



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

METALES PESADOS, METALOTIIONINAS Y RELACIÓN ARN/ADN DEL
BIVALVO *Lima scabra*, COLECTADO EN DOS ZONAS DE LA ISLA DE
CUBAGUA, ESTADO NUEVA ESPARTA, VENEZUELA.
(Modalidad: Tesis de Grado)

ANIUSKA JOSÉ CEDEÑO NAVARRO

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS.

CUMANÁ, 2011

METALES PESADOS, METALOTIIONINAS Y RELACIÓN ARN/ADN
DEL BIVALVO *Lima scabra*, COLECTADO EN DOS ZONAS DE LA ISLA DE
CUBAGUA, ESTADO NUEVA ESPARTA, VENEZUELA.

APROBADO POR:

Profa. Mairín Lemus
Asesora Académica

Prof. Edgar Zapata
Jurado Principal

Profa. Raquel Salazar
Jurado Principal

INDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN	v
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	6
Área de Estudio	6
Recolección del Sedimento	6
Muestras de tejidos.....	7
Análisis de metales.....	7
Determinación de la relación (ARN/ADN).....	9
Análisis estadístico.....	10
RESULTADOS	11
Metales en <i>Lima scabra</i> de las localidades de La Crucita y Las Minas	11
Metalotioninas totales en <i>Lima scabra</i> en las localidades estudiadas.....	16
Metalotioninas en <i>Lima scabra</i> en los tejidos en la localidad de La Crucita.....	16
Metalotioninas en <i>Lima scabra</i> en los tejidos en la localidad de Las Minas.....	17
Relación ARN/ADN en <i>Lima scabra</i> en las localidades estudiadas.....	17
DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES	26
BIBLIOGRAFÍA	27
APÉNDICES	35
HOJAS DE METADATOS	39

DEDICATORIA

A Dios, mi socio y mi amigo, que estuvo llenándome de fuerzas y paciencia en este largo camino.

A mis cómplices, San Judas Tadeo y la Virgen de la Rosa Mística, por escuchar mis plegarias cada noche y permitir que alcanzara mí más añorada meta.

A mis padres, Antonio y Yusmelys, por hacer de mi lo que soy ahora, y con sus consejos, sacrificio, apoyo y sobre todo, amor, han estado conmigo en todo momento y han sido ejemplo de lucha y perseverancia para mi y mis hermanas. Los amo.

A mis hermanas, Ana, Antonieta y Milagros, quienes han estado y compartido conmigo toda mi vida y servirme de ejemplo a nivel profesional.

A mi novio y compañero, Alex, por estar siempre conmigo en las buenas y malas, apoyándome y brindándome su amor incondicional y darme fuerzas para seguir adelante. Te amo.

A todas aquellas personas, que de una u otra forma, estuvieron junto a mí en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

Ante todo, a Dios, porque gracias a su mano poderosa logré realizar este trabajo.

A mis padres, Antonio y Yusmelys por apoyarme sentimental y económicamente a lo largo de mi carrera. Les estaré eternamente agradecida.

A mi novio, Alex, por brindarme su paciencia y gran ayuda en la realización de este trabajo.

A la Dra. Mairín Lemus por su gran paciencia, ayuda, amistad y asesoría para conmigo en todo momento.

A la Lic. Egle Velásquez por brindarme una mano amiga y aconsejarme en los momentos de desesperación y dificultad.

A los señores Georgina y Juan, por apoyarme y brindarme su hogar durante estos años.

Al Centro de Investigaciones de Guayacán, de la Universidad de Oriente.

A todas aquellas personas que hicieron posible la realización de este trabajo.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Niveles de metales totales en tejidos de <i>Lima scabra</i> pertenecientes a las localidades estudiadas.....	11
Tabla 2. Análisis de correlación entre la concentración de metales pesados de los tejidos (hepatopáncreas, músculo, manto, resto (gónadas e intestinos) y branquias) del bivalvo <i>Lima scabra</i> de las dos localidades de la Isla de Cubagua, estado Nueva Esparta, Venezuela y el contenido de metalotioninas (Mts).....	18

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la Isla Cubagua donde se señalan las localidades estudiadas (La Crucita y Las Minas).....	6
Figura 2. Variaciones en las concentraciones de metales en sedimento de las dos localidades (La Crucita y Las Minas). (Abreviaciones: Kw: Análisis de Kruskal Wallis, cromo (Cr) Kw= 11,344; P= 0,0007; hierro (Fe) Kw= 11,310; P= 0,0007; níquel (Ni) Kw= 6,154; P= 0,013; plomo (Pb) Kw= 11,394; P= 0,0007 y cadmio (Cd) Kw= 11,377; P= 0,0007).....	13
Figura 3. Variaciones en las concentraciones de metales pesados en los tejidos (hepatopáncreas, músculo, manto, resto (gónadas e intestinos) y branquias) del bivalvo <i>Lima scabra</i> en la localidad de La Crucita. (Abreviaciones: Kw: Análisis de Kruskal Wallis, cromo (Cr) Kw= 19,081, P= 0,0007; hierro (Fe) Kw= 19,766, P= 0,0005; níquel (Ni) Kw= 18,771, P= 0,0008; plomo (Pb) Kw= 20,213, P= 0,0004 y cadmio (Cd) Kw= 24,447, P= 0,00006).....	14
Figura 4. Variaciones en las concentraciones de metales pesados en los tejidos (hepatopáncreas, músculo, manto, resto y, branquias) del bivalvo <i>Lima scabra</i> en la localidad de Las Minas. (Abreviaciones: Kw: Análisis de Kruskal Wallis, cromo (Cr) Kw= 3,113, P= 0,539; hierro (Fe) Kw= 20,7849, P= 0,0003; níquel (Ni) Kw= 22,396, P= 0,0001; plomo (Pb) Kw= 8,235, P= 0,0833 y cadmio (Cd) Kw= 25,964, P= 0,00003)...	15
Figura 5. Variaciones en las concentraciones de metalotioninas en las dos localidades (La Crucita y Las Minas).	16
Figura 6. Variaciones en las concentraciones de metalotioninas en los tejidos del bivalvo <i>Lima scabra</i> (hepatopáncreas, músculo, manto, resto y branquias) en la localidad de La Crucita.....	16
Figura 7. Variaciones en las concentraciones de metalotioninas en los tejidos del bivalvo <i>Lima scabra</i> (hepatopáncreas, músculo, manto, resto y branquias) en la localidad de Las Minas.....	17
Figura 8. Representación gráfica de los resultados del índice ARN/ADN en los ejemplares de <i>Lima scabra</i> de las localidades de La Crucita y Las Minas.	17

RESUMEN

Se analizaron los niveles de metales pesados, metalotioninas y tasa de crecimiento (ARN/ADN) en ejemplares hembras del bivalvo *Lima scabra* en las localidades de La Crucita y Las Minas en la Isla de Cubagua, estado Nueva Esparta. La localidad de Las Minas está caracterizada por la presencia visible de escapes de gas e hidrocarburos mientras que, la segunda zona (La Crucita), se encuentra visiblemente libre de dicha actividad. Los ejemplares de *Lima scabra* fueron colectados manualmente a profundidades de 2 a 3 m, con tallas que oscilaron entre 4 a 10 cm de longitud. Los niveles de metales pesados se determinaron utilizando espectrofotometría de absorción atómica. Se evaluaron las concentraciones de cromo (Cr), hierro (Fe), níquel (Ni), plomo (Pb) y cadmio (Cd) en sedimentos y en los tejidos: hepatopáncreas (H), músculo (M), branquias (B), manto (Ma) y resto (R) ($\mu\text{g/g}$ peso seco) por espectrofotometría de absorción atómica, utilizando material de referencia certificado. Las metalotioninas (Mts) fueron cuantificadas en todos los tejidos y la relación (ARN/ADN), en el músculo abductor del bivalvo *Lima scabra*. Los datos para metales, Mts y relación ARN/ADN, fueron analizados estadísticamente por el test de Kruskal Wallis. En los sedimentos, se observaron diferencias estadísticamente significativas para todos los metales analizados (Cr, Fe, Ni, Pb y Cd) en ambas localidades ($P < 0,001$), encontrándose en el análisis de metales totales para los tejidos, diferencias significativas para Cr ($K_w = 10,874$; $P < 0,001$) y Cd ($K_w = 24,408$; $P < 0,001$); siendo la concentración de Cr mayor en Las Minas y la de Cd mayor en La Crucita. Las concentraciones de Mts totales, no mostraron variaciones significativas ($P > 0,05$) entre las dos localidades, aunque con respecto a los tejidos, se presentaron diferencias en la Crucita ($P = 0,001$), con un máximo promedio en el R y en Las Minas ($P < 0,001$) con un máximo en el R, mientras que para la relación ARN/ADN, los resultados muestran que en este estudio no se evidenciaron diferencias significativas, lo cual sugiere que la condición fisiológica del organismo es similar en ambas localidades y no es afectada por la presencia de metales.

INTRODUCCIÓN

La degradación de los ecosistemas acuáticos, ocasionada por factores químicos, físicos y biológicos, repercute tarde o temprano en la calidad de vida de la población, ya sea directamente en la salud o por un deterioro del paisaje, disminución de espacios para recreación, o simplemente mermando el potencial productivo de los recursos disponibles. En los últimos años, se han llevado a cabo muchos estudios sobre contaminación del medio marino; numerosas especies de invertebrados y vertebrados han sido objeto de investigaciones relacionadas con el impacto ambiental producido por la presencia de metales pesados en el medio (Phillips y Raibow, 1997; Gómez y cols., 1998; Salazar y Reyes, 2000; Langston y cols., 2002; Martínez, 2002; Rojas y cols., 2009; Lemus y cols., 2010).

Los metales pesados son constituyentes naturales del agua de mar, y provienen principalmente de la erosión de las rocas, vulcanismo e hidrotermalismo. Los elementos metálicos interrelacionan con el medio ambiente, mediante un balance conocido como ciclo biogeoquímico natural. Sin embargo, la industrialización y el crecimiento demográfico, han provocado un aumento de metales a través de los efluentes municipales e industriales, actividades petroleras y drenajes provenientes de actividades mineras. Estas descargas constituyen un serio problema, debido a que estos elementos pueden ser incorporados con relativa facilidad por la biota acuática, produciendo efectos adversos sobre los ecosistemas (Bradly y Morris, 1993; Sawyer y McCarty, 2001; Almeida y cols., 2003).

Los metales más peligrosos para la salud de los constituyentes bióticos, de los ecosistemas marinos y del ser humano, son el plomo, mercurio, cadmio y arsénico (Valdés, 1999). Ellos se encuentran naturalmente en el suelo en cantidades mínimas. Sin embargo, cuando están concentrados en ciertas áreas, constituyen un serio peligro. El arsénico y el cadmio, por ejemplo, pueden causar cáncer. El mercurio, el cobre y el plomo pueden causar mutaciones, daños genéticos, lesiones cerebrales y óseas; mientras que el hierro, cuando se acumula en exceso en órganos como, corazón, hígado, articulaciones, páncreas y glándula pituitaria, puede llevar a ataques cardíacos, diabetes, cáncer de hígado, artritis, entre

otras. Por su parte, el níquel, se ha encontrado como contaminante de alimentos procesados (gelatina); presentándose naturalmente, concentraciones relativamente mayores de este metal en vegetales, legumbres (Sawyer y McCarty, 2001).

Los organismos marinos ingieren los metales a partir del alimento y/o del agua, acumulándolos en altas concentraciones en los tejidos del cuerpo. Su acumulación es un proceso complejo donde intervienen una serie de mecanismos internos, los cuales juegan un papel determinante, tales como: la talla de los organismos, la composición bioquímica, los factores genéticos y los ciclos de desove que afectan la condición y peso; y entre los factores externos más importantes se encuentran: la biodisponibilidad del metal, la temperatura y la salinidad (Capó, 2002; Gil y cols., 2006).

