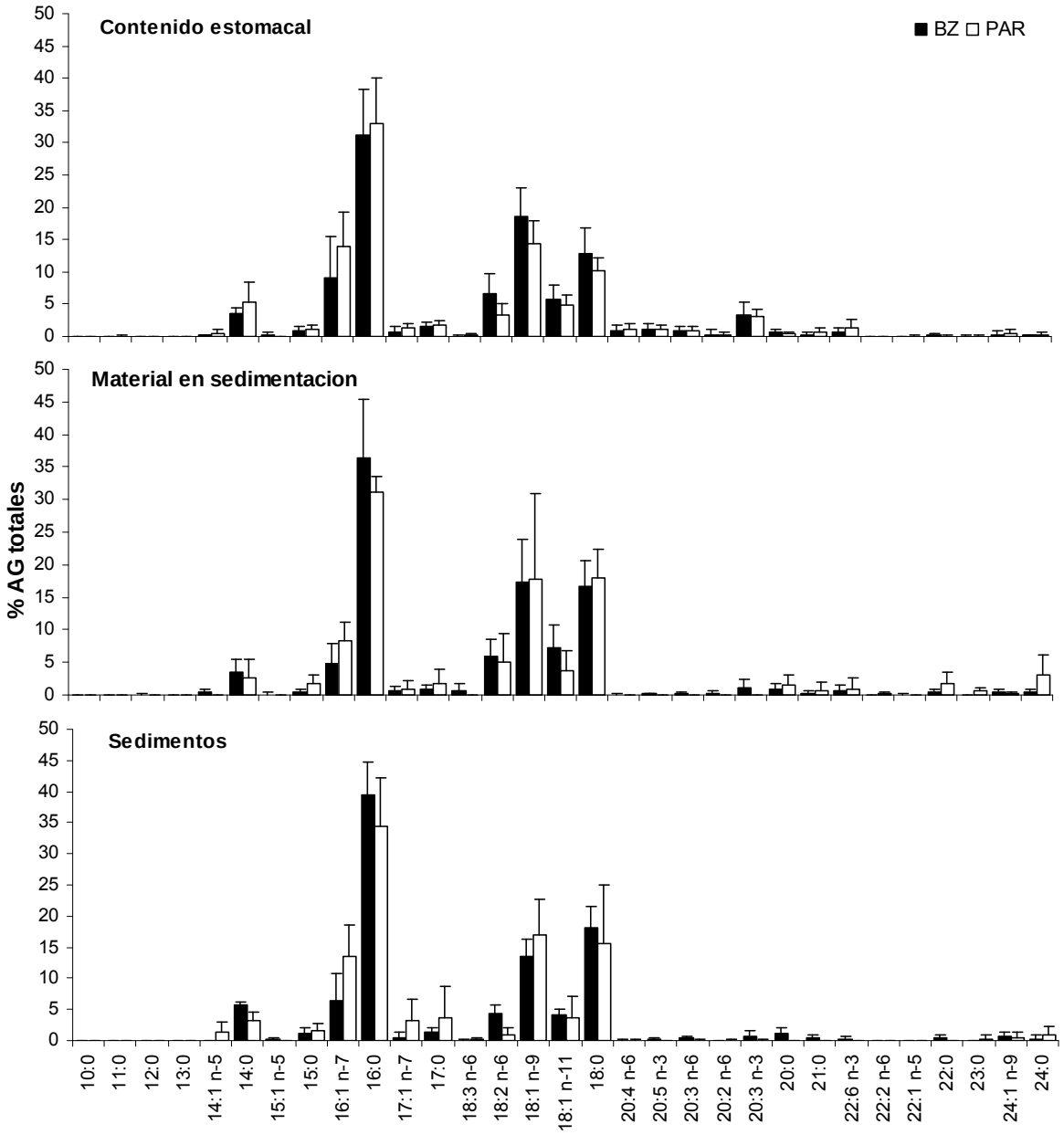


Figura 30 Composición de ácidos grasos de sedimentos, material en sedimentación y contenido estomacal de BZ y PAR.

Además de la diferencia de concentración de ácidos grasos, también se observa una diferencia geográfica en la composición de los ácidos grasos, básicamente en la mayor proporción de AGP en Berazategui (sedimentos: 5,9 ± 2,0 vs. 1,3 ± 1,2 %; material en sedimentación: 9,0 ± 4,8 vs. 6,0 ± 4,1 %; contenido estomacal: 13,9 ± 3,7 vs. 11,4 ± 4,1 %; Figura 31**)**, aunque dada la alta variabilidad de los datos solo es significativa en los sedimentos ($p < 0,05$).

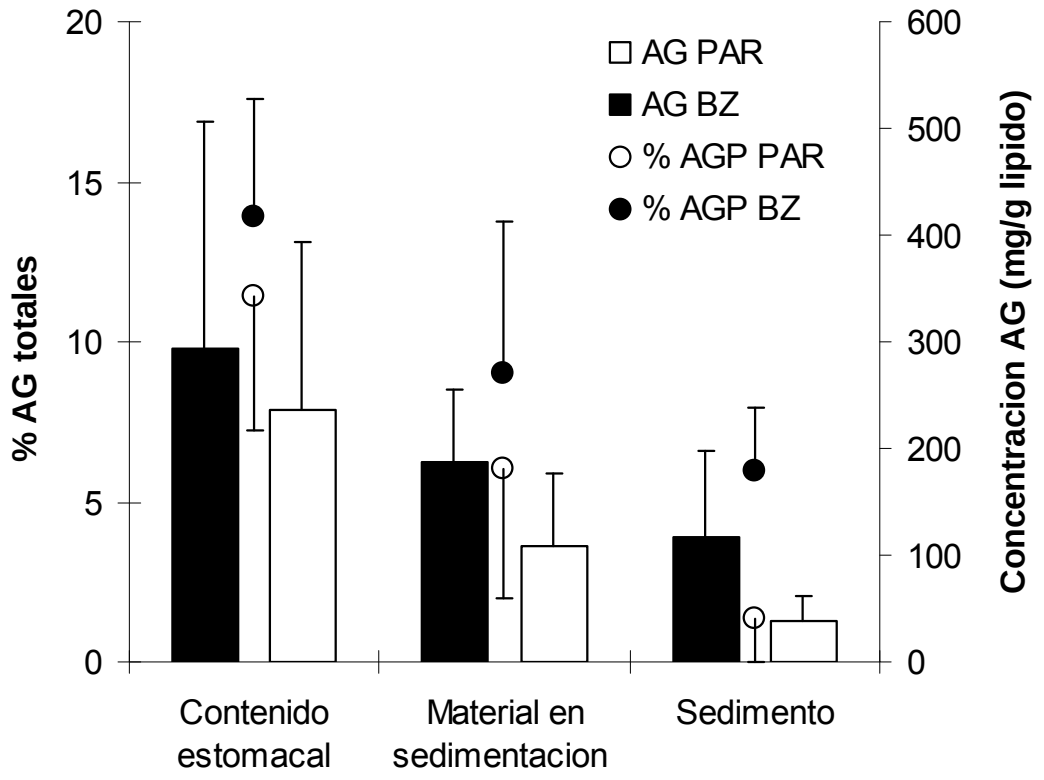


Figura 31. Comparación del contenido de ácidos grasos (barras, eje derecho) y proporción de AGP (círculos, eje izquierdo) del contenido estomacal, material en sedimentación y sedimentos de BZ y PAR.

Capitulo VII

Marcadores de contaminación cloacal: esteroles y alquilbencenos lineales

Músculo

Las Tabla 20 y Tabla 21 presentan las concentraciones de esteroles y LABs en músculo, hígado y material en sedimentación. La Figura 32 presenta las concentraciones medias. El músculo de sábalo contiene en promedio 1475 ± 841 µg/g peso seco de esteroles totales, de los cuales 68 ± 62 µg/g corresponden a coprostanol, y 33 ± 33 µg/g de LABs. Los sábalos de BZ tienen, en relación con los de PAR, una concentración significativamente mayor de coprostanol (97 ± 49 vs. 42 ± 62 µg/g; $p < 0,02$), y un contenido de LABs también superior (44 ± 35 vs. 23 ± 29 µg/g ps), aunque no alcanza a ser significativamente diferente. Estas diferencias se acentúan al excluir los 22 individuos migratorios del sur anteriormente referidos como PAR out que tienen elevados niveles de coprostanol y LABs (107 ± 81 y 56 ± 29 µg/g, respectivamente). Las concentraciones medias de marcadores fecales en Sábalos de Paraná así depuradas equivalen a 1/5 - 1/7 de las registradas en Berazategui (coprostanol: 13 ± 18 µg/g, LABs: 8,1±12 µg/g; $p < 0,005$). Estos resultados ratifican el criterio de exclusión de "outlyers" basados en parámetros morfométricos, contenido lipídico y concentración de contaminantes persistentes discutida precedentemente, y confirman que los Sábalos de Berazategui consumen una fracción sustancial de carbono de origen cloacal.

Tabla 20. Concentraciones (µg/g peso seco) de esteroles en músculo, hígado y material en sedimentación.

	Músculo				Hígado		Material en sedimentación BZ
	BZ	PAR	PARdep	PARout	BZ	PAR	
Coprostano	2,9±7,5	7,1±17	1,4±4,1	7,6±13,1	nd	nd	nd
Coprostanol	97±49	42±62	13±18	107±81	118±98	60±71	8,4±6,4
Epicoprostanol	34±23	14±20	4,1±6,8	37±21	1071±248	376±583	0,20±0,17
Colestanol	1,9±5,0	nd	nd	nd	nd	nd	0,063±0,080
Coprostanona	nd	nd	nd	nd	349±493	156±139	0,43±0,32
Colesterol	1288±452	1241±879	1056±658	1657±1247	4301±2373	2947±1103	1,5±1,2
Dihidrocolesterol	1,9±4,3	8,1±18	5,0±9,8	15±30	164±7,7	nd	0,33±0,25
Desmosterol	nd	0,31±0,96	0,45±1,1	nd	nd	20±33	nd
24etilCoprostanol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,4±1,0
Stigmasterol	4,7±15	20±33	20±33	19±38	nd	nd	0,031±0,028
γ-Sitosterol	nd	1,7±6,1	nd	5,5±11	nd	nd	0,036±0,029
β-Sitosterol	31±101	179±313	132±211	160±253	7,5±11	59±121	0,28±0,20
Stigmastanol	1,4±4,7	12±23	9,7±16	18±37	nd	nd	0,082±0,076
Esteroles totales	1463±494	1526±1113	1242±916	2039±1391	6011±3194	3617±1340	13±9,6

Tabla 21. Concentraciones (μg/g peso seco) de LABs en músculo y material en sedimentación.

	Musculo				Material en sedimentación BZ
	BZ	PAR	PARdep	PARout	
5C10LAB	0,24±0,26	0,46±1,3	0,53±1,6	0,28±0,13	0,41±0,32
4C10LAB	0,11±0,16	0,032±0,072	nd	0,10±0,11	0,34±0,24
3C10LAB	0,056±0,10	0,018±0,037	nd	0,060±0,045	0,26±0,20
2C10LAB	0,029±0,068	nd	nd	nd	0,13±0,057
6C11LAB	2,9±2,1	1,1±1,6	0,15±0,37	3,2±1,0	1,1±1,2
5C11LAB	2,6±1,6	1,1±1,7	0,18±0,49	3,3±1,3	1,8±1,5
4C11LAB	1,7±1,4	0,74±1,1	0,11±0,28	2,2±0,8	1,3±0,99
3C11LAB	1,0±0,83	1,9±5,5	2,3±6,7	1,0±0,40	1,1±1,1
2C11LAB	0,91±0,76	0,38±0,55	0,068±0,18	1,1±0,36	0,95±1,0
6C12LAB	5,0±4,0	2,3±3,6	0,33±0,80	6,7±3,7	2,1±1,5
5C12LAB	2,8±2,0	1,3±2,1	0,19±0,50	3,8±2,1	1,7±1,2
4C12LAB	2,1±1,7	0,89±1,4	0,12±0,32	2,6±1,2	1,2±0,95
3C12LAB	1,6±1,4	0,71±1,1	0,10±0,30	2,1±0,9	1,0±0,86
2C12LAB	1,6±1,4	0,79±1,2	0,13±0,37	2,3±1,2	0,87±0,92
76C13LAB	6,1±5,3	2,8±4,5	0,43±1,1	8,2±4,7	1,7±1,1
5C13LAB	2,7±2,3	1,3±1,9	0,21±0,54	3,6±1,9	0,97±0,72
4C13LAB	1,9±1,7	0,84±1,3	0,15±0,40	2,4±1,2	0,73±0,54
3C13LAB	2,0±1,6	0,84±1,2	0,21±0,60	2,2±1,2	0,73±0,59
2C13LAB	1,7±1,5	1,3±2,1	0,55±1,6	2,9±2,3	0,68±0,54
76C14LAB	2,2±1,8	1,1±1,6	0,33±0,84	2,9±1,5	0,35±0,21
5C14LAB	2,3±2,8	0,95±1,2	0,16±0,46	2,1±1,2	0,43±0,29
4C14LAB	1,7±1,5	1,1±3,8	0,32±0,78	nd	0,32±0,14
3C14LAB	0,17±0,40	nd	1,5±4,6	nd	0,31±0,14
2C14LAB	0,24±0,57	nd	nd	nd	0,65±0,35
LABs totales	44±35	23±29	8,1±12	56±23	21±15

La información sobre marcadores fecales en peces es muy escasa. Si bien no existen valores previos de coprostanol en peces, las concentraciones reportadas para bivalvos son muy inferiores (0,2-0,5 μg/g peso húmedo; Sherblom y Eganhouse, 1991). Con respecto a los LABs, Takada y Eganhouse (1998) reportaron una concentración de 44 μg/g peso seco para *Cyprinus carpio*, muy similar a la hallada en músculo de los sábalos de BZ, mientras que Phillips et al. (2001) hallan valores muy inferiores en *Genyonemus lineatus* (no detectable a 0,75 μg/g peso húmedo) expuestos a los efluentes cloacales de San Diego.

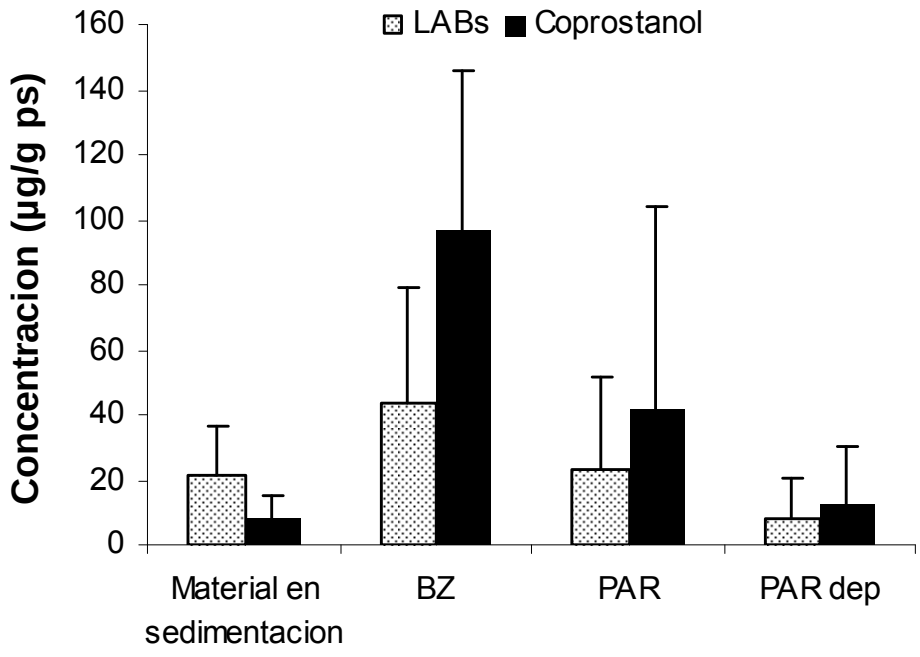


Figura 32. Concentración de LABs y coprostanol en material en sedimentación y músculo de Sábalo.

El perfil de esteroles del músculo del sábalo está ampliamente dominado por el colesterol que tiene una contribución homogéneamente elevada en todos los Sábalos (88 ± 12%) reflejando su origen predominantemente endógeno. En contraste, los esteroles fecales y vegetales minoritarios exhiben claras diferencias geográficas (Figura 33). Los sábalos de BZ tienen una mayor abundancia relativa de esteroles fecales (coprostanol: 6,5 ± 2,0%, epicoprostanol: 2,2 ± 1,2%) comparados con los sábalos de PAR (coprostanol: 2,2 ± 2,5%, epicoprostanol: 0,80 ± 1,2%), que contienen mayores proporciones de fitosteroles derivados de aportes autóctonos (algas) y de la vegetación terrestre (β-sitosterol: 8,0 ± 13; stigmasterol: 0,95 ± 1,3 y stigmastanol: 0,62 ± 1,0%). Estas diferencias reflejan los aportes diferenciales de efluentes cloacales y detritus vegetal en los Sábalos de BZ y PAR, indicando fuentes de materia orgánica mas naturales en el Paraná con menor incidencia del carbono orgánico de origen cloacal. La relación epi/coprostanol (Epi/Cop= epicoprostanol+coprostanol / coprostanol), indica una degradación incipiente del coprostanol sin diferencias significativas entre BZ y PAR (1,4 ± 0,19 vs. 1,3 ± 0,23).

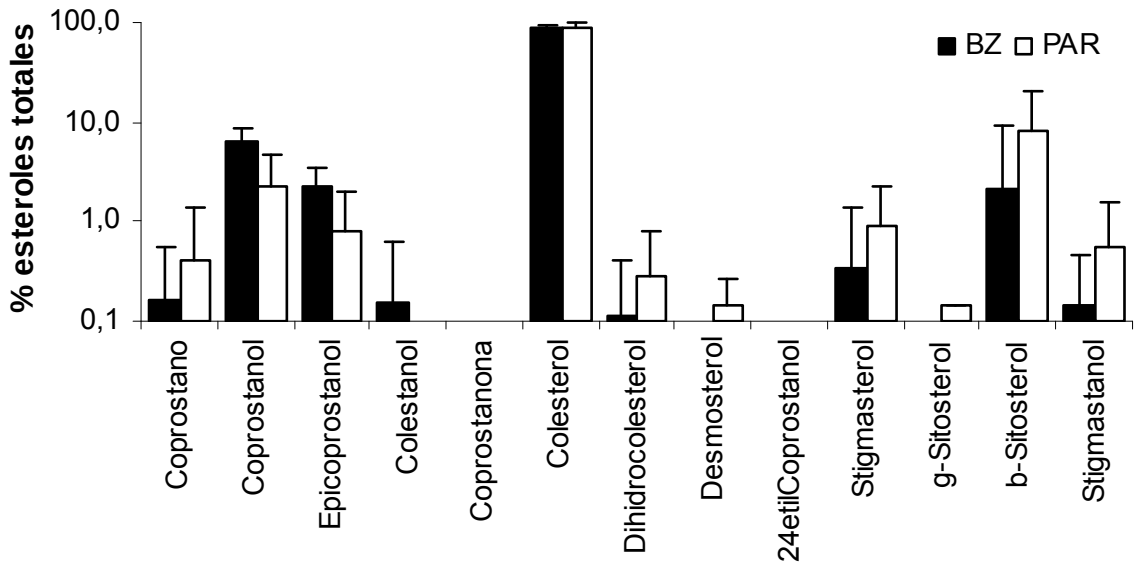


Figura 33. Composición de esteroles del músculo de sábalo (notar escala logarítmica).

La composición de LABs en el músculo del Sábalo se asemeja a la de la mezcla comercial de LABs utilizada para la síntesis de detergentes, predominando los isomeros internos de 12-13 carbonos (Figura 34). El índice de isómeros internos y externos de C12 LABs (I/E= 6C+5C / 4C+3C+2C) no difiere significativamente entre BZ (1,5 ± 0,17) y PAR (1,4 ± 1,3), pero es significativamente mayor a la unidad que es el valor en la formulación técnica confirmando una degradación incipiente.