La selección de especies modelos como organismos biomonitores y predictores de contaminación ambiental, es fundamental en los estudios y programas de manejo preventivo de los ecosistemas. Los bivalvos han sido ampliamente utilizados para evaluar la calidad ambiental de los ecosistemas acuáticos, por su capacidad de bioacumular en sus tejidos los contaminantes presentes en el medio. Además, su carácter sésil y filtrador es de gran utilidad para revelar los eventos que ocurren en áreas donde habitan (Narváez y cols., 2005).

Los bivalvos, como los mejillones y ostras, no son capaces de regular, con éxito, las concentraciones de metales pesados, pudiendo pasar estos directamente al ser humano por ingesta. De allí que se deban tomar precauciones extremas para el consumo humano en zonas sujetas a altos niveles de contaminación (Krauskopf y Bird, 1995; Harper y cols., 2006).

La tolerancia y adaptabilidad de algunos bivalvos en los ecosistemas y bajo condiciones controladas, ha permitido que sean organismos modelos para el monitoreo de contaminantes e indicadores de la calidad de los ecosistemas. Los bivalvos, como filtradores y algunos gasterópodos, responden ante la presencia de xenobióticos en el cuerpo de agua (Conti y Cecchetti, 2003).

Los bivalvos utilizan estrategias metabólicas que inactivan fisiológicamente a los metales trazas no esenciales, al inmovilizarlos en el caparazón y/o precipitarlos en forma de gránulos en tejidos internos (hepatopáncreas y branquias), y para metabolizar los metales esenciales, emplean la biosíntesis de metalotioninas, que son específicas de los tejidos y dependientes de las fuentes de exposición (agua o alimento), lo que está relacionado con la capacidad específica de excretarlos y balancear su elevada incorporación (Cruz y Fu-Lin, 2002).

La evaluación de respuestas fisiológicas y bioquímicas de organismos marinos expuestos a xenobióticos y particularmente a metales pesados, ha sido ampliamente estudiada. Las proteínas llamadas metalotioninas (Mts) han sido propuestas como un indicador biológico de contaminación por metales en ecosistemas acuáticos (Hylland y cols., 1998; Langston y cols., 2002; Lemus y cols., 2010).

Las Mts fueron descubiertas por Margoches y Vallee en el año 1957, cuando fueron aisladas de la corteza renal de los equinos. Estas son proteínas conjugadas de baja masa molar, capaces de enlazarse con una variedad de metales. La coordinación exhibida por los metales y la proteína, la estructura química de las Mts y la falta de similitud con otras moléculas biológicas de los organismos, hace suponer que estas metaloproteínas constituyen biomoléculas con características únicas en los sistemas biológicos (Brambila y cols., 1999).

Las Mts constituyen un grupo de proteínas ampliamente distribuidas en los organismos. En los mamíferos, están presentes en todos los tejidos, exhibiendo su mayor concentración en hígado, riñón, páncreas e intestino. A nivel celular, las Mts están localizadas principalmente en el citoplasma; sin embargo, algunos estudios han demostrado su presencia en el interior de los lisosomas y en el núcleo celular. Se caracterizan por tener un alto contenido de grupos sulfhidrilo provenientes de los aminoácidos cisternas, capaces de unir metales esenciales y no esenciales. Varios metales, así como una gran cantidad de factores fisiológicos y patológicos inducen la síntesis de estas proteínas. En la actualidad, se ha postulado que estas moléculas pueden tener un papel importante en los procesos de detoxificación de metales

pesados como el cadmio (Cd), regulación del metabolismo del zinc (Zn) y el cobre (Cu), estabilización de membranas celulares, activación de apoenzimas, captura y eliminación de radicales libres, así como en la modulación de la expresión de algunos genes (Brambila y cols., 1999). Dependiendo del metal presente en la molécula de las Mts, éstas pueden desempeñar más de una función. Los iones metálicos Cd, Cu y Zn, observados “naturalmente” en estas proteínas, interaccionan dependiendo de las funciones biológicas de los organismos. El Cd es altamente tóxico y no es un metal esencial. El Cu, a pesar de su elevada toxicidad, a altas concentraciones, es requerido como un cofactor para la actividad de algunas enzimas. El Zn es un metal esencial, relativamente no tóxico, con importantes funciones de estabilización estructural en múltiples proteínas y es cofactor de una gran cantidad de enzimas relacionadas con la mayoría de los procesos metabólicos. Las Mts también son capaces de fijar otros metales no esenciales, como cromo (Cr) y níquel (Ni), entre otros (Brambila y cols., 1999; Reyes y cols., 2001).

Los organismos marinos, cuando están expuestos a metales pesados o a xenobióticos, activan rutas de metabolización y detoxificación que ameritan un gasto energético, por lo que en muchas ocasiones el metabolismo basal es afectado. El crecimiento o la condición fisiológica puede ser mermado a objeto de compensar el efecto tóxico de sustancias extrañas en su entorno, trayendo como consecuencia, cambios en su reproducción y crecimiento (Gil y cols., 2003; Lemus y Chung, 2006).

Los cambios en el metabolismo que se efectúan en el interior de un organismo durante situaciones estresantes han sido examinados mediante el contenido de ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN) y la relación ARN/ADN, mostrando ser este último un índice estático adecuado para establecer la condición fisiológica de los organismos en un determinado momento (Shcherrban, 1992; Moss, 1994; Lodeiros y cols., 1999; Acosta y Lodeiros, 2001).

El molusco de fuego *Lima (Ctenoides) scabra* (Born, 1778) es una especie con un atractivo color rojo, debido a la gran acumulación de carotenos, los cuales,

conjuntamente con sus tentáculos normalmente extendidos y una bella concha, puede llegar a medir unos 4-8 cm. Esta especie se alimenta mediante filtración del fitoplancton de los mares (Lodeiros y Freites, 2008).

Aunque la biomasa de esta especie puede ser relativamente alta (11,3 de masa seca/m², en el golfo de Cariaco), no es muy adecuado para la explotación comercial, debido a la dificultad en la recolección desde los hábitats de corales (Lodeiros y Freites, 2008).

Numerosos estudios sobre toxicidad se han llevado a cabo en diversas especies de crustáceos, moluscos y gasterópodos. No obstante, en el bivalvo *Lima scabra* son muy pocas las investigaciones que se han realizado. En el presente trabajo, los ejemplares de dicho organismo, fueron colectados en las profundidades de la isla de Cubagua, Estado Nueva Esparta, a fin de determinar los niveles de algunos metales pesados como, cadmio (Cd), cromo (Cr), plomo (Pb), níquel (Ni) y hierro (Fe), metalotioninas (Mts) y relación ARN/ADN.

Numerosos estudios sobre toxicidad se han llevado a cabo en diversas especies de crustáceos, moluscos y gasterópodos. No obstante, en el bivalvo *Lima scabra* son muy pocas las investigaciones que se han realizado. En el presente trabajo, los ejemplares de dicho organismo, fueron colectados en las profundidades de la isla de Cubagua, Estado Nueva Esparta, a fin de determinar los niveles de algunos metales pesados como, cadmio (Cd), cromo (Cr), plomo (Pb), níquel (Ni) y hierro (Fe), metalotioninas (Mts) y relación ARN/ADN.

METODOLOGÍA

Área de Estudio

Se realizó un único muestreo en el mes de julio del año 2009, donde fueron colectados ejemplares hembras del bivalvo *Lima scabra*, en las localidades de Las Minas, ubicada al este de la Isla de Cubagua y La Crucita, ubicada al oeste de dicha Isla (Figura 1) $10^{\circ} 18' 79''$ N, $64^{\circ} 26' 81''$ O. La captura de los organismos se realizó mediante buceo, a una profundidad de 2 a 3 m; luego los ejemplares fueron colocados en una cava para ser trasladados al laboratorio de Ecofisiología y Ecotoxicología del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente (IOV-UDO), con el objeto de determinar los parámetros morfométricos de los organismos (Ruíz y cols., 2007).

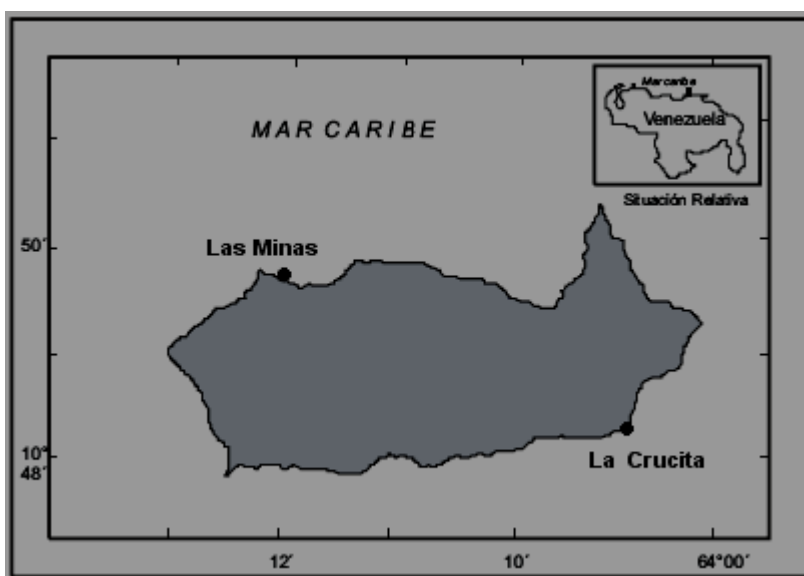


Figura 1. Mapa de la Isla Cubagua donde se señalan las localidades estudiadas (La Crucita y Las Minas)

Recolección del Sedimento

Se recolectaron muestras de sedimentos superficiales en toda la extensión de cada una de las localidades estudiadas (La Crucita y Las Minas), con nucleadores de plástico de 20 cm de largo y 6,5 cm de diámetro. Para evitar posible contaminación y alteración de los

resultados, las muestras de sedimentos colectadas fueron colocadas en envases secos de poliestireno previamente lavados con ácido nítrico (HNO_3) al 10% y abundante agua desionizada. Luego, se transportaron bajo refrigeración utilizando una cava con hielo, al laboratorio de ambientes acuáticos del Centro de Investigaciones de Guayacán, de la Universidad de Oriente. Las muestras se preservaron bajo congelación a -20°C , hasta la realización de los análisis. Luego se tomó 1 g de sedimento de la fracción, se sometió a digestión con 20 ml de ácido acético 10%, manteniéndose en agitación por 4 h a temperatura ambiente. Posteriormente, las muestras se filtraron con papel Whatman N° 42, reteniendo el filtrado en balones aforados y completados hasta 25 ml con agua desionizada. La extracción de los metales se realizó en muestras de sedimentos totales (Villegas y cols., 1998).

Muestras de tejidos

Los tejidos: hepatopáncreas, músculo, branquias, manto y resto de cada bivalvo ($n=19$), fueron extraídos de la concha para ser pesados y secados en una estufa, a 60°C durante 48 horas o hasta peso constante; luego, las muestras fueron colocadas en envases de plástico para realizar el proceso de digestión. Las muestras de tejido fueron tratadas con 4 ml de una mezcla de ácido nítrico concentrado y ácido clorhídrico concentrado a una proporción 1:1, se sometieron a predigestión durante la noche y seguidamente fueron digeridas a una temperatura de 60°C durante 4 horas en baño de María. Las muestras digeridas fueron enrasadas hasta un volumen de 25 ml con agua desionizada, previa filtración con papel Whatman N° 1 (Villegas y cols., 1998).

Análisis de metales

Las muestras de sedimentos y tejidos, fueron analizadas en el laboratorio de Oceanografía del IOV-UDO, en un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin Elmer, modelo 3110), siguiendo el procedimiento propuesto por la Agencia de Protección Ambiental (EPA). Las determinaciones de Cd, Cr, Pb, Ni y Fe, se realizaron con llama de aire-acetileno y lámpara correctora de deuterio con las siguientes longitudes de onda: 228,8; 206,1; 283,3;

232,2 y 259,9 nm, respectivamente. Se utilizaron los estándares certificados de materiales de referencia de las marcas comerciales TORT-2 y DORM-2, para el control de calidad de metales pesados. Los resultados se expresaron en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso húmedo (Acosta y Lodeiros., 2004)

Determinación de Metalotioninas (Mts)

La cuantificación de metalotioninas se realizó empleando la metodología propuesta por Viarengo y cols. (1997). Este método consiste en determinar la concentración de metalotioninas presentes en una fracción de metaloproteínas purificadas parcialmente del extracto del tejido, precipitadas con una mezcla cloroformo/etanol acidificado, en presencia de agentes reductores y antiproteolíticos. En el extracto, las metalotioninas son desnaturalizadas por acidificación y aumento de fuerza iónica del medio y cuantificadas por el método de Ellman (1958). El tejido fue homogeneizado en 1g/3ml de solución amortiguadora Tris-HCl 20,00 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$, pH 8,6, leupectina 6,00 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, benzyl-sulfonil fluoruro (PMSF) 0,50 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$, ditionitroetanol 2,00 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ y β mercaptoetanol al 0,01% v/v. El homogeneizado se centrifugó a 3 000 rpm por 20 minutos. Al sobrenadante se le adicionó 1,5 ml de etanol frío (-20°C) y 80 μl de cloroformo y luego, fue centrifugado a 6 000 rpm. por 10 minutos manteniendo la temperatura entre 0 y 4°C . El sobrenadante resultante se mezcló con 1 mg de ARN, 40 μl de ácido clorhídrico (HCl) al 37% y 3,0 ml de etanol frío (concentración final de 87%) y fue mantenido a -20°C por una hora. Una nueva centrifugación fue realizada a 6 000 rpm, por 10 minutos. El precipitado obtenido fue resuspendido con etanol 87%, cloroformo 1% y solución amortiguadora de homogeneización, y posteriormente se centrifugó a 6 000 rpm por 10 minutos. El precipitado fue mezclado con 150 μl de cloruro de sodio (NaCl) 0,25 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, 150 μl de HCl 1,00 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ y ácido etilendiaminotetracético (EDTA) 4,00 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$; luego, se agregó a las muestras una solución preparada de 4,2 ml de NaCl 2,00 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, ácido ditionitrobenzoico (DTNB) 0,40 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ buffer fosfato de sodio 200,00 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ a pH 8. La mezcla de reacción se incubó a temperatura ambiente y protegida de la luz durante 30 minutos, luego, fue centrifugada a 3 000 rpm por 15 minutos y se leyó la absorbancia a

412 nm en un espectrofotómetro UV/VIS Luda 2S Perkin-Elmer. La concentración de grupos sulfridrilos (-SH) fue estimada utilizando la curva patrón de glutatión reducido (GSH).

Los cálculos de las concentraciones de Mts, se realizaron utilizando una curva de calibración de glutatión reducido con las concentraciones desde 5 hasta 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{ml}^{-1}$. Para obtener las concentraciones de Mts, se partió desde la siguiente igualdad: 1 mmol GSH = 0,055 mmol.l⁻¹ de Mts. Las concentraciones de metalotioninas fueron expresadas en μg de Mts.mg⁻¹ de proteínas totales (Gruber y Valle, 2000).

Determinación de Proteínas Totales

A 100 μl del sobrenadante de cada uno de los tejidos, se le adicionaron 5 ml de reactivo de Bradford (100 mg de azul de Coomassie se disolvieron en 50 ml de etanol al 95%, adicionando 100 ml de ácido fosfórico y llevando a un volumen de 1000 ml con agua desionizada). Después de 5 minutos se midió la absorbancia a 400 nm en un espectrofotómetro UV/VIS Perkin-Elmer. Posteriormente la absorbancia fue interpolada en una curva de calibración de albúmina sérica bovina (Bradford 1976).

Determinación de la relación (ARN/ADN)

Se colocaron 20 mg de tejido muscular en un vial de 1,5 ml de capacidad. Este tejido fue picado con una tijera y se añadieron 100 μl de sarcosina al 1% p/v para realizar la digestión y se dejaron reposar durante 1 hora. Se mezclaron vigorosamente las muestras tres veces durante este intervalo de tiempo para romper el tejido. Después se le añadieron 900 μl de solución amortiguadora Tris 50 mmol, EDTA 0,5 mmol, pH 7,5, a cada tubo; una vez añadido el buffer se centrifugaron a 2 500 rpm, por 15 minutos (Karsten y Wollenberger, 1972).

Para la cuantificación de los ácidos nucleicos, a cada muestra por duplicado, se le colocó alícuotas de 100 μl del sobrenadante en tubos de borosilicato y se añadieron 400 μl de la solución amortiguadora y 500 μl de solución de bromuro de etidio para determinar ARN

y para determinar ADN se les añadieron 500 µl del reactivo de Hoechst. A continuación, se realizaron las lecturas a longitudes de onda de 490 nm, en un fluorómetro modelo 40 Sequeoia-Turner y para la estimación, por extrapolación de las concentraciones se establecieron curvas patrones para el ARN y el ADN, empleando diluciones seriadas de 250 µl cada vez de un estándar de ADN. Para esto se tomaron 200 µl de la solución estándar de ARN y ADN y se colocaron en un tubo de borosilicato, el cual contenía previamente 300 µl de solución amortiguadora Tris-EDTA y a partir del cual se realizaron diluciones seriadas de 250 µl (Karsten y Wollenberger, 1972).

Análisis estadístico

Se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, para determinar si existían diferencias entre las concentraciones de metales en sedimento de ambas localidades y para establecer si se hallaron diferencias entre la incorporación de metales en los tejidos y las localidades. Esta misma prueba fue aplicada a los niveles de metalotioninas (Mts) en los tejidos de los organismos de ambas localidades y para la relación ARN/ADN. Estos datos se visualizaron gráficamente con el método de Box and Whisker (Boyer y cols., 2000) y una matriz de correlación, empleándose para ello el paquete estadístico Statgraphics-Plus 4.1. Finalmente, se determinó si existía asociación entre los niveles de Mts y los niveles de metales presentes en los tejidos analizados (Sokal y Rohlf, 1981).

RESULTADOS

Metales en los sedimentos

Las concentraciones de los metales pesados, obtenidas en ambas localidades muestran la calidad ambiental de cada una de estas; exhibiendo niveles que se encuentran dentro de los límites naturales para ecosistemas marinos (Figura 2). La prueba de Kruskal Wallis (Kw) mostró diferencias estadísticamente significativas en todos los metales analizados (Cr, Fe, Ni, Pb y Cd), respectivamente (Kw= 11,344; P< 0,001; Kw= 11,310; P< 0,001; Kw= 6,154; P< 0,05; Kw= 11,394; P< 0,001 y Kw= 11,377; P< 0,001).

Metales en *Lima scabra* de las localidades de La Crucita y Las Minas

Los niveles de metales en tejidos de *L. scabra* provenientes de dos localidades de la Isla de Cubagua, Estado Nueva Esparta, mostraron diferencias significativas en relación al Cr y Cd, siendo el primero mayor en Las Minas y el segundo en La Crucita (Tabla 1).

Tabla 1. Niveles de metales totales en tejidos de *Lima scabra* pertenecientes a las localidades estudiadas.

Localidad	Cr	Fe	Ni	Pb	Cd
La Crucita (N=9)	0,272 ± 0,264 R= 0-1,344	41,447 ± 48,662 R= 0-151,946	0,872 ± 0,707 R= 0-3,506	0,280 ± 0,361 R= 0-1,456	0,610 ± 0,421 R= 0-1,990
Las Minas (N=10)	0,501 ± 0,397 R= 0-1,778	32,696 ± 38,453 R= 3,669-138,906	1,242 ± 2,390 R= 0-15,766	0,195 ± 0,290 R= 0-1,257	0,285 ± 0,295 R= 0,05-1,482
Kw	Kw= 10,874	Kw= 0,897	Kw= 0,683	Kw= 1,543	Kw= 24,408
P	P< 0,001***	Ns	Ns	Ns	P< 0,001***

N: número de organismos; Kw: Kruskal Wallis; P: probabilidad; R: rango; Cr: cromo; Fe: hierro; Ni: níquel; Pb; plomo; Cd: cadmio; Ns: No significativo (P> 0,05); *** altamente significativo (P< 0,001).

En la localidad de La Crucita, metales como el Cr, Fe, Pb y Cd presentaron diferencias altamente significativas entre todos los tejidos analizados (Kw= 19,081; P< 0,001; Kw= 19,765; P< 0,001; Kw= 20,213; P< 0,001 y Kw= 24,447; P< 0,0001, respectivamente), obteniéndose los máximos valores promedios en el resto (R) de cada metal (0,440 ± 0,206 µg.g⁻¹; 120,118 ± 47,456; 0,682 ± 0,521 y 1,104 ± 0,596 µg.g⁻¹). En cuanto al Ni,

éste presentó diferencias significativas ($K_w= 18,771$; $P< 0,001$), con un máximo valor promedio en el manto (Ma) de $1,070 \pm 1,001 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

En la localidad de Las Minas, el Fe y el Cd presentaron diferencias altamente significativas entre los tejidos analizados ($K_w= 20,784$; $P< 0,001$; $K_w= 22,396$; $P<0,001$ y $K_w= 25,964$; $P< 0,001$), pero con un máximo promedio en el resto ($83,703 \pm 41,635$ y $0,749 \pm 0,384 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). El Ni presentó diferencias significativas en todos los tejidos ($K_w= 22,3962$; $P< 0,001$), con un máximo valor promedio en el músculo ($2,030 \pm 4,845 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Con respecto al Cr y al Pb, el análisis estadístico no arrojó diferencias significativas entre los diferentes tejidos evaluados ($K_w= 3,113$; $P> 0,05$ y $K_w=8,235$; $P> 0,05$).

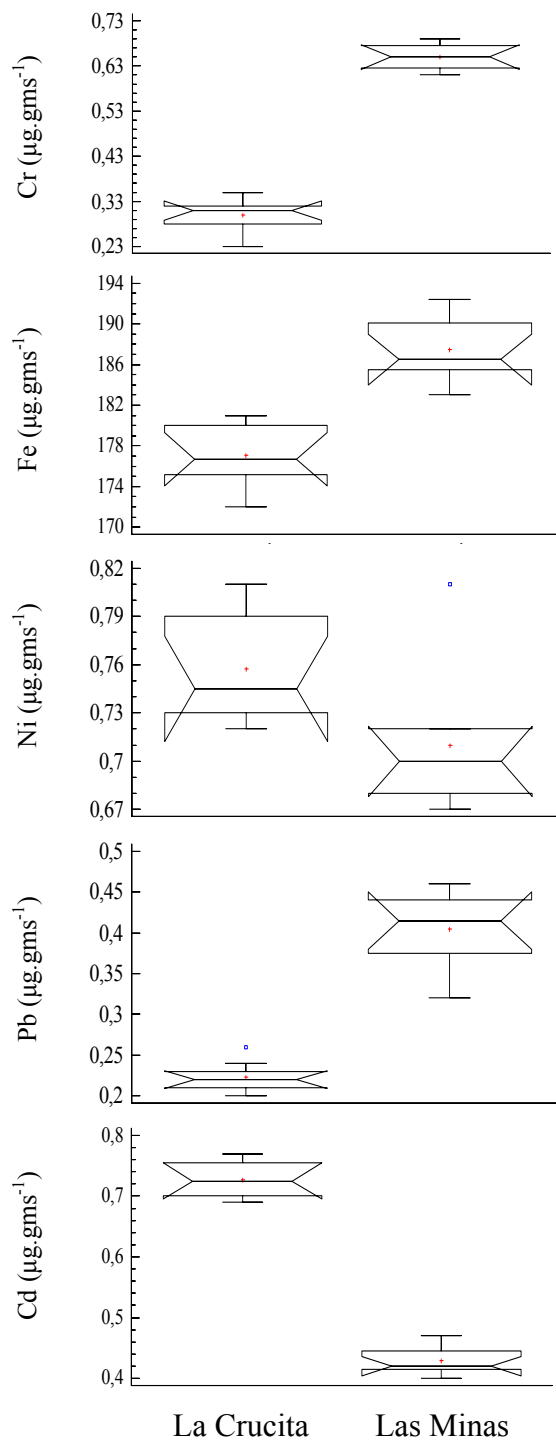


Figura 2. Variaciones en las concentraciones de metales en sedimento de las dos localidades (La Crucita y Las Minas). (Abreviaciones: Kw: Análisis de Kruskal Wallis, cromo (Cr) Kw= 11,344; P= 0,0007; hierro (Fe) Kw= 11,310; P= 0,0007; níquel (Ni) Kw= 6,154; P= 0,013; plomo (Pb) Kw= 11,394; P= 0,0007 y cadmio (Cd) Kw= 11,377; P= 0,0007).