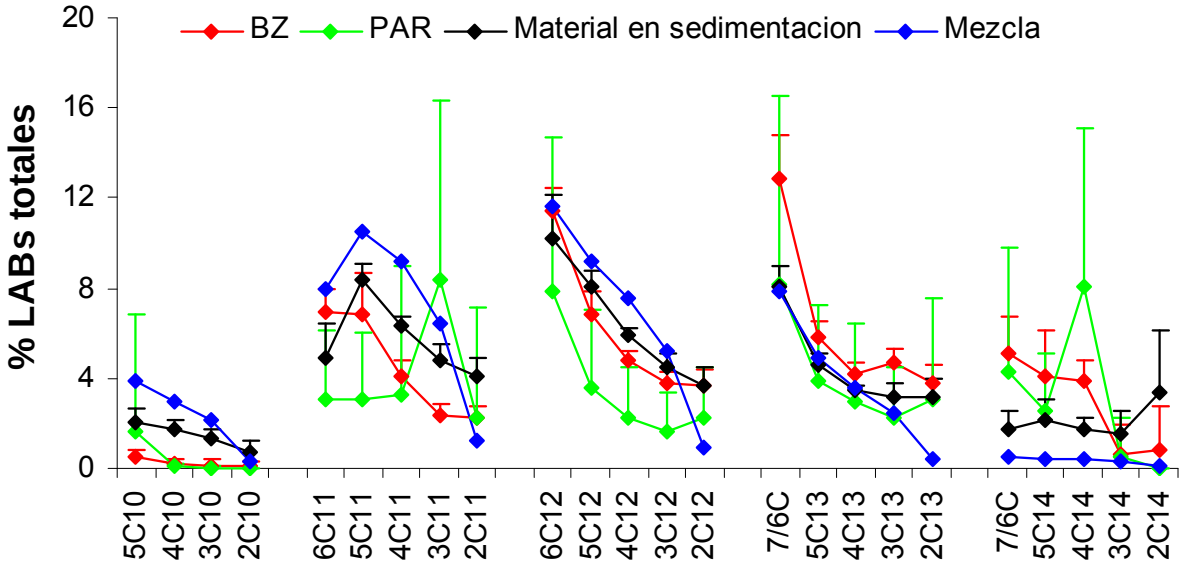


Figura 34. Composición de LABs (como porcentaje del total) del músculo de sábalos de BZ y PAR, el material en sedimentación y una mezcla comercial de LABs (Mezcla).

Hígado

El hígado posee una concentración de esteroles aun superior a la del músculo (4215 ± 2000 µg/g peso seco). La composición de esteroles del hígado esta dominada por el colesterol (80 ± 14 %), seguido por el epicoprostanol (12 ± 13 %, Figura 35). El coprostanol solo representa 1,6 ± 1,2 % de los esteroles, siendo la relación Epi/Cop igual a 5,6. La predominancia del epicoprostanol sobre el coprostanol refleja la intensa degradación de esteroles que tiene lugar en el hígado. Los hígados de los sábalos de BZ presentan concentraciones mas elevadas de esteroles fecales que los de PAR (epicoprostanol: 19 ± 6,0 vs. 9,1 ± 14 %; coprostanol: 1,8 ± 0,7 vs. 1,5 ± 1,4 %), confirmando la mayor exposición a efluentes cloacales.

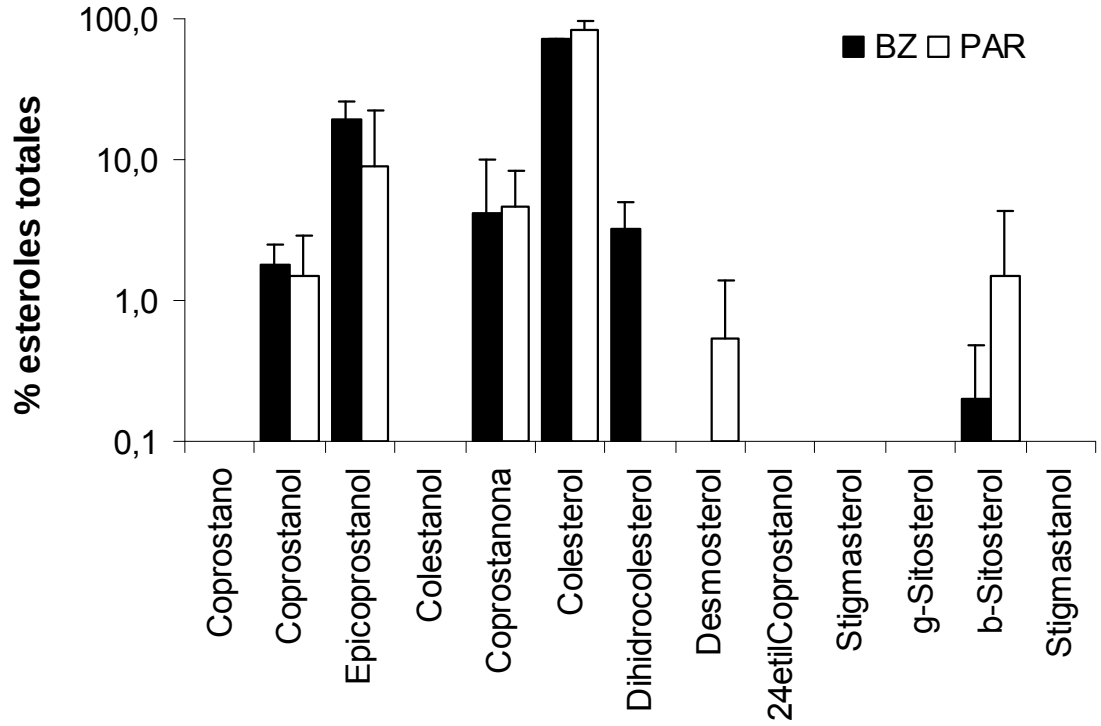


Figura 35. Composición de esteroles del hígado de sábalo.

Sedimento, material en sedimentación y contenido estomacal

El material en sedimentación colectado en Berazategui contiene un promedio de 21 ± 15 µg/g de peso seco de LABs y 13 ± 9,6 µg/g de esteroles, de los cuales 8,4±6,4 µg/g corresponden a coprostanol (Tabla 20). Estas concentraciones son comparables a los valores reportados para sedimentos fluviales y estuariales contaminados (16±18 y 20±24 µg/g ps de LABs y de coprostanol; Takada y Eganhouse, 1999).

El perfil de esteroles de las trampas esta dominado por el coprostanol (64 ± 4,0 % de los esteroles), seguido por el colesterol (11 ± 3,0 %) y el 24-etilcoprostanol (11 ± 0,33%) y es similar al de las heces humanas (coprostanol: 65 ± 12%, colesterol: 5,5 ± 0,2%; 24-etilcoprostanol: 24 ± 5,6%; Figura 36; Leeming et al., 1996), reflejando la importancia del emisario cloacal como fuente de materia orgánica en BZ. El valor del índice Epi/Cop en el material en sedimentación es significativamente inferior al observado en músculo e hígado (0,026 ± 0,010; $p < 0,0001$) evidenciando una incipiente degradación de la materia orgánica aportada por este efluente.

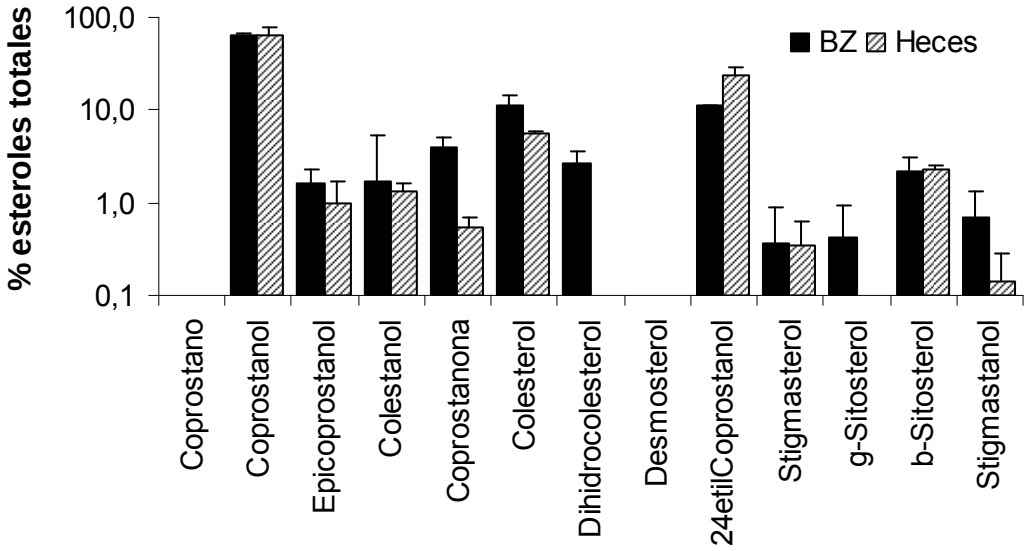


Figura 36. Composición de esteroles del material en sedimentación de BZ y las heces humanas (según Leeming et al. 1996).

La composición de LABs del material en sedimentación es similar a la de la mezcla comercial y a la del músculo del sábalo (Figura 34). El índice I/E del material en sedimentación (1,3±0,19) no difiere significativamente de 1 y es comparable a los valores

hallados en sedimentos contaminados por efluentes cloacales sin tratamiento (rango 0,8-2,1, Isobe et al., 2004) y corrobora el escaso grado de degradación de la materia orgánica proveniente del efluente cloacal de BZ.

Las elevadas concentraciones de marcadores fecales poco degradados en el material en sedimentación evidencian la importancia del emisario cloacal de Berazategui como fuente de materia orgánica fresca. Los marcadores fecales se acumulan en el músculo de los sábalos que se alimentan de este material, permitiendo diferenciarlos de los sábalos del río Paraná cuya dieta tiene un fuerte aporte de materia orgánica de origen natural derivada de aportes autóctonos y vegetación terrestre.

Capitulo VIII

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo han permitido caracterizar la composición bioquímica y lipídica en particular del músculo e hígado del sábalo relacionada con el material sedimentable (dieta) y variables morfométricas a lo largo de gradientes de contaminación en la cuenca del Plata. La Figura 37 resume los principales resultados.

En el extremo Norte de la cuenca, los sábalos tienen una dieta basada en el consumo de detritos de origen vegetal (derivados de la producción fitoplanctonica autóctona y de los aportes de vegetación terrestre) y se caracterizan por su crecimiento alométrico negativo y su musculatura relativamente magra.

En Berazategui, los efluentes urbano-industriales aportan gran cantidad de materia orgánica relativamente fresca de fácil asimilación que es consumida por los sábalos resultando en un rápido engorde basado en la acumulación de triglicéridos en el músculo. Estos animales se distinguen por su elevado coeficiente de alometria, por su contenido lipídico muscular excepcionalmente alto y por una composición de ácidos grasos, tanto en músculo como en hígado, rica en ácidos de 18 carbonos y pobre en AGP de cadena larga.

El análisis de marcadores específicos de contaminación cloacal como los esteroles fecales y los alquil-bencenos lineales confirma esta discriminación indicando concentraciones 5-7 veces más elevadas en Berazategui respecto al Norte. La bioacumulacion de los contaminantes codigeridos con la materia orgánica interfiere en el metabolismo lipidico estimulando la acumulación de triglicéridos, lo que a su vez facilitaría la asimilación de contaminantes hidrófobos.

La presencia de sábalos provenientes de Berazategui en el cauce medio del río Paraná, con depósitos grasos aparentemente inmovilizados aun después de extensas migraciones señala la importancia de este pez como transportador de contaminantes a lo largo de la cuenca.

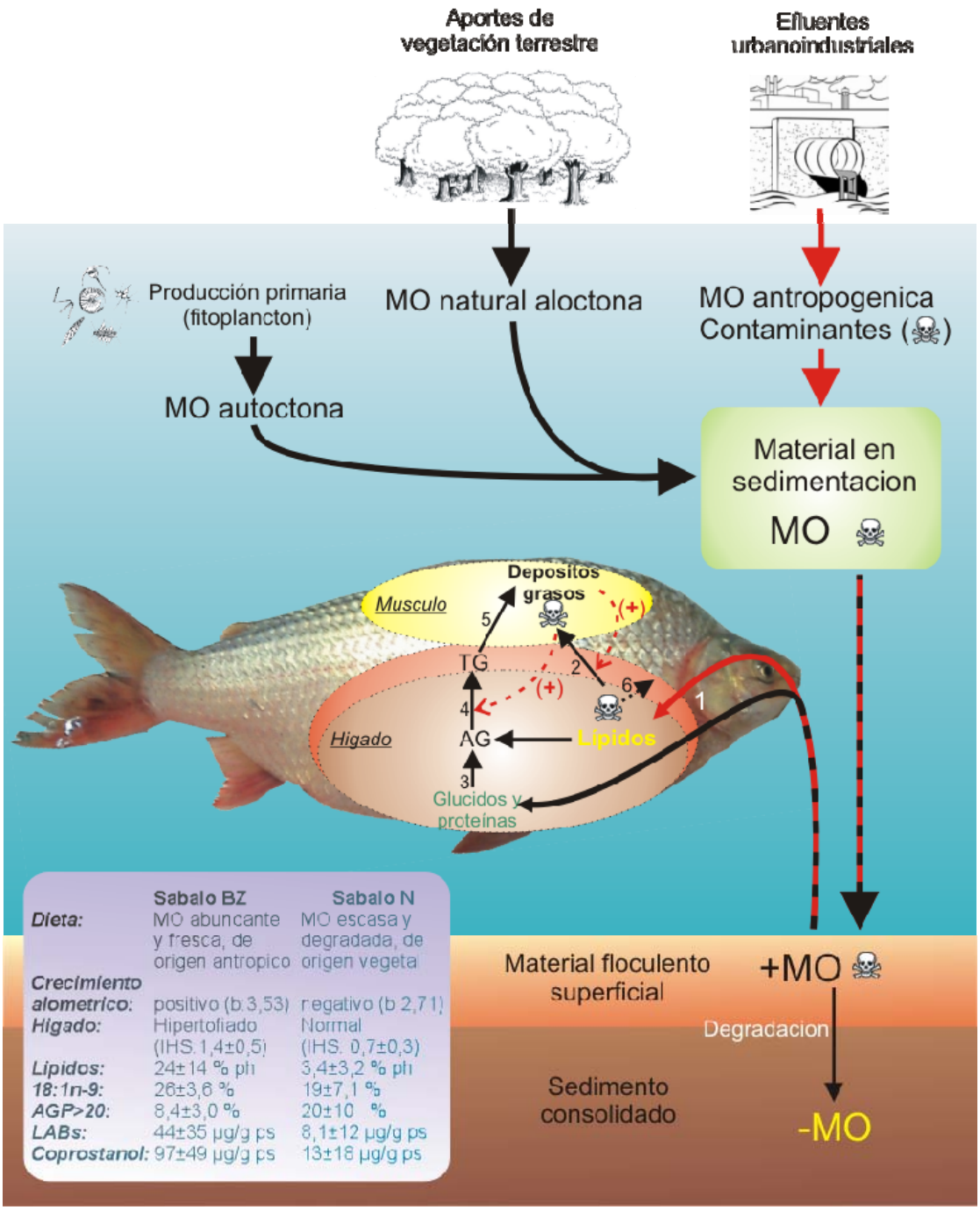


Figura 37. Resumen esquemático de los resultados obtenidos. Detalle de la asimilación de la materia orgánica (MO) y contaminantes asociados en Berazategui: 1: absorción intestinal, 2: bioacumulación de contaminantes orgánicos en depósitos grasos, 3: síntesis de ácidos grasos (AG) de novo, 4: elongación/desaturacion de los ácidos grasos y síntesis de triglicéridos (TG), 5: acumulación de triglicéridos en depósitos grasos del músculo, 6: hipertrofia hepática. Las flechas punteadas rojas indican la interferencia (retroalimentación positiva) de los contaminantes en el metabolismo lipidico y la bioacumulacion intensificada de xenobioticos lipofílicos relacionada con el aumento de los tenores grasos. En el recuadro se resumen las diferencias mas importantes entre los sábalos de Berazategui (BZ) y del extremo Norte de la cuenca (N) en términos de dieta, características morfométricas, composición bioquímica muscular y marcadores de contaminación cloacal (b: pendiente de la relación longitud-peso, IHS: índice hepatosomatico, AGP>20: ácidos grasos polinsaturados de cadena larga, LABs: alquilbencenos lineales).

A continuación se resumen los resultados más relevantes del presente estudio:

- Los sábalos de Berazategui tienen un crecimiento alometrico positivo con una pendiente muy elevada de la relación longitud-peso (b = 3,53), apoyando la hipótesis de un engorde anormal vinculado al consumo de materia orgánica antropogénica (Hipótesis 4). En contraste, los sábalos del Norte de la cuenca tienen una pendiente mucho más baja (b= 2,71). En los sábalos del Paraná la pendiente es más elevada (b= 3,16), debido a la mezcla de distintos stocks de sábalos (del Norte y migradores del río de La Plata).
- La alometria positiva en los sábalos de Berazategui es acompañada por un índice hepatosomatico más elevado que en los de Paraná, posiblemente relacionado a una hipertrofia asociada a la exposición a xenobióticos.
- En el músculo, se observa un reemplazo de agua por lípidos a medida que aumenta el peso del pez, con un claro predominio de los triglicéridos entre los lípidos neutros, reflejando el rol de este órgano como deposito energético. La composición bioquímica y lipidica del hígado, en cambio, no muestra una clara tendencia de variación con el peso y es más variada respecto del músculo, con mayor proporción de ácidos grasos libres, colesterol libre y esterificado, reflejando su condición de sede del metabolismo lipídico.
- Tanto en músculo como en hígado, los sábalos poseen una composición de ácidos grasos similar a la de otros peces paranoplatenses, dominada por 16:0 y 18:1, y con una proporción de AGP baja (particularmente en el músculo). Mientras que los AGM aumentan con el contenido lipídico, los AGP disminuyen, reflejando la diferencia en términos de composición de ácidos grasos, de los triglicéridos y los fosfolipidos.
- Los contenidos estomacales y el material en sedimentación son más ricos en lípidos, glúcidos y proteínas que los sedimentos, lo que concuerda con el menor grado de degradación evidenciado por su composición lipídica. Esto confirma la Hipótesis 1 indicando que el sábalo se alimenta sobre el material floculento superficial que contiene mayor proporción de materia orgánica fresca que el sedimento consolidado.
- La composición lipídica del contenido estomacal del sábalo y del material en sedimentación es muy compleja y muestra variaciones geográficas, reflejando las distintas fuentes de materia orgánica a lo largo de la cuenca (p.e.j. pigmentos, hidrocarburos, esteroles).
- La composición de ácidos grasos de los contenidos estomacales y el material en sedimentación tiene, respecto al músculo e hígado, mayores proporciones de ácidos grasos saturados, en especial 16:0 y 18:0, y menores proporciones de AGP. En los

sedimentos, esta diferencia se acentúa, reflejando la rápida degradación de los ácidos grasos más labiles.