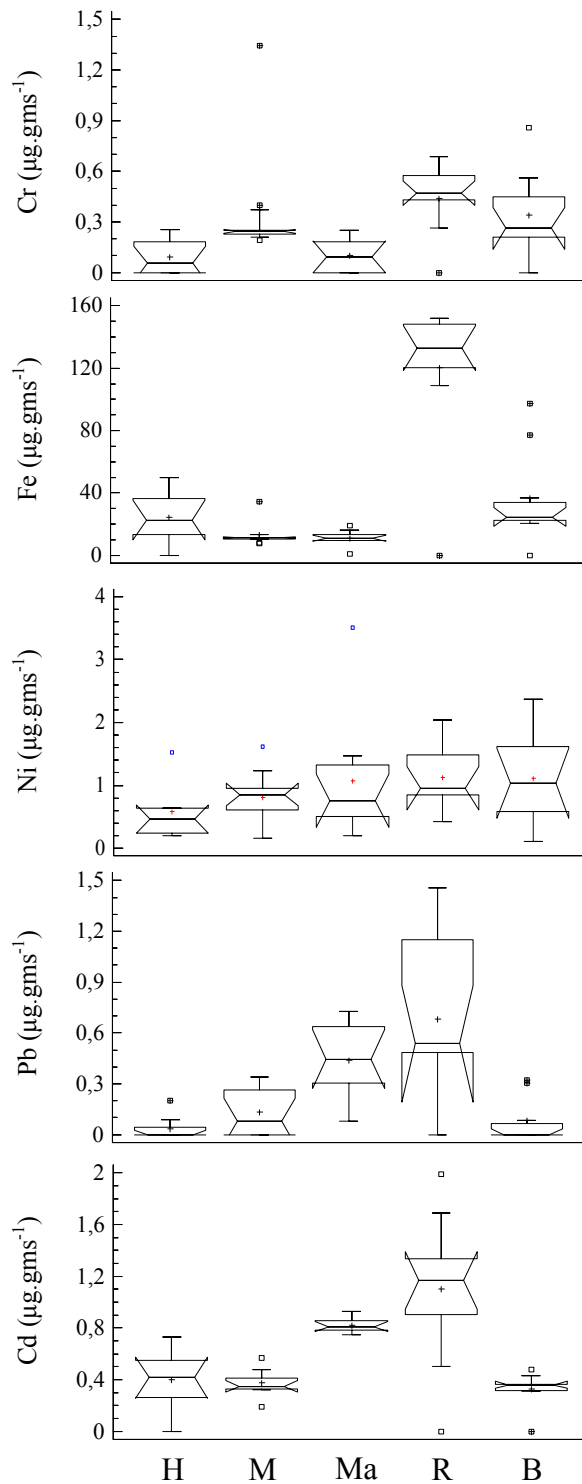


Figura 3. Variaciones en las concentraciones de metales pesados en los tejidos (hepatopáncreas, músculo, manto, resto y, branquias) del bivalvo *Lima scabra* en la localidad de La Crucita. (Abreviaciones: Kw: Análisis de Kruskal Wallis, cromo (Cr) Kw= 19,081, P= 0,0007; hierro (Fe) Kw= 19,766, P= 0,0005; níquel (Ni) Kw= 18,771, P= 0,0008; plomo (Pb) Kw= 20,213, P= 0,0004 y cadmio (Cd) Kw= 24,447, P= 0,00006).

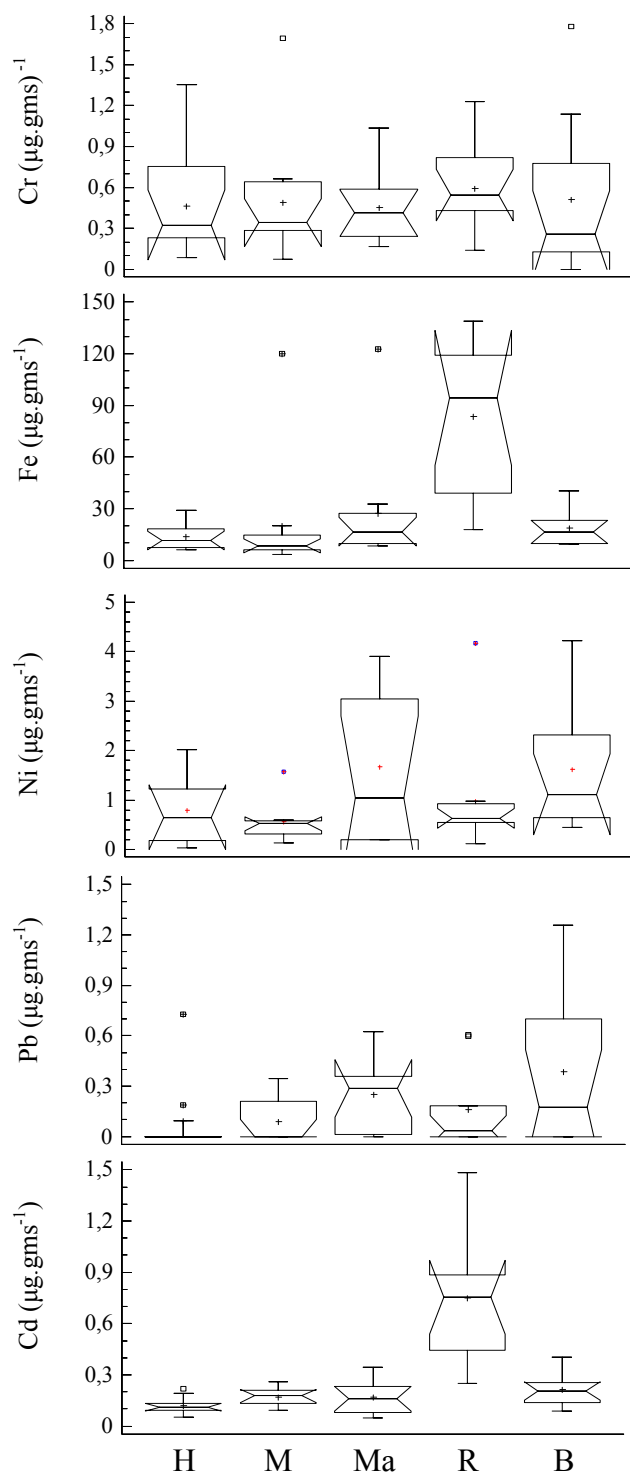


Figura 4. Variaciones en las concentraciones de metales pesados en los tejidos (hepatopáncreas, músculo, manto, resto y, branquias) del bivalvo *Lima scabra* en la localidad de Las Minas. (Abreviaciones: Kw: Análisis de Kruskal Wallis, cromo (Cr) Kw= 3,113, P= 0,539; hierro (Fe) Kw= 20,7849, P= 0,0003; níquel (Ni) Kw= 22,396, P= 0,0001; plomo (Pb) Kw= 8,235, P= 0,0833 y cadmio (Cd) Kw= 25,964, P= 0,00003).

Metalotioninas totales en *Lima scabra* en las localidades estudiadas

Las concentraciones de Mts totales, obtenidas en ambas localidades no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($K_w = 0,786$; $P > 0,05$).

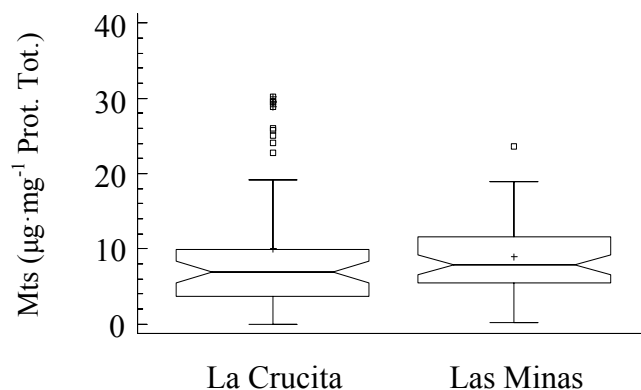


Figura 5. Variaciones en las concentraciones de metalotioninas en las dos localidades (La Crucita y Las Minas).

Metalotioninas en *Lima scabra* en los tejidos en la localidad de La Crucita.

En los análisis de tejidos se encontraron diferencias muy significativas en las concentraciones de Mts ($K_w = 17,944$; $P = 0,001$), con un máximo promedio determinado en el resto (R) de $25,700 \pm 3,660 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$, presentando el hepatopáncreas (H) y el músculo (M) concentraciones similares ($10,609 \pm 8,70$ y $9,800 \pm 6,385 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$), hallándose los promedios más bajos en las branquias (B) y el manto (Ma), respectivamente ($4,782 \pm 2,420$ y $4,348 \pm 1,608 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

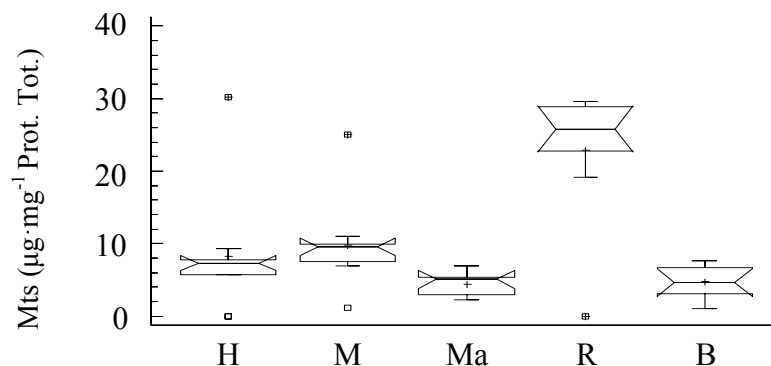


Figura 6. Variaciones en las concentraciones de metalotioninas en los tejidos del bivalvo *Lima scabra* (hepatopáncreas, músculo, manto, resto y branquias) en la localidad de La Crucita.

Metalotioninas en *Lima scabra* en los tejidos en la localidad de Las Minas.

En los análisis de tejidos del bivalvo *Lima scabra*, se encontraron diferencias altamente significativas en las concentraciones de Mts (Kw= 22,3962; P< 0,001), determinandose en el hepatopáncreas (H) y en el resto (R) valores promedios similares ($12,499 \pm 3,785$ y $12,297 \pm 5,627 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$), exhibiendo las branquias (B) y el músculo (M) concentraciones al igual que los tejidos anteriores, muy similares ($7,604 \pm 3,031$ y $7,266 \pm 3,190 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$). Encontrándose el menor promedio en el manto (Ma) de $5,346 \pm 3,738 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$.

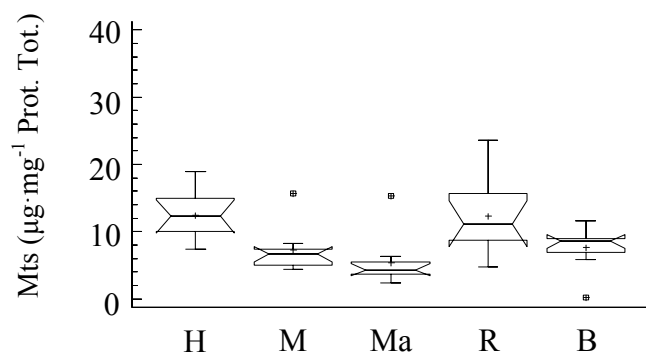


Figura 7. Variaciones en las concentraciones de metalotioninas en los tejidos del bivalvo *Lima scabra* (hepatopáncreas, músculo, manto, resto y branquias) en la localidad de Las Minas.