- Las profundas diferencias, en términos de composición bioquímica y lipidica de sedimentos, material en sedimentación y contenidos estomacales entre BZ y PAR evidencian la alteración biogeoquimica en la zona metropolitana del río de La Plata como consecuencia de las descargas de efluentes urbano-industriales, confirmando la Hipótesis 2.
- Los sábalos de BZ tienen un contenido lipidico muscular excepcionalmente elevado (24±14 %ph), que aumenta rápidamente conforme aumenta peso corporal. Los sábalos de PAR tienen un contenido lipidico mucho menor (8,0±10 %ph), que se reduce aun mas al excluir un grupo de individuos migradores del río de La Plata (PARout), asemejándose al contenido lipidico de los sábalos del extremo Norte de la cuenca (4,6±4,9 vs. 3,4±3,2 %ph). La diferencia en contenido lipidico refleja el cambio desde una dieta pobre en materia orgánica en el Norte de la cuenca, al consumo de abundante materia orgánica de origen antropico en Berazategui y coincide con las tendencias observadas en los parámetros morfometricos. Esto confirma las Hipótesis 3 y 4, que indican que los sábalos de BZ optimizan su dieta mediante el consumo de barros contaminados con abundante materia orgánica de fácil asimilación que permiten un rápido engorde.
- Tanto en músculo como en hígado, los sábalos de Berazategui tienen, respecto a los de Paraná, un perfil de ácidos grasos enriquecido en 18:2 y 18:1n-9, y pobre en AGP de cadena larga (>20 carbonos). Esta diferencia es compatible con una interferencia de los xenobioticos sobre el metabolismo lipidico (inhibición de las elongasas 18:20 y de las desaturasas Δ6 y Δ5 y estimulación de la Δ9) resultando en una acumulación incrementada de triglicéridos. Esto constituiría, tal como se planteó en la Hipótesis 5, un mecanismo de retroalimentación positiva entre el aumento de los lípidos y la bioacumulación intensificada de contaminantes hidrófobos que a su vez ejercerían un mayor efecto sobre las enzimas del metabolismo lipidico.
- La elevada acumulación de marcadores cloacales específicos como el coprostanol y los alquilbencenos lineales en los sábalos de Berazategui confirma que la cadena trófica detrítica en este sector del río de la Plata contiene un aporte antropogénico predominante, ratificando las Hipótesis 3 y 4. La señal de estos marcadores cloacales permite identificar a los sábalos de Berazategui en su migración por el Paraná.
- Los aportes naturales de materia orgánica también son reflejados por la composición de esteroles. Los perfiles enriquecidos en fitosteroles (sitosterol, stigmasterol y

stigmastanol) en los sábalos del Paraná efectivamente indican aportes predominantes de detritos vegetales en su dieta.

El presente trabajo plantea varios interrogantes que pueden constituir temas de estudio para futuras investigaciones, los cuales se enumeran a continuación:

- Análisis histopatológico del hígado de sábalos expuestos a mezclas complejas de contaminantes.
- Caracterización detallada de las clases lipidicas del material en sedimentación y los sedimentos no caracterizadas en este estudio (alcoholes, cetonas, hidrocarburos, etc.) y estudio de los mecanismos que regulan la composición bioquímica de estos compartimientos.
- Evaluación de la importancia del sábalo como transportador de contaminantes a lo largo de la cuenca a través del estudio de sus migraciones.
- Estudio de las alteraciones del metabolismo de ácidos grasos mediante análisis de actividades desturasas y elongasas especificas.
- Estudio de los procesos de absorción intestinal y transporte inter-órgano de los lípidos y los contaminantes asociados
- Estudio de los mecanismos de biotransformación de contaminantes orgánicos (ej. hidrocarburos policiclicos aromáticos, bifenilos policlorados) mediante el análisis de sus metabolitos.

Bibliografía citada

Ackman, R.G. 2000. Fatty acids in fish and shellfish, En *Fatty acids in foods and their health implications*. Editado por C.K. Chow, Marcel Dekker, Inc, New York, pp. 153-174.

Addison, R.F. 1982. Organochlorine compounds and marine lipids. Prog. Lipid Res. 21: 47-71.

Agren, J., Muje, P., Hanninen, O., Herranen, J., Penttila, I. 1987. Seasonal variation of lipid fatty acids of boreal freshwater fish species. Comp. Biochem. Physiol. 88: 905-909.

Agostinho, A.A., Emilia, A., Vazzoler, A. de M., Gomes, L.C., Okada, E. K. 1993. Estratificacion espacial y comportamineto de Prochilodus scrofa en distintas fases del ciclo de vida, en la planicie de inundación del alto rio Parana y embalse de Itaipu, Parana, Brazil. Rev. Hydrobiol. Trop. 26: 79-90.

Agostinho, A.A., Gomes, L.C., Suzuki, H.I., Ferreira J., H. 2003, Migratory Fishes of the Paraguay-Paraná Basin, Excluding the Upper Paraná Basin, En *Migratory fishes of South America*, Editado por Carolsfeld, J., Harvey, B., Ross, C., Baer, A. World Fisheries Trust, The World Bank.

Agostinho, A. A., Gomes, L. C., Veríssimo, S., Okada, E. K. 2004. Flood regime, dam regulation and fish in the Upper Paraná River: effects on assemblage attributes, reproduction and recruitment. Rev. Fish Biol. Fisher. , 14: 11-19.

Alberto, A., Camargo, A.F., Verani, J.R., Costa, O.F., Fernandes, M.N. 2005. Health variables and gill morphology in the tropical fish Astyanax fasciatus from a sewage-contaminated river. Ecotoxicol. Environ. Saf. 61: 247-55.

Almeida, J.S., Meletti, P.C., Martinez, C.B.R. 2005. Acute effects of sediments taken from an urban stream on physiological and biochemical parameters of the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. Comp. Biochem. Physiol. C 140: 356:363.

Amsler, M., Prendes, H. 2000. Transporte de sedimentos y procesos fluviales asociados. En *El Rio Parana en su tramo medio*. Editado por Paoli, C; Schreider, M, Centro de Publicaciones Universidad Nacional del Litoral. Tomo I: 233-306.

Angelescu, V.G., Gneri, F.S. 1949. Adaptaciones del aparato digestivo del regimen alimenticio en algunos peces del Rio Uruguay y del Rio de La Plata. I. Tipo omnivoro e iliofagoen representantes de las familias Loricariidae y Anostomidae. Rev. Inst. Nac. C. Nat. Zool. 1: 161-272.

Angelini, N., Seigneur, G. 1992. Investigación de residuos de sustancias organocloradas en peces del río Uruguay. Publicaciones de la Comisión Administradora del Río Uruguay. Serie Científico-Técnica. 1: 36-42.

Bayley, P. B. 1973. Studies on the migratory characin, *Prochilodus platensis* Holmberg 1889, (Pises, Characoidei) in the River Pilcomayo, South America. J. Fish Biol. 5: 25-40.

Bayo, V., Maitre, M.I. 1983. Distribución de ácidos grasos y lípidos en *Prochilodus platensis* Holmberg (sábalo), (Pisces, Prochilodontidae). Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral 14: 125-132.

Bayo,V., Cordiviola de Yuan, E. 1992. Ácidos grasos de *Prochilodus lineatus*. Rev. Hydrobiol.Trop. 25: 48-54.

Bechara, J.A., Sanchez, S., Roux, J.P., Terraes, J.C., Quintana, C.F. 1999. Variaciones del factor de condicion relative de la ictiofauna del Río Paraná aguas abajo de la represa de Yaciretá, Argentina. Revista de Ictiología 7: 75-89.

Bell, M.V., Henderson, R.J., Sargent, J.R. 1986. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. Comp. Biochem. Physiol. 83: 711-719.

Belling, G. B., Abbey, M., Campbell, J. H., Campbell, G. R. 1997. Lipid content and fatty acid composition of 11 species of Queensland (Australia) fish. Lipids 32: 621-625.

Benedito-Cecilio, E., Agostinho, A.A., Velho, R.C.C.M. 1997. Length-weight relationship of fishes caught in the Itaipu Reservoir, Paraná, Brazil. Naga ICLARM Q. 20: 57-61.

Bonetto, A. A., Dioni, W., Pignalberi, C. 1969. Limnological investigations on biotic communities in the middle Parana river valley. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol. Verh. 17:1035-1050.

Bonnetto, C.A. 1980. Densidad de población, crecimiento y producción del Sábalo (*Prochilodus platensis*) en la Laguna González (Corrientes, Republica Argentina). Hist. Nat. 1: 121-136.

Bowen, S. H., 1983. Detritivory in neotropical fish communities. Environ. Biol. Fishes 9: 137-144.

Bowen, S.H., Bonetto, A.A., Ahlgren, M.O. 1984. Microorganisms and detritus in the diet of a typical neotropical riverine detritivore, *Prochilodus platensis* (Pisces: Prochilodontidae). Limnol. Oceanogr. 29:1120-1122.

Brennan, M.H., Gormley, T.R. 1999. The quality of under-utilised deep-water fish species. The National Food Centre, Research report No. 22. Teagasc, Dublin.

Brenner, R.R. 1953. Composición química de las grasas de deposito del *Prochilodus lineatus* (Sábalo). Parte I: Panículo dorsal. Anales de la Asociación Química Argentina 41: 61-74.

Brenner, R.R., De Tomas, M.E., Mercuri, O.F., Peluffo, R.O. 1961. Sobre los ácidos grasos componentes de los lípidos de los peces del Río de La Plata. Revista Argentina de Grasas y Aceites 3:2-12.

Brown, R. C., Wade, T. L. 1984. Sedimentary coprostanol and hydrocarbon distribution adjacent to a sewage outfall. Water Res. 18: 621-632.

Carozza, C., Cordiviola de Yuan, E. 1991. Ichthyological studies in La Cuarentena Lagoon (Carabajal Island), Parana River, Argentina: age and growth of Sábalo *Prochilodus lineatus* (Val,), period 1984-1985 (Pisces, Curimatidae). Rev. Hydrobiol. Trop. 24: 119-129.

Cappelletti, N., Williamson, M., Muir, D.C.G., Lasci, J., Colombo, J.C. 2005. Éteres de di fenilos polibromados (PBDE) en Sábalos (*Prochilodus lineatus*) de la cuenca del Plata. Acta Toxicologica Argentina 13: 40.

Cappelletti, N., Williamson, M., Muir, D.C.G., Colombo, J.C. 2006. Éteres de di fenilos polibromados en material sedimentable y en sábalos de la costa Sur del Rio de La Plata. Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar, 4 a 8 de Diciembre de 2006, Puerto Madryn, Argentina.

Chan, K.H., Lam, M.H.W., Poon, K.F., Yeung, H.Y., Chiu, T.K.T. 1998. Application of sedimentary fecal stanols and sterols in tracing sewage pollution in coastal waters. Wat. Res. 32:225-235.

Colombo, J.C., Pelletier, E., Brochu, C., Khalil, M., Catoggio, J.A. 1989. Determination of hydrocarbon sources using n-alkane and polyaromatic hydrocarbon distribution indexes, Case study: Rio de La Plata estuary, Argentina. Environ. Sci. Technol. 23: 888-894.

Colombo, J.C., Khalil, M.F., Arnac, M., Horth, A.C., Catoggio, J.A. 1990. Distribution of chlorinated pesticides and individual polychlorinated biphenyls in biotic and abiotic compartments of the Rio de La Plata, Argentina. Environ. Sci. Technol. 24: 498-505.

Colombo, J.C., Bilos, C., Campanaro, M., Rodríguez Presa, M.J., Catoggio, J.A. 1995. Bioaccumulation of polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticidas by the asiatic clam *Corbicula fluminea*: Its use as sentinel organism in the Rio de La Plata Estuary, Argentina. Environ. Sci. Technol. 29: 914-927.

Colombo J.C., Silverberg N., Gearing J.N. 1996. Lipid biogeochemistry in the Laurentian Trough: I - Fatty acids, sterols and aliphatic hydrocarbons in rapidly setting particles. Org. Geochem. 25: 211-225.

Colombo J.C., Silverberg N., Gearing J.N. 1997a. Lipid biogeochemistry in the Laurentian Trough--II. Changes in composition of fatty acids, sterols and aliphatic hydrocarbons during early diagenesis. Org. Geochem. 26:257-274.

Colombo, J.C., Brochu, C., Bilos, C., Moore, S. 1997b. Long-term accumulation of individual PCBs, dioxins, furans, and trace metals in asiatic clams from the Rio de La Plata estuary, Argentina. Environ. Sci. Technol. 31: 3551-3557.

Colombo, J.C., Bilos, C., Remes Lenicov, M., Colautti, D., Landoni, P., Brochu, C. 2000. Detritivorous fish contamination in the Rio de La Plata estuary, A critical accumulation pathway in the cycle of anthropogenic compounds. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 57: 1139-1150.

Colombo, J.C., Speranza, E., Barreda, A., Cappelletti, N., Migoya, M.C. 2004. Detritivoria y migraciones del Sábalo como ruta crítica de acumulación y transporte de contaminantes orgánicos en la cuenca Parano-Platense. II Reunión Binacional (Argentina-Chile) de Ecología p. 343.

Colombo, J.C., Cappelletti, N., Barreda, A., Migoya, M.C., Skorupka, C. 2005a. Vertical fluxes and accumulation of PCBs in coastal sediments of the Río de la Plata estuary, Argentina. Chemosphere 61: 1345-1357.

Colombo, J.C., Cappelletti, N., Lasci, J., Migoya, M.C., Speranza, E., Skorupka, C.N. 2005b. Sources, vertical fluxes and accumulation of aliphatic hydrocarbons in coastal sediments of the Rio de la Plata Estuary, Argentina. Environ. Sci. Technol. 39: 8227-8234.

Colombo, J.C., Cappelletti, N., Migoya, M.C., Speranza, E., 2007a. Bioaccumulation of anthropogenic contaminants by detritivorous fish in the Rıo de la Plata Estuary: 1-Aliphatic hydrocarbons. Chemosphere 68: 2128-2135.

Colombo, J.C., Cappelletti, N., Migoya, M.C., Speranza, E. 2007b. Bioaccumulation of anthropogenic contaminants by detritivorous fish in the Rıo de la Plata Estuary: 2-Polychlorinated biphenyls. Chemosphere 69: 1253-1260.

Colombo, J.C., Cappelletti, N., Speranza, E., Migoya, M.C., Lasci, M.J., Skorupka, N. 2007c. Vertical fluxes and organic composition of settling material from the sewage impacted Buenos Aires coastal area, Argentina. Org. Geochem. 38: 1941-1952.

Copeman, L.A., Parrish, C.C. 2004. Lipid classes, fatty acids and sterols in seafood from Gilbert Bay, Southern Labrador. J. Agric. Food Chem. 52: 4872-4881.

Cordiviola de Yuan, E. 1971. Crecimiento de peces del Paraná medio: 1, Sábalo (*Prochilodus platensis* Holmberg), (Pises, Tetragonopteridae). Physis 30: 483-504.

Cranwell, P. A. 1982. Lipids of aquatic sediments and sedimenting particulates. Prog. Lipid Res. 21:271-308.

Darsie, J., Gosha, S.K., Holman, R.T. 1975. Induction of abnormal fatty acid metabolism and essential fatty acid deficiencyin rats by dietary DDT. Archives of Biochemistry and Biophysics 175: 262-269.

deBruyn, A. M. H., Rasmussen, J. B. 2002. Quantifying assimilation of sewage-derived organic matter by riverine benthos. Ecol. Appl. 12: 511–520.

deBruyn. A.M.H., Marcogliese, D.J., Rasmussen, J.B. 2003. The role of sewage in a large river food web. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 60: 1332–1344.

deBruyn. A.M.H., McCann, K.S., Rasmussen, J.B. 2004. Migration supports uneven consumer control in a sewage-enriched river food web. J. Anim. Ecol. 73: 737-746.

Degens, E. T., Kempe, S., Richey, J. E. 1991 Summary: Biogeochemistry of major World rivers. En *Biogeochemistry of major world rivers* Editado por Degens, E. T., Kempe, S. y Richey, J. E. International Council of Scientific Unions, Scientific Committee on Problems of the Environment, United Nations Environment Programme. Series Scope, report 42. pp. 323-347, John Wiley & Sons.

Domitrovic, H.A. 1983. Histología del tracto digestivo del sábalo (*Prochilodus platensis*, Holmberg, 1880: Pisces, Prochilodontidae). Physis 41: 57-67.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28: 350-356.

Ecoutin, J.M., Albaret, J.J. 2003. Relation longuer-poids pour 52 espèces des poissons des estuaires et lagunes de l'Afrique de l'Ouest. Cybium 27: 3-9.

Eganhouse, R. P., Blumfield, D.L., Kaplan, I.R. 1983. Long-chain alkylbenzenes as molecular tracers of domestic wastes in the marine environment. Environ. Sci. Technol. 17: 523-530.

Eganhouse, R. P. 1986. Long-chain alkylbenzenes: their analytical chemistry, environmental occurrence and fate. Int. J. Environ. Anal. Chem. 26:241-63.

Eganhouse, R.P., Olaguer, D.P., Gould, B.R., Phinney, C.S. 1988. Use of molecular markers for the detection of municipal sewage sludge at sea. Marine Environ. Res. 25:1-22.

Eganhouse, R.P. 1997. Molecular markers and environmental organic geochemistry: An overview. ACS Symposiums Series 671:1-20.

Escobar, E. 2004. Biologia reproductiva del sábalo *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1847) en el Río Bermejo. Su implicancia en el manejo pesquero. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina.

Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226: 497-509.

Froese, R., Pauly, D. 2005, FishBase. World Wide Web electronic publication. Disponible en: www,fishbase,org

Gaskell, S.J. Eglington, G. 1974. Short-term diagenesis of sterols. En *Proc. 6th Internat. Meeting on Org. Geochem.* Editado por Tissot, B., Bienner, F. Editions Technip. Paris, pp. 963-976.

Gerchakov, S.M., Hatcher, P. G. 1972. Improved technique for analysis of carbohydrates in sediments. Limnol. Oceanogr. 17: 938-943.

Geyer, H. J., Steinberg, C. E., Scheunert, I., Brüggemann, R., Schütz, W., Kettrup, A., Rozman, K. 1993. A review of the relationship between acute toxicity (LC50) of γ–hexachlorocyclohexane (γ-HCH, Lindane) and total lipid content of different fish species. Toxicology 83: 169-179.

Geyer, H. J., Scheunert, I., Brüggemann, R., Matthies, M., Steinberg, C. E. W., Zitko, V., Kettrup, A., Garrison, W. 1994. The relevance of aquatic organisms lipid content to the toxicity of lipophilic chemicals: Toxicity of Lindane to different fish species. Ecotox. Environ. Safe. 28: 53-70.

Geyer, H. J., Scheunert, I., Brüggemann, R., Langer, D., Korte, F., Kettrup, A., Mansour, M., Steinberg, C. E. W., Nyholm, N. & Muir, D. C. G. 1997. Half-lives and bioconcentration of lindane (γ-HCH) in different fish species and relationship with their lipid content. Chemosphere 35: 343-351.

Gneri, F.S., Angelescu, V.G. 1951. La nutricion de los peces ilipfagos en relacion con el metabolismo general del ambiente acuatico. Rev. Inst. Nac. Invest. Cienc. Nat. Zool. 2: 1-44.

Gobas, F.A.P.C., Mackay, D. 1987. Dynamics of hydrophobic organic chemical bioconcentration in fish. Environ. Toxicol. Chem. 6: 495-504.

Gobas, F.A.P.C., Zhang, X., Wells, R. 1993. Gastrointestinal magnification: The mechanism of biomagnification and food chain accumulation of organic chemicals. Environ. Sci. Technol. 27: 2855-2863.

Guerrero, R.A., Acha, E.M., Framiñan, M.B., Lasta, C.A. 1997. Physical oceanography of the Rio de la Plata Estuary, Argentina. Cont. Shelf Res. 17: 727-742.

Gustafsson O., Long C.M., Macfarlane J., Gschwend P.M. 2001. Fate of linear alkylbenzenes released to the coastal environment near Boston Harbor. Environ Sci Technol. 35: 2040-2048.

Harrison, E.Z., Rayne Oakes, S., Hysell, M., Hay, A. 2006. Organic chemicals in sewage sludge. Sci. Total Environ. 367: 481–497.

Hawkes, J.W. 1980. The effects of xenobiotics on fish tissues: morphological studies.Fed. Proc. 39: 3230-3236.

Henderson, R.J. 1996. Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. Arch. Anim. Nutr. 49: 5-22.