Relación ARN/ADN en *Lima scabra* en las localidades estudiadas

En la localidad de La Crucita se observó un promedio de $2,510 \pm 0,430$, mientras que en la localidad Las Minas fue de $2,500 \pm 0,490$. El crecimiento bioquímico no presentó variaciones significativas entre las dos localidades estudiadas (Kw= 0,00052; P> 0,05) en los ejemplares de *Lima scabra*.

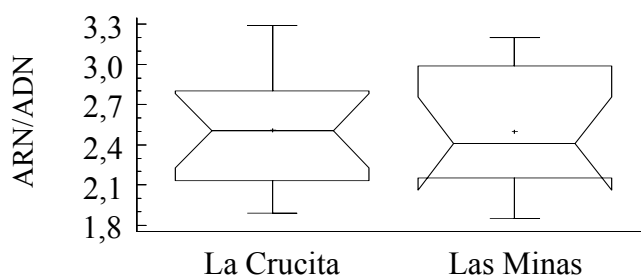


Figura 8. Representación gráfica de los resultados del índice ARN/ADN en los ejemplares de *Lima scabra* de las localidades de La Crucita y Las Minas.

En la tabla 2 se muestra el análisis de correlación entre las concentraciones de metales y las Mts asociadas a los diferentes tejidos del bivalvo *Lima scabra*. En la misma se puede apreciar la relación existente entre las Mts del H con los niveles de Cr, las Mts del M con los niveles de Pb y las Mts del R con los niveles de Fe, Pb, Ni y Cd presentes en las dos localidades estudiadas. No apreciándose relación alguna entre las Mts de tejidos como, las branquias y el manto con ninguno de los metales evaluados.

Tabla 2. Análisis de correlación entre la concentración de metales pesados de los tejidos (hepatopáncreas, músculo, branquias, manto y resto) del bivalvo *Lima scabra* de las dos localidades de la Isla de Cubagua, estado Nueva Esparta, Venezuela y el contenido de metalotioninas (Mts).

R (Correlación) P (Probabilidad)	Cd	Cr	Fe	Pb	Ni
Mts H	0,004 0,985 Ns	0,642 0,006*	0,353 0,133 Ns	0,292 0,214 Ns	0,389 0,098 Ns
Mts M	0,428 0,069 Ns	0,007 0,976 Ns	0,071 0,760 Ns	0,515 0,028*	0,057 0,806 Ns
Mts B	-0,090 0,701 Ns	0,190 0,419 Ns	0,258 0,2720 Ns	0,089 0,705 Ns	0,135 0,566 Ns
Mts Ma	0,012 0,958 Ns	0,321 0,172 Ns	0,059 0,800 Ns	0,001 0,994 Ns	0,065 0,780 Ns
Mts R	0,557 0,017*	0,170 0,470 Ns	0,752 0,001*	0,530 0,024*	0,645 0,006*

R: correlación; P: probabilidad; Mts: Metalotioninas; H: hepatopáncreas; M: músculo; B: branquias; Ma: manto; R: resto; Cd: cadmio; Cr: cromo; Fe: hierro; Pb: plomo; Ni: níquel; Ns: No significativo ($P > 0,05$); *significativo ($P < 0,05$).

DISCUSIÓN

Uno de los principales problemas al interpretar los resultados e indicar si un sedimento está contaminado en Venezuela, es que se carece de normativas legales que señalen valores considerados como contaminantes para los sedimentos fluviales y marinos, especialmente en la zona costera. Sumado a esto, no existen criterios claros que permitan establecer la contaminación por metales pesados de un sedimento, porque la composición de los sedimentos puede ser muy variada, dependiendo de la roca madre, de la granulometría, del contenido en materia orgánica, entre otros. En tal sentido, las comparaciones tienen que realizarse mediante valores reportados por autores en zonas que, inclusive, tienen características geomorfológicas diferentes a las encontradas en el país.

Las concentraciones determinadas en todos los metales analizados en el sedimento oscilaron, en orden decreciente, de la siguiente manera: en La Crucita, Fe ($177,100 \mu\text{g.g}^{-1}$) > Ni ($0,757 \mu\text{g.g}^{-1}$) > Cd ($0,727 \mu\text{g.g}^{-1}$) > Cr ($0,300 \mu\text{g.g}^{-1}$) > Pb ($0,222 \mu\text{g.g}^{-1}$); mientras que en Las Minas, Fe ($187,450 \mu\text{g.g}^{-1}$) > Ni ($0,710 \mu\text{g.g}^{-1}$) > Cr ($0,650 \mu\text{g.g}^{-1}$) > Cd ($0,428 \mu\text{g.g}^{-1}$) > Pb ($0,405 \mu\text{g.g}^{-1}$) respectivamente, los cuales no sobrepasan los niveles considerados como contaminantes de acuerdo a lo señalado por Sadiq, 1992.

El Fe estuvo presente en los sedimentos de ambas zonas por ser un macro elemento de naturaleza conservativa que existe habitualmente en los sedimentos en altas concentraciones y es afectado mínimamente por influencias antropogénicas (White y Tittle-Baum, 1985), obteniéndose un promedio máximo de este metal en la localidad de Las Minas. En ese mismo orden, el Ni registró diferencias significativas en las zonas de estudio, con un máximo en La Crucita que no sobrepasa el valor para sedimento no contaminado dado por Sadiq, 1992 ($10,000 \mu\text{g.g}^{-1}$); este elemento es común en la corteza terrestre y su entrada al medio acuático se produce por escorrentía superficial y por descarga directa de residuos industriales, así como por la erosión de suelos y rocas en el medio marino, donde se presenta en el sedimento como sales solubles absorbidas en las partículas de arcilla o materia orgánica (Martínez y Senior, 2001).

En este caso, se presume que el Ni proviene de la materia orgánica acumulada en partículas finas de sedimento depositadas en el fondo del lecho marino, las cuales han sido arrastradas desde posibles yacimientos de hidrocarburos presentes en la zona, que al degradarse liberan cantidades de Ni (Bonilla y Lin, 1979).

El Cd presentó diferencias significativas, registrando un máximo promedio en la localidad de La Crucita, que aún así no excede el límite dado por Sadiq (1992) para sedimentos ($1,000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Este metal es considerado como el más biotóxico por los efectos que produce sobre la biota marina. Así mismo, los organismos que viven en la interfase agua-sedimento, absorben la mayor parte del cadmio directamente desde la columna de agua (Hare y cols., 2001). Su presencia en algunos sedimentos obedece, según un estudio realizado por Martínez (2002), principalmente a la descomposición de la materia orgánica relacionada con los efluentes de las industrias procesadoras de alimentos ubicadas en zonas cercanas, que liberan al medio una gran cantidad de materia orgánica, la cual tiende a disminuir la capacidad de depuración del medio alterando sus condiciones naturales y haciendo al metal más biodisponible. Otros estudios señalan que la liberación del metal al medio está muy ajustada a los picos de surgencia costera, que se presentan en esta zona. En esta investigación la presencia de Cd se debió a fuentes naturales (Gutiérrez-Galindo y cols., 1999; Acosta y Lodeiros 2004). El Cr registró su máxima concentración en la localidad de Las Minas, difiriendo significativamente con el valor determinado en La Crucita; con un valor de $0,650 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, el cual se encuentra muy por debajo de la concentración para sedimentos no contaminados, cuyo valor es de $20,000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, y podría estar asociado al flujo inducido por circulación permanente hacia la costa norte que transporta Cr de origen antrópico. Así como también podría asociarse a que el sedimento presente en esta área presenta una constitución mineralógica de Cr de origen litogénico. El Cr se encuentra principalmente como Cr^{3+} (cromo trivalente) y Cr^{6+} (cromo hexavalente), considerándose éste como la especie química más tóxica para los organismos acuáticos, debido a su poder oxidante; pero en las aguas naturales, bajo determinadas condiciones físicas y químicas, suele ocurrir interconversión entre las dos especies químicas (Sadiq, 1992; Pettine y cols., 1992; Martínez, 2002; Roling y cols., 2006). Finalmente, la concentración de Pb hallada en las

zonas de estudio se ubicó en niveles trazas, siendo en la localidad de Las Minas donde se registró el máximo valor ($0,405 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), que a su vez se encuentra muy por debajo de la concentración límite ($5,000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) dada por Sadiq, 1992.

La contaminación de los ecosistemas acuáticos por estos metales pesados constituye un grave problema ambiental, ya que en compuestos, representan algunas de las más peligrosas sustancias que se pueden bioacumular en un organismo (Tarifeno y Kawasaki, 1982). Los metales depositados en el medio acuático pueden acumularse en la cadena alimenticia, causar daño ecológico y poner en peligro la salud humana (USEPA, 1992; Zwieg y cols., 1999; Van Den Broek y cols., 2002).

Se ha manifestado que la incorporación de metales no esenciales al bivalvo está bajo el control de procesos o rutas metabólicas específicas de depuración y transformación dentro del organismo. Esta tendencia sugiere que en el caso particular de *Lima scabra*, la acumulación de metales pesados es proporcional a la concentración que exista en el medio circundante; hecho también observado en ejemplares de *Perna perna* anteriormente estudiados por Castillo y cols., (2005).

De los metales analizados, el Cr presentó la mayor concentración en el resto (R) de los organismos procedentes de La Crucita, con un valor de $0,440 \pm 0,206 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, que se aproxima al resultado obtenido por Tapia (2010) en *Ameghinomya antiqua* ($0,400 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) y por Márquez y cols., (2008) en *Cathorops spixii* y *Mugil gaimardianus* ($0,300 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y $0,260 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), respectivamente. Ambos resultados se encuentran dentro de los niveles establecidos por la FDA (Food and Drug Administration. Agencia de Alimentos y Medicamentos), para este tipo de moluscos con $13,000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Por su parte, los valores de este metal en los organismos de Las Minas no arrojaron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los tejidos (US FDA, 2001).

Metales como el Fe, el Pb y el Cd, exhibieron mayores concentraciones en el resto (R) de los organismos pertenecientes a ambas localidades. Las concentraciones de Fe en ambas zonas para

este tejido (La Crucita: $120,118 \pm 47,456 \mu\text{g.g}^{-1}$; y Las Minas: $83,703 \pm 41,635 \mu\text{g.g}^{-1}$), fueron superiores a los resultados presentados por Márquez y cols., (2008) en *Mugil curema* ($7,760 \mu\text{g.g}^{-1}$) y en *Centropomus undecimalis* ($30,270 \mu\text{g.g}^{-1}$). Las diferencias reveladas, probablemente se deban a que en los lugares de estudio de las referencias citadas, los ejemplares no se hallaban expuestos a altas concentraciones de Fe y otros metales (Usero y cols., 1996; Castillo y cols., 2005). El Fe se encuentra entre los metales esenciales para los seres vivos, debido a que interviene en una gran variedad de funciones biológicas y bioquímicas, entre ellas, la formación de hemoglobina; sin embargo, altas concentraciones en el ambiente pueden afectar de manera diferente el contenido de este metal en los tejidos. Las concentraciones de Fe determinadas en esta investigación no dan indicio de contaminación que altere la concentración de Fe en la especie estudiada y, por tanto, no supone riesgo alguno de tipo toxicológico.

El Pb exhibió su máxima concentración en el resto (R) de los organismos de La Crucita con un valor de $0,682 \pm 0,521 \mu\text{g.g}^{-1}$ que no supera el límite de referencia ($1,700 \mu\text{g.g}^{-1}$) establecido por la FDA, no representando por ende, un potencial peligro para la salud de los consumidores de moluscos. En el estudio de Tapia (2010) el valor obtenido para el Pb fue de $0,400 \mu\text{g.g}^{-1}$, en *Ameghinomya antiqua*. Este metal se acumula en los cuerpos de los organismos acuáticos, experimentando efectos en su salud por envenenamiento del mismo. De hecho, los crustáceos pueden verse seriamente afectados con pequeñas concentraciones (Demirak y cols., 2005; Dugo y cols., 2006); provocando problemas respiratorios, una baja habilidad para enfrentar las enfermedades, deformaciones, infertilidad, y formaciones tumorales (Alquezar y cols., 2005). Respecto a los ejemplares pertenecientes a la localidad de Las Minas no existieron diferencias significativas (Figura 3 y 4).

La Ley Orgánica del Ambiente señala para nuestro país, que metales pesados como el Pb, no deben ser detectables, tanto en este tipo de ambientes, como en los tejidos de los organismos marinos de consumo humano, por lo que los valores obtenidos de este metal en el presente trabajo no indican contaminación del área en estudio (Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela, 2006).

El Cd se acumuló en mayor concentración en el resto (R) de los organismos pertenecientes a las dos localidades (La Crucita: $1,104 \pm 0,596$; y Las Minas: $0,749 \pm 0,384 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), donde ambos niveles estuvieron dentro de los límites de referencia establecidos por la FDA ($4,000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) para dicho metal (Figura 3 y 4). Yebra y cols., (2000) determinaron el contenido de Cd en mejillones de los estuarios de Galicia, España, obteniendo un rango de valores situado entre $0,320$ y $1,120 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, similares a las concentraciones obtenidas para las dos zonas en el presente estudio. Los organismos que consumen Cd pueden tener la presión sanguínea alta, y lesiones en el hígado, los nervios y el cerebro. El Cd posee mejor capacidad para bioconcentrarse en tejidos y para que este metal presente en agua sea absorbido o transportado a través de las membranas biológicas se requiere que esté disponible y en forma disuelta (Camacho, 2007; Badillo, 2000).

Por su parte, la biodisponibilidad de Ni fue mayor en el manto (Ma) de los ejemplares de La Crucita, con un valor de $1,070 \pm 1,001 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y en los organismos de Las Minas este metal se encontró en mayor proporción en el músculo (M) con un valor de $2,030 \pm 4,845 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. La toxicidad del Ni en los invertebrados acuáticos varía considerablemente según las especies y los factores abióticos. Mance y Yates (1984) examinaron los datos sobre la toxicidad del Ni para los organismos de agua salada y no determinaron variación considerable de la sensibilidad en la fauna marina. Asimismo, se sabe que la bioacumulación de Ni en las cadenas alimentarias de los ecosistemas acuáticos no se produce (OMS, 1991). No obstante, se ha informado que el Ni afecta la síntesis de proteínas de las membranas celulares en alto grado, lo que causa una reducción de la concentración total (Tkeshelashvili y cols., 1989). En este sentido, los niveles de Ni encontrados en los organismos estudiados pueden estar relacionados con la influencia de los sedimentos de origen terrígeno, arrastrados por la presencia de hidrocarburos o por fuente natural (Martínez y Senior, 2001).

La inducción de la síntesis de metalotionínas (Mts) en especies marinas por metales contaminantes, ha llevado al uso de estas proteínas como potenciales biomarcadores específicos para exposición a metales en biomonitoreo acuático, al intervenir en la homeostasis y detoxificación de metales. El metabolismo de los metales está regulado

por mecanismos complejos y, en muchos casos, dichos mecanismos implican un aumento de la concentración de esta proteína al aumentar la concentración de un metal en el tejido. Dada la especialización funcional de los distintos tejidos, es fácil entender que estos respondan diferencialmente en cuanto a la concentración de metalotionina, cuando el organismo se enfrenta a concentraciones elevadas de metal en el medio (Amiard y cols., 2006). De acuerdo con los resultados obtenidos, no se evidenciaron alteraciones en los niveles de proteína en el bivalvo.

En ambas localidades se obtuvo una máxima producción de Mts en el resto (La Crucita: $25,700 \pm 3,660$ y Las Minas: $12,297 \pm 5,627 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$), de los ejemplares de *L. scabra*, lo que sugiere una mayor acumulación de metales en este tejido, tal como se muestra en las Figuras 6 y 7, apreciándose una relación decreciente de la proteína con los metales $\text{Fe} > \text{Ni} > \text{Cd} > \text{Pb}$, que concuerda con las concentraciones de metales determinadas. La metalotionina, como marcador de iones metálicos, muestra su afinidad para los iones esenciales como el Fe, el cual es un potente oxidante, participando activamente en su homeostasis. Las Mts, además de enlazar metales, juegan un papel metabólico en la remoción de radicales libres que se forman por efecto del Fe. El Cd es el ion metálico que presenta mayor fuerza de unión para algunas Mts y no por ser precisamente el elemento necesario para su función biológica específica. Al ser un ion pesado, se liga a las cisteínas y quedan sus átomos enclaustrados fuertemente entre los dos agrupamientos de la proteína, desplazando a otros iones, aunque se consideren con mayor afinidad para la molécula. La Mt inducida con Cd se muestra toxicológicamente como bioindicador de patología, en general y cancerogénesis, en particular. El Ni y el Pb presentaron asociación con las Mts, actuando como potentes oxidantes. En el caso del Cr, aun no existe referencia bibliográfica alguna que se haya asociado con las Mts (Reyes, 1999).

La relación de ARN/ADN en el músculo abductor de los organismos pertenecientes a las localidades de La Crucita y Las Minas, no presentaron ninguna variación significativa, indicando esto, que la condición fisiológica de dichos organismos, es similar en ambas localidades. Puede sugerirse, entonces, que los niveles de ARN/ADN, probablemente

estuvieron relacionados con la producción de energía que estos organismos destinan para su desarrollo. Nusetti y Morales (1988), determinaron un incremento progresivo del ARN/ADN, según la talla, en el mejillón marrón *Perna perna*. Mientras que Lodeiros y Himmelman (1996), evaluaron el efecto ambiental sobre diferentes tallas de *Euvola (Pecten) ziczac*, demostrando una correlatividad del índice de ARN/ADN con el crecimiento y la condición fisiológica.

Los resultados permiten concluir que la relación ARN/ADN observada en el músculo abductor de ejemplares de *Lima scabra*, pertenecientes a las localidades de La Crucita y Las Minas, estuvo asociada con las condiciones naturales de su entorno, factor que juega un papel importante en el comportamiento y establecimiento de dicho organismo, lo que influye y regula el metabolismo de éste (Acosta y Lodeiros, 2003).

CONCLUSIONES

Las concentraciones promedios de los metales Cr, Fe, Ni, Pb y Cd determinadas en los sedimentos y diferentes tejidos de ejemplares hembras de *Lima scabra*, procedentes de las localidades de La Crucita y Las Minas, se mostraron en niveles que no superaron los límites de referencia establecidos para el consumo animal y humano.

Los niveles de metales registrados en los organismos de la localidad de Las Minas, no estuvieron influenciados por las descargas de gas e hidrocarburos propias de esta zona.

Los niveles de Mts en el resto (R), estuvieron asociados a los niveles de metales presentes en ambas localidades estudiadas, siendo éste el tejido con más poder de bioacumulación de metales en los ejemplares de *L. scabra*.

No se estableció variación en la relación ARN/ADN en el músculo abductor del bivalvo, ya que la condición fisiológica del organismo es similar en ambas localidades y no es afectada por la presencia de metales en el medio.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta, V. y Lodeiros, C. 2001. Evaluación del efecto del cobre sobre juveniles del mejillón verde *Perna viridis* mediante la concentración de ADN, y relación ARN/ADN en el músculo abductor. Rev. Cient. LÚZ, 11(6): 485-490.

Acosta, V. y Lodeiros, C. 2003. Índice ARN/ADN en poblaciones de la almeja *Tivela mactroides* (bivalvia: veneridae) provenientes de localidades con diferentes niveles de contaminación. Rev. Cient. LÚZ, 13(5): 378-382.

Acosta, V. y Lodeiros, C. 2004. Metales pesados en la almeja *Tivela mactroides* (Born, 1778. Bivalvia: Veneridae) en localidades costeras con diferentes grados de contaminación en Venezuela. Cien. Mar., 30(2): 323-333.

Acosta, V.; Lodeiros, C.; Senior, W. y Martínez, G. 2002. Niveles de metales pesados en sedimentos superficiales en tres zonas litorales de Venezuela. Interciencia, 27(12): 686-690.

Almeida, E.; Bainy, A.; M. Medeiros y Di Mascio, P. 2003. Effects of trace metal and exposure to air on serotonin and dopamine levels in tissues of the mussel *Perna perna*. Mar. Poll. Bull., 46: 1485-1490.

Alquezar, R.; Booth, S. y Booth, D. 2005. Metal accumulation in the smooth toadfish, *Tetractenos glaber*, in estuaries around Sydney, Australia. Environ. Poll., 20: 1-9.

Amiard, J.; Amiard-Triquet, C.; Barka, S.; Pellerin, J. y Rainbow, P. 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates : Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. Aquatic Toxicology., 76(2): 160-202.

Badillo, M. 2000. Efecto de los oxihidróxidos de hierro y carbonatos de calcio en la adsorción de cadmio en suelo del Valle de México. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México.

Barceló, A.; Lemus, M. y Izaguirre, E. 2008. Parámetros geoquímicos en sedimentos superficiales de la región marino- costera de Punta de Piedras, Isla de Margarita, Estado Nueva Esparta. Inst. Oceanog. Venezuela, 47(1): 33-40.

Bonilla, J.; Fermín, J.; Gamboa, B. y Carrera, M. 1995. Aspectos geoquímicos de los sedimentos superficiales del ecosistema marino costero de Jose, Estado Anzoátegui, Venezuela. Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente, 34: 5-25.

- Bonilla, R. y Lin, A. 1979. Materia Orgánica en los sedimentos de los Golfos de Paria y Cariaco. Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente, 18(1-2): 37-52.
- Boyer, J.; Sterling, P. y Jones, R. 2000. Maximizing information from a water quality monitoring network through visualization techniques. Est. Coast. Shelfsci., 50: 39-48.
- Bracho, M.; Segnini, M.; Viñoles, I. y Chung, K. 1999. Efecto de la alimentación sobre la condición fisiológica del mejillón verde *Perna viridis* (L. 1758) (Mollusca: Mytilidae), medido por la relación ARN/ADN. Reunión 29 de la Asociación Laboratorios Marinos del Caribe. Cumaná, Venezuela.
- Bradly, R. y Morris, J. 1993. Heavy metals infeste from series of metals contaminated lakes near Sudbury. Ontario water Acid Soil Poll., 27: 341-354.
- Brambila, C.; Lozano, E. y Zaráin, P. 1999. Metalotionínas, bioquímica y funciones propuestas. Bol. Educ. Bioq., 18(1): 21-27.
- Camacho, M. 2007. Bioconcentración y toxicidad de metales en el langostino *Macrobrachium rosenbergu* (de Man). Rev. Toxicol., 24: 14-17.
- Capó, M. 2002. Principios de Ecotoxicología. Cuarta edición. Editorial McGraw Hill. Madrid, España.
- Castillo, I.; Acosta, V.; Martínez, G. y Núñez, M. 2005. Niveles de metales pesados en gónadas y músculo aductor del mejillón marrón, *Perna perna*, cultivado en la ensenada de Turpialito, Golfo de Cariaco, estado Sucre, Venezuela. Zoot. Trop., 23(2):141-154.
- Conti, M. y Cecchetti, G. 2003. A biomonitoring study: trace metals in algae and molluscs from Tyrrhenian coastal areas. Environ. Res., 93: 99-112.
- Cruz, A. y Fu-Lin, E. 2002. Heat-shock protein (HSP70) response in he eastern oyster, *Crassostrea virginica* exponed to PAHs sorbed to suspended artificial clay particles and to suspended field contaminated sediments. Aquatic Toxicolol., 60: 157-168.
- Demirak, T.; Yilmaz, F.; Tuna, A. y Ozdemir, N. 2005. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern. Chemosphere, 30: 1-8.
- Diniz, M.; Santos, H.; Costa, P.; Costa, M. y Alves, S. 2008. Efectos de la exposición al arsénico en *Corbicula fluminea*: Evaluación de las respuestas histológicas, histoquímicas y bioquímicas. Cienc. Mar., 34(3): 307-316.
- Dugo, G.; La Pera, A.; Bruzzese, T.; Pellicano, V. 2006. Concentration of Cd (II), Cu (II), Pb (II), Se (IV) and Zn (II) in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) tissues from Tyrrhenian Sea and Sicilian Sea by derivative stripping potentiometry. Food Control., 17:146-152.