Huang, W. Y.; Meinschein, W. G. 1976. Sterols as source indicators of organic materials in sediments. Geochim. Cosmochi. Acta 40: 323-330.

Huang, WY.; Meinschein, W.G. 1979. Sterols as ecological indicators. Geochim. Cosmochim. Acta 43: 739-745.

Hulver, M.W., Berggren, J.R., Carper, M.J., Miyazaki, M., Ntambi, J.M., Hoffman, E.P., Thyfault, J.P., Stevens, R., Dohm, G.L., Houmard, J.A., Muoio, D.M. 2005. Elevated stearoyl-CoA desaturase-1 expression in skeletal muscle contributes to abnormal fatty acid partitioning in obese humans. Cell Metab. 2: 251-261.

Huss, H.H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper 348, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Isobe, K.O., Tarao, M., Chiem, N.G., Minh, L.E., Takada, H. 2004. Effect of Environmental Factors on the Relationship between Concentrations of Coprostanol and Fecal Indicator Bacteria in Tropical (Mekong Delta) and Temperate (Tokyo) Freshwaters. Appl. Environ. Microb. 70: 814-821.

Jeng, H.I., Wang, J., Han, B.C. 1996. Coprostanol distribution in marine sediments off southwestern Taiwan. Environ. Pollut. 94: 47-52.

Kasyanov, A.N., Izyumov, Y.G. 2000. Age and growth of *Prochilodus lineatus* (Characoidei, Curimatidae) from the Rio Pilcomayo Basin (South America). J. Ichthyol. 40: 353-363.

Kates, M. 1986. Techniques of lipidology. 2da edicion. Elsevier, Amsterdam.

Keller, S., Jahreis, G. 2004. Determination of underivatised sterols and bile acid trimethyl silyl ether methyl esters by gas chromatography–mass spectrometry–single ion monitoring in faeces. J. Chromatogr. B 813:199–207.

Kirsch, P.E., Iverson, S.J., Bowen, W.D., Kerr, S.R., Ackman, R.G. 1998. Dietary effects on the fatty acid signature of whole Atlantic cod (*Gadus morhua*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 55: 1378-1386.

Kohli, K.K., Gupta, B.N., Albro, P.W., Mukhtar, H., McKinney, J.D. 1979. Biochemical effects of pure isomers of hexachlorobiphenyl: Fatty livers and cell structure. Chem-Biol. Interact. 25: 139-256.

Kozlova, T.A., Khotimchenko S.V. 2000. Lipids and fatty acids of two pelagic cottoid fishes (*Comephorus* spp.) endemic to Lake Baikal. Comp. Biochem. Physiol. B 126: 477–485.

Kuksis, A. 1986. Digestion and absorption of fat-soluble xenobiotics. En *Fat absorprtion*. Editado por A. Kuksis. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, pp. 87-166.

Lassiter, R.R., Hallam, T.G. 1990. Survival of the fattest: Implications for acute effects of lipophilic chemicals on aquatic populations. Environ. Toxicol. Chem. 9: 585-595.

LeBlanc, L.A.; Latimer, JS; Ellis, JT; Quinn, JG. 1992. The Geochemistry of Coprostanol in Waters and Surface Sediments from Narragansett Bay. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 34: 439-458.

Leeming, R., Ball, A., Ashbolt, N., Nichols, P. 1996. Using faecal sterols from human and animals to distinguish faecal pollution in receiving waters. Wat. Res.30: 2893-2900.

Leeming, R., Ball, A., Ashbolt, N., Nichols, P.D. 1996. Using faecal sterols from human and animals to distinguish faecal pollution in receiving waters. War. Res. 30: 2893-2900.

Lopez, H.L., Bonetto, A.A., Gomez, S.E., Protogino, L.C. 1993. Bibliografia argentina del genero *Prochilodus* (Pisces Curimatidae). Biologia Acuatica 17.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.L., Farr, A.L., Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin-phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.

Luzia, L.A., Sampaio, G.R., Castellucci, C.M.N., Torres, E.A.F.S. 2003. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. Food Chem. 83: 93–97.

Ma, D.W.L., Seo, J., Switzer, K.C., Fana, Y.Y., McMurray, D.N., Lupton, J.R., Chapkin, R.S. 2004. n-3 PUFA and membrane microdomains: a new frontier in bioactive lipid research. J. Nutr. Biochem., 15: 700– 706.

Maia, E.L., Rodriguez-Amaya, D.B., Amaya-Farfan, J. 1983. Proximate, fatty acid and amino acid composition of the Brazilian freshwater fish *Prochilodus scrofa*. Food Chem. 12: 275-286.

Maia, E.L., de Oliveira, C.C.S., Santiago, A.P., Cunha, F.E.A., Holanda, F.C.A.F., Sousa, J.A. 1999. Composição química e classes de lipídios em peixe de água doce Curimatã comum, *Prochilodus cearensis*. Ciênc. Tecnol. Aliment. 19: 433-437.

MacDonald, I. 1966. Lipid responses to dietary carbohydrates. Adv. Lip. Res. 4: 39-67.

Mallat, J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: A statistical review. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 42: 630-648.

Mallin, M.A., Cahoon, L.B., Toothman, B.R., Parsons, D.C., McIver, M.R., Ortwine, M. L., Harrington, R.N. 2007. Impacts of a raw sewage spill on water and sediment quality in an urbanized estuary. Mar. Pollut. Bull. 54: 81-88.

Malpartida, A. R. 2001. Aspectos historicos del servicio de cloacas maximas. Introduccion y antecedentes de investigaciones en torno a la contaminacion del Rio de La Plata en la franja costera Sur. Informe Técnico, Municipalidad de Berazategui, 44 paginas.

Massao Nachi, A. Hernadez-Blanquez, F.J., Lamorinier Barbieri, R., Leite, R.G., Ferri, S., Tokumaru Phan, M. 1998. Intestinal histology of a detritivorous (iliophagous) fish *Prochilodus scrofa* (characiformes, prochilodontidae). Annales des Sciences Naturelles 2: 81-88.

Matsuhita, M., Souza, N.E. 1994. Organochlorine pesticides residues in some commercial fish species from floodplain of high Parana River, Porto Rico Region, Parana State, Brazil, Arq. Biol. Tecnol. 37: 637-644.

Matsusue, K., Ishii, Y., Ariyoshi, N., Oguri, K. 1997. A highly toxic PCB produces unusual changes in the fatty acid composition of rat liver. Toxicol. Lett. 91: 99-104.

Matsusue, K., Ishii, Y., Ariyoshi, N., Oguri, K. 1999. A highly toxic Coplanar Polychlorinated Biphenyl Compound Suppresses Δ5 and Δ6 Desaturase Activities Which Play Key Roles in Arachidonic Acid Synthesis in Rat Liver. Chem. Res. Toxicol. 12: 1158-1165.

McClain, M.E. 2002. The ecohydrology of South Americans rivers and wetlands. IAHS Special Publication no. 6. 210p.

Mendez E., Gonzalez R.M., Inocente G., Giudice H., Grompone M.A. 1996 Lipid Content and Fatty Acid Composition of Fillets of Six Fishes from the Rio de la Plata. J. Food Compos. Anal. 9: 163-170.

Méndez, E., González, R.M., Inocente, G., Giudice, H., Grompone, M.A. 1997. Lipid content and fatty acid composition of fillets of six fishes from the Rio de La Plata. J. Food Compos. Anal. 9: 163-170.

Méndez, E., González, R.M. 1997. Seasonal changes in the chemical and lipid composition of fillets of the Southwest Atlantic hake (*Merluccius hubbsi*). Food Chem. 59: 213-217.

Meyers, P.A., Ishiwatari, R. 1993. Lacustrine organic geochemistry – an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. Org. Geochem. 20: 867-900.

Miller, M.A., Madenjian, C.P., Masnado, R.G. 1992. Pattern of organochlorine contamination in lake trout from Wisconsin waters of the Great Lakes. J. Great Lakes Res. 18: 742-754.

Miller, M.A., Kassulke, N.M., Walkowski, M.D. 1993. Organochlorine concentrations in Laurentian Great Lakes salmonines: Implications for fisheries management. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 25: 212-219.

Mills, L.J., Chichester, C. 2005. Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? Sci. Total Environ. 343: 1- 34.

Montgomery, R. 1957. Determination of Glycogen. Archs. Biochem. Biophys. 67: 378-386.

Moslen, M.T. 1995. Toxic responses of the liver. En *Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons*. Editado por C.D. Klaassen. pp. 403-416.

Morrisey, M.T., Rasmussen, R., Carroll, S. 2004. Lipid content in troll-caught Albacore Tuna and correlations with geographical location, physical measurements and seasonality. Reporte final. American Fishermen's Research Foundation, Redding, CA.

Mudge, S. M., Gwyn Lintern, D. 1999. Comparison of Sterol Biomarkers for Sewage with other Measures in Victoria Harbour, B.C., Canada. Estuarine, Coastal and Shelf Science 48: 27-38.

Mudge, S.M., Duce, C.E. 2005. Identifying the source, transport path and sinks of sewage derived organic matter. Environ. Pollut. 136: 209-220.

Muri, G., Wakeham, S.G., Pease, T.K., Faganeli, J. 2004. Evaluation of lipid biomarkers as indicators of changes in organic matter delivery to sediments from Lake Planina, a remote mountain lake in NW Slovenia. Org. Geochem. 35: 1083–1093.

Nichols, P.D., Mooney, B.D., Elliot, N.G. 2002. Nutritional value of Australian seafood II. Factors affecting oil composition of edible species. CSIRO Marine Research, and Fisheries Research Development Corporation, Australia.

Ntambi, J.M., Miyazaki, M. 2004. Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism. Progr. Lipid Res. 43: 91–104.

Oldani, N. O., Oliveros, O.B. 1984. Estudios limnologicos en una seccion transversal del tramo medio del Rio Parana XII: Dinámica temporal de peces de importancia económica. Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral, 15: 175-183.

Oldani, N. O. 1990. Variaciones de la abundancia de peces del valle del rio Parana (Argentina). Rev. Hydrobiol. Trop. 23:67-76.

Oliveros, O.B., R.N. Occhi. 1972. Descripción de la cavidad buco-faríngea del "sábalo" (*Prochilodus platenis* Holm.) con especial referencia a las estructurs dentarias y aparato filtrador branquial (Pisce, Tetragonopteridae). Acta Zool. Lilloana, 29: 121-140.

Oliveira Ribeiro, C. A., Vollaire, Y., Sanchez-Chardi, A., Roche, H. 2005. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. Aquat. Toxicol. 74: 53-69.

Paoli, C., Iriondo, M., Garcia, N. 2000. Caracteristicas de las cuencas de aporte. En *El rio Parana en su tramo medio* Editado por Paoli, C; Schreider, M, Centro de Publicaciones Universidad Nacional del Litoral Tomo I:27-68.

Peng, J., Larondelle, Y., Pham, D., Ackman, R.G., Rollin, X. 2003. Polyunsaturated fatty acid profiles of whole body phospholipids and triacylglycerols in anadromous and landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar* L,) fry. Comp. Biochem. Physiol. B 134: 335–348.

Peters, A.K., Jones, M.L., Honeyfield, D., Bence, J. 2003. Energy dynamic of Lake Michigan salmon Chinook. Project completion report. Great Lakes Fishery Trust, Lansing, MI.

Phillips C.R., Venkatesan M.I., Lin, T. 2001. Linear alkylbenzenes in muscle tissues of white croaker near a large ocean outfall in southern California, USA. Environ Toxicol Chem. 20: 231-238.

Pockligton, R., Leonard, J. D., Crewe, N. F. 1987. Le coprostanol comme indicateur de la contamination fecale dans l'eau de mer et les sediments marins. Oceanol. Acta 10: 83-89.

Porter, C.M., Janz, D.M. 2003. Treated municipal sewage discharge affects multiple levels of biological organization in fish. Ecotox. Environ. Safe. 54:199-206.

Puglisi, E., Nicelli, M., Capri, E., Trevisan, M., Del Re, A.A.M. 2003. Cholesterol, B-Sitosterol, Ergosterol, and Coprostanol in Agricultural Soils. J. Environ. Qual. 32: 466–471.

Quirós, R., Baigún, C. 1985. Fish abundance related to organic matter in the Plata river Basin. South American Transactions of the American Fisheries Society 114: 337-387.

Revaldaves, E. Renesto, E., Machado, M.F.P.S. 1997. Genetic variability of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) in the upper Paraná river. Braz. J. Genet. 20: 1-15.

Rice, C.P., Chernyak, S.M., Begnoche, L., Quintal, R., Hickey, J. 2002. Comparisons of PBDE composition and concentration in fish collected from the Detroit River, MI and Des Plaines River, IL. Chemosphere 49: 731–737.

Salam, A., Ali, M., Anas, M. 2001. Body composition of *Oreochromis mossambicus* in relation to body size and condition factor. Journal of Research (Science), Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan 12: 89-96.

Saliot, A.; Laureillard, J; Scribe, P.; Sicre, M. A. 1991. Evolutionary trends in the lipid biomarker approach for investigating the biogeochemistry of organic matter in the marine environment. Mar. Chem. 36: 233-248.

Saldaña, J., Venables, B. 1983. Energy Compartmentalization in a Migratory Fish, *Prochilodus mariae* (Prochilodontidae), of the Orinoco River. Copeia 3: 617-623.

Sargent, J.R., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J., Tocher, D.R. 1995. Requirement criteria for essential fatty acids. J. Appl. Ichthyol. 11: 183-198.

Schmitt, C.J., Hinck, J.E., Blazer, V.S., Denslow, N.D., Dethloff, G.M., Bartish, T.M., Coyle, J.J., Tillitt, D.E. 2005. Environmental contaminants and biomarker responses in fish from the Rio Grande and its U.S. tributaries: Spatial and temporal trends. Sci. Total Environ. 350:161-193.

Serrazanetti, GP; Pagnucco, C; Conte, LS; Artusi, R .1994. Aliphatic hydrocarbons and linear alkylbenzenes in zooplankton from the gulf of Trieste. Chemosphere 28: 1119-1126.

Sherblom, P.M., Eganhouse, R.P. 1991. Bioaccumulation of molecular markers for municipal wastes by Mytilus edulis. En *Organic substances and sediments in water* Vol. 3, Editado por R.A Baker, pp. 139-158.

Sherblom, P.M., Gschwend, P.M., Eganhouse, R.P. 1992. Aqueous Solubilities, Vapor Pressures, and 1-Octanol-Water Partition Coefficients for C9-C14 Linear Alkylbenzenes. J. Chem. Eng. Data 37: 394-399.

Sigurgisladottir, S., Lall, S.P., Parrish, C.C., Ackman, R.G. 1992. Cholestane as a digestibility marker in the absorption of polyunsaturated fatty acid ethyl esters in Atlantic Salmon. Lipids 27: 418-424.

Sigurgisladottir, S., Palmadottir, H. 1993. Fatty acid composition of thirty-five Icelandic fish species. JAOCS 70: 1081-1087.

Siligato, S., Bohmer, J. 2001. Using indicators of fish health at multiple levels of biological organization to assess effects of stream pollution in southwest Germany. Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery 8: 371-386.

Sivasundar, A., Bermingham, E., Orti, G. 2001. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (*Prochilodus*, Characiformes) in major South American rivers. Mol. Ecol. 10: 407–417.

Smith, D. J., Eglington, G. 1983. The lipid chemistry of an interfacial sediment from the Peru Continental Shelf: Fatty acids, alcohols, aliphatic ketones and hydrocarbons. Geochim. Cosmochim. Acta 47: 2225-2232.

Smith, A.K., Ajani, P.A., Roberts, D.E. 1999. Spatial and temporal variation in fish assemblages exposed to sewage and implications for management. Mar. Environ. Res. 47: 241-260.

Sverlij, S.B., Espinach Ros, A., Orti, G. 1993. Sinopsis de los datos biológicos y pesqueros del Sábalo *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1847). FAO Sinopsis sobre la Pesca No. 154. Roma, FAO.

Takada, H., Eganhouse, R.P. 1998. Molecular wastes of anthropogenic waste. En *Encyclopedia of environmental analysis and remediation.* Editado por R.A. Meyers John Wiley & Sons, pp. 2883-2940.

Tinsley, I.J., Lowry, R.R. 1969. Nutricional interactions and organochlorine insecticide activity. Ann. N.Y. Acad. Sci. 160: 291-298.

Tremblay, L., Van der Kraak, G. 1999. Comparison between the effects of the phytosterol B-sitosterol and pulp and paper mill effluents on sexually immature rainbow trout. Environ. Toxicol. Chem. 18: 329-336.

Tsutsumi, S., Yamaguchi, Y., Nishida, I., Akiyama, K., Zakaria, M.P., Takada, H. 2002. Alkylbenzenes in muscles from South and South East Asian coasts as a molecular tool to assess sewage impact. Mar. Pollut. Bull. 45: 325-331.

Twibell, R. G., Wilson, R. P. 2003. Effects of dietary conjugated linoleic acids and total dietary lipid concentrations on growth responses of juvenile channel catfish, *Ictalurus punctatus.* Aquaculture 221: 621-628.

USDA. 2002. Composition of foods raw, processed, prepared. USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 15, U.S. Department of Agriculture, Beltsville, Maryland.

Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assesment: a review. Environ. Toxicol. Pharm. 13: 57-149.

Van Veld, P.A. 1990. Absorption and metabolism of dietary xenobiotics by the intestine of Fish. Rev. Aquat. Sci. 2: 185-203.

Valls, M.; Bayona, J. M., Albaiges, J. 1989. Use of trialkylamines as an indicator of urban sewage in sludges, coastal waters and sediments. Nature 337: 722-724.

Veiga, P., Juste, C., Lepercq, P., Saunier, K., Beguet, F., Gerard, P. 2005. Correlation between faecal microbial community structure and cholesterol-to-coprostanol conversion in the human gut. FEMS Microbiol. Lett. 242: 81–86.

Villar, C., Stripeikis, J., Colautti, D., D' Huicque, L., Tudino, M., Bonetto, C. 2001. Metals contents in two fishes of diffrent feeding behaviour in the Lower Paraná River and Río de la Plata Estuary. Hydrobiologia 457: 225-233.

Vlieg, P. 1988. Proximate composition of New Zealand marine finfish and shellfish. New Zealand Institute for Crop & Food Research, New Zealand.

Volkman, J. K., Gillan, F. T., Johns, R. B., Eglinton, G. 1981. Sources of neutral lipids in a temperate intertidal sediment. Geochim. Cosmochim. Acta 45: 1817-1828.

Volkman, J.K., Everitt, D.A., Allen, D.L. 1986. Some analyses of lipid classes in marine organisms, sediments and seawater using thin-layer chromatography-flame ionization detection. J. Chromatogr. 356: 147-162.

Wang, Y., Botolin, D., Xu, J., Christian, B., Mitchell, E., Jayaprakasam, B., Nair, M., Peters, J.M., Busik, J., Olson, L.K., Jump, D.B. 2006. Regulation of hepatic fatty acid elongase and desaturase expression in diabetes and obesity. J. Lipid Res. 47: 2028-2041.

Wheeler, S.C., Morrisey, M.T. 2003. Quantification and distribution of lipid, moisture, and fatty acids of West Coast Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*). J. Aquat Food Prod. Technol. 12: 3-16.

Yagi, N., Itokawa, Y. 1980. Lipid metabolism in polychlorinated biphenyl-poisoned rats. Environ. Res. 22: 139-144.

Zaniboni, E. Schulz, U.H. 2003. Migratory fishes of the Uruguay River. En *Migratory fishes of South America* Editado por Carolsfeld, J., Harvey, B., Ross, C., Baer, A. World Fisheries Trust, The World Bank.

Zeng, E.Y., Khan, A.R., Tram, K. 1997. Organic pollutants in the coastal marine environment off San Diego, California. 3.Using linear alkylbenzenes to trace sewage-derived organic materials. Environ. Toxicol. Chem. 16:196-201.