- Ellman, G. 1958. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharm., 7: 88-95.
- Fuentes, M.; Rojas, L.; Díaz, A. y Martínez, G. 2010. Distribución de metales pesados en los sedimentos superficiales del Saco del Golfo de Cariaco, Sucre, Venezuela. Rev. Biol. Trop., 58 (3): 129-140.
- Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela. 2006. Ley Orgánica del Ambiente, 5833. Caracas, Venezuela.
- Gil, H.; Chung, K. y Lemus, M. 2003. Relación ARN/ADN como índice de condición fisiológica del híbrido de la cachama *Colossoma macropomum* y el morocoto *Piaractus brachypomus* durante el desarrollo embrionario. Rev. Biol. Trop., 51(4): 91-96.
- Gil, M.; Torres, A.; Harvey, M. y Esteves, J. 2006. Metales pesados en organismos marinos de la zona costera de la Patagonia Argentina Continental. Rev. Biol. Mar. Ocean., 41(2): 167-176.
- Gómez, J.; Segnini, M. y Fuentes, M. 1998. Efecto del cobre sobre la condición fisiológica de *Lima scabra*, medida por la razón ARN/ADN. Scientia, 13(13): 27-34.
- Gruber, H. y Valle, B. 2000. Introduction to metallothionein. Methods in enzymology. Biochemistry, 205: 3-7.
- Gutiérrez-Galindo, E.; Villaescusa, J. y Arreola, A. 1999. Bioacumulación de metales en mejillones de cuatro sitios selectos de la región costera de baja California. Cienc. Mar., 25(4): 557-578.
- Hare, L.; Tessier, A. y Warren, L. 2001. Cadmium accumulation by invertebrates living at the sediment-water interface. Environ. Toxicol. Chem., 4: 880-889.
- Harper, E.; Hermann D. y Gerhard S. 2006. La reconstrucción de la Anomalodesmata (Mollusca: Bivalvia): morfología y las moléculas. Zoological Journal of Linnean Society, 148(3): 395-420.
- Hylland, K.; Nisse-Lie, T.; Christensen, P. y Sandvik, M. 1998. Natural modulation of hepatic metallothionein and cytochrome P4501A in flounder, *Platyichthys flesus*. Mar. Environ. Res., 46(1-5): 51-55.
- Karsten, U. y Wollenberger, A. 1972. Improvements in the ethidium bromide method for direct fluorometric estimation of DNA and RNA in cell and tissue homogenates. Biochem., 77: 464-470.

Kenchington, E. 1994. Spatial and temporal variation in abductor muscle RNA/DNA ratio in sea scallops (*Placopeca ten magellanicus*) in the Bay of Fundy, Canada. Shell. Res., 13: 19-24.

Krauskopf, K. y Bird, D. 1995. Introduction to Geochemistry. Fourth edition (4th ed). Editorial MacGraw-Hill, New York.

Langston, W.; Chesman, B. y McEvoy, J. 2002. Metallothionein in liver of eels *Anguilla anguilla* from the Thames Estuary: an indicator of environmental quality?. Mar. Environ. Res., 53: 263-293.

Lee, J.-D.; Wu, S.-M.; Lu, L.-Y.; Yang, Y.-T. y Jeng, S.-Y. 2009. Cadmium concentration and metallothionein expression in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia of humans. J. Form. Med. Assoc., 108(7): 55-559.

Lemus, M. y Chung, K. 2006. Effects on the RNA/DNA ratio in different temperature in juveniles of *Petenia kraussii* (Pisces: Ciclidae). Bol. Inst. Oceanog. Venez., 45(1): 9-15.

Lemus, M.; Laurent, C.; Acagua, A.; Cabrera, M.; Aponte, A. y Cheng, K. 2010. Variación estacional de metales pesados en *Perna viridis* de la localidad de Guayacán, península de Araya, estado Sucre, Venezuela. The Biologist, 8: 126-138.

Lodeiros, C.; Fernández, R.; Bonmati, A.; Himmelman, J. y Chung, K. 1996. Relation of RNA/DNA ratios to grow for the scallop *Euvola (Pecten) ziczac* (L.) in suspended culture. Mar. Biol., 126: 245-251.

Lodeiros, C. y Freitas, L. 2008. Estado Actual y perspectivas del cultivo de moluscos bivalvos en Venezuela. FAO: Act. Pesc. Acui., 12: 135-150.

Lodeiros, C. y Himmelman, J. 1996. Influence of fouling on the growth and survival of the tropical scallop, *Euvola (Pecten) ziczac* (L. 1758) in suspended culture. Aquac. Res., 27: 749-756.

Lodeiros C.; Marín, N. y Prieto, A. 1999. Catálogo de moluscos de las costas nororientales de Venezuela: Clase Bivalvia. Ediciones APUDONS. Cumaná, Venezuela.

Mance, G. y Yates, J. 1984. Proposed Environmental Quality Standards for list II substances in water - Zinc, Technical Report TR 209, WRc, Medmenham Propuesta de normas de calidad ambiental para sustancias de la lista II en el agua - El zinc. Informe Técnico TR 209, la CMR, Medmenham.

Márquez, A.; Senior, W.; Fermín, I.; Martínez, G.; Castañeda, J. y González, A. 2008. Concentraciones de metales en sedimentos y tejidos musculares de algunos peces de la Laguna de Castellero, Venezuela. Rev. Cient., 18(2).

- Márquez, A.; Senior, W.; Fermín, I.; Martínez, G.; Castañeda, J. y González, A. 2008. Cuantificación de las concentraciones de metales pesados en tejidos de peces y crustáceos de la laguna de Unare, estado Anzoátegui, Venezuela. Rev. Cient., 8(1): 73-86.
- Martínez, G. 2002. Metales pesados en sedimentos superficiales del Golfo de Cariaco, Venezuela. Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente., 41(1-2): 83-96.
- Martínez, G.; Alvarado, J. y Senior, W. 2001. Estudio físico-químico de las aguas superficiales de la cuenca baja y pluma del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela. Interciencia, 26(8): 342-351.
- Martínez, G. y Senior, W. 2001. Especiación de metales pesados (Cd, Zn, Cu y Cr) en el material en suspensión de la pluma del Río Manzanares, Venezuela. Interciencia, 26: 53-61.
- Martínez, M. 2002. Especiación de metales pesados en columnas de sedimentos de las lagunas de Piritu y Unare, estado Anzoátegui. Trabajo de pregrado. Universidad de Oriente, Cumaná. Venezuela.
- Martins, C. 2004. Acumulación y depuración del cadmio en relación con el perfil de enlazamiento a metaloproteínas en el hepatopáncreas del bivalvo *Lima scabra*. Tesis de maestría, Postgrado en Ciencias Marinas, Universidad de Oriente, Cumaná. Venezuela.
- Moss, S. 1994. Use of nucleic acids as indicators of growth in juvenile white shrimp *Penaeus vannamei*. Mar. Biol., 120: 359-367.
- Narváez, N.; Lodeiros, C.; Nusetti, O.; Lemus, M. y Alfonso, M. 2005. Incorporación, depuración y efecto del cadmio en el mejillón verde *Perna viridis* (L.1758) (Mollusca: Bivalvia). Cienc. Mar., 31: 91-102.
- Nusetti, O. y Morales, D. 1988. Crecimiento de algunos tejidos del mejillón *Perna perna* (L. 1758): Composición de ARN, relación ARN/ADN y reservas energéticas. Act. Cient. Venezuela, 39: 289-293.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 1991. Environmental Health Criteria. Nickel. Ginebra: OMS. 108.
- Pérez, M.; Martínez, G. y Fermín, I. 2006. Biodisponibilidad de metales trazas en sedimentos superficiales del ecosistema lagunar costero Bocaripo-Chacopata (Península de Araya, Estado Sucre). Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela. Univ. Oriente, 45(2): 81-91.
- Pettine, M.; Camusso, M. y Martinotti, W. 1992. Dissolved and particulate transport of arsenic and chromium in the River Po. Sci. Total. Environ., 119: 253-280.
- Phillips, D. y Raibow, P. 1997. Trace metal accumulation in marine invertebrates: Marine invertebrates: Marine Biology or Marine Chemistry. J. Mar. Biol. Ass., 77: 195-210.

- Prager, J. 2002. Environmental contaminant reference data book. Interscience, 1: 376-379.
- Prieto, J.; González, C.; Román, A. y Prieto, F. 2009. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y aguas. Trop. and Subtrop. Agroec., 10(1): 29-44.
- Rajkumar W.; Mungal, R. y Bahadoorsingh, E. 1992. Heavy metal concentration in sea water, sediment, and biota (*Donax striatus*) along the east coast of Trinidad. Carib. Mar. Stud., 3: 26-32.
- Reyes, R. 1999. Metalotioninas como biomarcadores moleculares de la contaminación por metales pesados en organismos acuáticos. Interciencia, 24(6).
- Rivas, B.; García, O. y Pérez, M. 1999 Metallthioneinisoformen mittels KZE und HPLC in Flechte, Forelle, Dipteralarvae, Ratte, Hase und Mensch. Mengen- und Spuren- Elem., 1: 948-956.
- Rojas, L.; Lemus, M.; Rojas, N.; Martínez, G.; Ramos, Y. y Cheng, K. 2009. Mercury levels in *Perna viridis* from the north coast of Sucre state, Venezuela. Cienc. Mar., 35: 91-99.
- Roling, J.; Bain, L.; Gardea, J.; Bader, J. y Baldwin, W. 2006. Hexavalent chromium reduces larvae growth and alters gene expression in mummichog (*Fundulus heteroclitus*). Environ. Toxicol. Chemistry., 25: 2725-2733.
- Ruíz, L.; Parra, B. y Antulio, A. 2007. Estructura comunitaria de peces en dos localidades de la costa norte de la Isla de Cubagua, Venezuela. Ciencia, 15(4).
- Sadiq, M. 1992. Toxic metal chemistry in marine environments. Marcel Dekker. New York.
- Salazar, R. y Reyes, R. 2000. Efectos tóxicos y mecanismos de tolerancia al cadmio en seres vivos. Univ. Cienc. Tecnol., 13: 12-22.
- Sawyer, C. y McCarty, P. 2001. Química para Ingeniería Ambiental. Cuarta edición. Editorial McGraw Hill. México.
- Senior, W. y Castañeda, J. 1997. Evaluación ambiental de las bahías de Bergantín, Pozuelos y Barcelona, ubicadas en las costas del Edo. Anzoátegui. Informe final. PDVSA.
- Shcherrban, S. 1992. Relationship between the RNA/DNA ratio, relative protein content, and weight of mussels in experiment. J. Hydrobiol., 28: 69-74.

- Sokal, R. y Rohlf, F. 1981. Introducción a la Bioestadística. Primera edición. De Reverte S.A. España.
- Tapia, J. 2010. Presencia de metales pesados como cadmio, cromo y plomo en moluscos bivalvos provenientes de la costa de la Región del Maule. Food Chemistry, 2: 327-328
- Tarifeno, E. y Kawasaki, L. 1982. Aquacultural approaches to recycling of dissolved nutrients in secondarily treated domestic waste waters. Water Res., 16(1): 51-58.
- Tkeshelashvili, L. K.; Tsakadze, K. y Khulusauri, O. 1989. Effect of some nickel compounds on red blood cell characteristics. Biol. Trace. Elem. Res., 21: 337-342.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 2002. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms. EPA-821-R-02-014. Washington, DC 20460.
- US FDA (United States Food and Drug Administration). 2001. Announces advisory on methylmercury in fish. FDA Talk Paper T04- 01. Washington, DC.
- Usero, J.; González, E. y Gracia, I. 1996. Trace metals in the bivalve molluscs *Chamelea gallina* from the Atlantic coast of southern Spain. Mar. Poll. Bull., 32: 305-310.
- Valdés, F. 1999. Contaminación por metales pesados en Torreón, Coahuila, México. Def. Amb., 1: 19-20.
- Van den Broek, J.; Gledhill, K. y Morgan, D. 2002. Heavy metal concentrations in the mosquito fish, *Gambusia holbrooki*, in the Manly Lagoon catchment. Environmental Sciences, 22: 5-8.
- Velásquez, J. 1956. Petróleo y Perlas en Cubagua. Res. Shell, 5(18): 45-52.
- Viarengo, A.; Ponzano, E.; Dondero, F. y Fabbri, R. 1997. A simple spectrophotometric method for metallothioneins evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic Mollusc. Mar. Environ. Res., 44: 69-84.
- Villegas, W; Acereto, P y Vargas, M. 1998. Análisis ultravioleta visible. La teoría y la práctica en el ejercicio profesional. Universidad Autónoma de Yucatán. Facultad de Ingeniería Química. Mérida Yucatán.
- Weeb, M. 1996. Role of methallothioneins in cadmium metabolism. Exp. Pharmacol., 80: 8.
- White, K. y Tiittle-Baum, E. 1985. Metal distribution and contamination in sediments. J. Environ., 111: 161-175.

Yebra, M.; Enriquez, M. y Cespón, R. 2000. Preconcentration and flame atomic absorption spectrometric determination of cadmium in mussels by an on-line continuous precipitation-dissolution flow system. Talanta, 52: 631-636.

Zwieg, R.; Morton, J. y Stewart, M. 1999. Source water quality for aquaculture. Guide for Assessment.

APÉNDICES

Apéndice 1. Análisis de correlación entre la concentración de metales pesados del hepatopáncreas del bivalvo *Lima scabra* de las dos localidades de la Isla de Cubagua, estado Nueva Esparta, Venezuela y el contenido de Metalotioninas.

R (Correlación) P (Probabilidad)	Cd	Cr	Fe	Mts	Ni
Cd	-	-	-	-	-
Cr	0,172 0,465 Ns	-	-	-	-
Fe	0,668 0,004*	0,303 0,198 Ns	-	-	-
Mts	0,004 0,985 Ns	0,642 0,006*	0,353 0,133 Ns	-	-
Ni	0,304 0,196 Ns	0,236 0,316 Ns	0,536 0,022*	0,389 0,098 Ns	-
Pb	0,078 0,738 Ns	0,061 0,793 Ns	0,078 0,738 Ns	0,292 0,214 Ns	0,058 0,805 Ns

Mts: Metalotioninas; Cd: cadmio; Cr: cromo; Fe: hierro; Ni: níquel; Pb: plomo; Ns: No significativo (P> 0,05); *significativo (P<0,05).

Apéndice 2. Análisis de correlación entre la concentración de metales pesados del músculo del bivalvo *Lima scabra* de las dos localidades de la Isla de Cubagua, estado Nueva Esparta, Venezuela y el contenido de Metalotioninas.

R (Correlación) P (Probabilidad)	Cd	Cr	Fe	Mts	Ni
Cd	-	-	-	-	-
Cr	0,057 0,806 Ns	-	-	-	-
Fe	0,300 0,203 Ns	0,408 0,082 Ns	-	-	-
Mts	0,428 0,069 Ns	0,007 0,976 Ns	0,071 0,760 Ns	-	-
Ni	0,175 0,456 Ns	0,086 0,715 Ns	0,033 0,887 Ns	0,057 0,806 Ns	-
Pb	0,175 0,455 Ns	0,298 0,204 Ns	0,195 0,407 Ns	0,515 0,028*	0,099 0,672 Ns

Mts: Metalotioninas; Cd: cadmio; Cr: cromo; Fe: hierro; Ni: níquel; Pb: plomo; Ns: No significativo (P> 0,05); *significativo (P<0,05).

Apéndice 3. Análisis de correlación entre la concentración de metales pesados de las branquias del bivalvo *Lima scabra* de las dos localidades de la Isla de Cubagua, estado Nueva Esparta, Venezuela y el contenido de Mts.

R (Correlación) P (Probabilidad)	Cd	Cr	Fe	Mts	Ni
Cd	-	-	-	-	-
Cr	0,194 0,410 Ns	-	-	-	-
Fe	0,599 0,011*	0,626 0,007*	-	-	-
Mts	-0,090 0,701 Ns	0,190 0,419 Ns	0,258 0,2720 Ns	-	-
Ni	0,416 0,077 Ns	0,403 0,087 Ns	0,452 0,054*	0,135 0,566 Ns	-
Pb	0,193 0,410 Ns	0,500 0,033*	0,146 0,534 Ns	0,089 0,705 Ns	0,476 0,043 Ns

Mts: Metalotioninas; Cd: cadmio; Cr: cromo; Fe: hierro; Ni: níquel; Pb: plomo; Ns: No significativo (P>0,05); *significativo (P<0,05).

Apéndice 4. Análisis de correlación entre la concentración de metales pesados del manto del bivalvo *Lima scabra* de las dos localidades de la Isla de Cubagua, estado Nueva Esparta, Venezuela y el contenido de Metalotioninas.

R (Correlación) P (Probabilidad)	Cd	Cr	Fe	Mts	Ni
Cd	-	-	-	-	-
Cr	0,492 0,036*	-	-	-	-
Fe	0,098 0,676 Ns	0,474 0,044*	-	-	-
Mts	0,012 0,958 Ns	0,321 0,172 Ns	0,059 0,800 Ns	-	-
Ni	0,411 0,080 Ns	0,018 0,937 Ns	0,540 0,021*	0,065 0,780 Ns	-
Pb	0,440 0,061 Ns	0,384 0,103 Ns	0,305 0,195 Ns	0,001 0,994 Ns	0,282 0,231 Ns

Mts: Metalotioninas; Cd: cadmio; Cr: cromo; Fe: hierro; Ni: níquel; Pb: plomo; Ns: No significativo (P>0,05); *significativo (P<0,05).

Apéndice 5. Análisis de correlación entre la concentración de metales pesados del resto del bivalvo *Lima scabra* de las dos localidades de la Isla de Cubagua, estado Nueva Esparta, Venezuela y el contenido de Metalotioninas.

R (Correlación) P (Probabilidad)	Cd	Cr	Fe	Mts	Ni
Cd	-	-	-	-	-
Cr	0,352 0,134 Ns	-	-	-	-
Fe	0,680 0,003*	0,345 0,142 Ns	-	-	-
Mts	0,557 0,017*	0,170 0,470 Ns	0,752 0,001*	-	-
Ni	0,558 0,017*	0,402 0,087 Ns	0,532 0,023*	0,645 0,006*	-
Pb	0,629 0,007*	0,179 0,447 Ns	0,644 0,006*	0,530 0,024*	0,615 0,009*

Mts: Metalotioninas; Cd: cadmio; Cr: cromo; Fe: hierro; Ni: níquel; Pb: plomo; Ns: No significativo ($P > 0,05$); *significativo ($P < 0,05$).

Apéndice 6. Niveles de metales en sedimentos en diferentes regiones Marino-Costas de Venezuela.

Lugar de análisis	Cd	Cr	Fe	Pb	Ni	Fracción Total y Fina	Referencia bibliográfica
Golfo de Cariaco Edo. Sucre	0,00-6,21 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	2,51-97,15 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		0,00-37,08 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	2,01-49,87 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	F	Martínez, 2002
Playa Guiria, Edo. Sucre. Río Chico (RC) y Boca de Paparo (BP), Edo. Miranda	RC: 1,28 BP: 23,7 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	RC: 3,80 BP: 47,50 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)				F	Acosta y cols., 2002
Lagunas Bocaripo (B) y Chacopata (C), Península de Araya, Edo Sucre	B: 0,05 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	B: 0,15 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	B: 62,15 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	C: 6,30 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	B: 0,04 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	T	Pérez y cols., 2006
Punta de Piedras, Edo. Nueva Esparta	0,95-2,69 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	0-3,10 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	166-465 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	2,79-11,52 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	0,59-1,03 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	T	Barceló y cols., 2008

Apéndice 6. Niveles de metales en sedimentos en diferentes regiones Marino-Costas de Venezuela (Continuación).

Lugar de análisis	Cd	Cr	Fe	Pb	Ni	Fracción Total y Fina	Referencia bibliográfica
Laguna de Castellero, Edo. Bolívar				17,02 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		F	Márquez y cols., 2008
Golfo de Cariaco, Edo. Sucre	5,00 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)			1,67- 60,41 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	3,29- 24,58 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	F	Fuentes y cols., 2010

Cd: cadmio; Cr: cromo; Fe: hierro; Pb: plomo; Ni: níquel; T: Fracción Total; F: Fracción Fina.

HOJAS DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	METALES PESADOS, METALOTIIONINAS Y RELACIÓN ARN/ADN DEL BIVALVO <i>Lima scabra</i> , COLECTADO EN DOS ZONAS DE LA ISLA DE CUBAGUA, ESTADO NUEVA ESPARTA, VENEZUELA. (Modalidad: Tesis de Grado)
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Cedeño N., Aniuska J	CVLAC	17407291
	e-mail	aniuskanavarro@hotmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Bivalvos, Metalotioninas, Bioindicadores, ARN/ADN

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6
Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se analizaron los niveles de metales pesados, metalotioninas y tasa de crecimiento (ARN/ADN) en ejemplares hembras del bivalvo *Lima scabra* en las localidades de La Crucita y Las Minas en la Isla de Cubagua, estado Nueva Esparta. La localidad de Las Minas está caracterizada por la presencia visible de escapes de gas e hidrocarburos mientras que, la segunda zona (La Crucita), se encuentra visiblemente libre de dicha actividad. Los ejemplares de *Lima scabra* fueron colectados manualmente a profundidades de 2 a 3 m, con tallas que oscilaron entre 4 a 10 cm de longitud. Los niveles de metales pesados se determinaron utilizando espectrofotometría de absorción atómica. Se evaluaron las concentraciones de cromo (Cr), hierro (Fe), níquel (Ni), plomo (Pb) y cadmio (Cd) en sedimentos y en los tejidos: hepatopáncreas (H), músculo (M), branquias (B), manto (Ma) y resto (R) ($\mu\text{g/g}$ peso seco) por espectrofotometría de absorción atómica, utilizando material de referencia certificado. Las metalotioninas (Mts) fueron cuantificadas en todos los tejidos y la relación (ARN/ADN), en el músculo abductor del bivalvo *Lima scabra*. Los datos para metales, Mts y relación ARN/ADN, fueron analizados estadísticamente por el test de Kruskal Wallis. En los sedimentos, se observaron diferencias estadísticamente significativas para todos los metales analizados (Cr, Fe, Ni, Pb y Cd) en ambas localidades ($P < 0,001$), encontrándose en el análisis de metales totales para los tejidos, diferencias significativas para Cr ($K_w = 10,874$; $P < 0,001$) y Cd ($K_w = 24,408$; $P < 0,001$); siendo la concentración de Cr mayor en Las Minas y la de Cd mayor en La Crucita. Las concentraciones de Mts totales, no mostraron variaciones significativas ($P > 0,05$) entre las dos localidades, aunque con respecto a los tejidos, se presentaron diferencias en la Crucita ($P = 0,001$), con un máximo promedio en el R y en Las Minas ($P < 0,001$) con un máximo en el R, mientras que para la relación ARN/ADN, los resultados muestran que en este estudio no se evidenciaron diferencias significativas, lo cual sugiere que la condición fisiológica del organismo es similar en ambas localidades y no es afectada por la presencia de metales.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Lemus., Mairín	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	6429405
	e-mail	mlemus88@gmail.com
	e-mail	
Salazar., Raquel	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	5855836
	e-mail	raquelugo.ve@yahoo.com
	e-mail	
Zapata., Edgar	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	12269219
	e-mail	edzapata2002@yahoo.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2012	01	17

Lenguaje: spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS_AC	Application/Word

Alcance:

Espacial: NACIONAL (Opcional)

Temporal: TEMPORAL (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciada en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciada

Área de Estudio: Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado: Universidad de Oriente

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNPEL
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

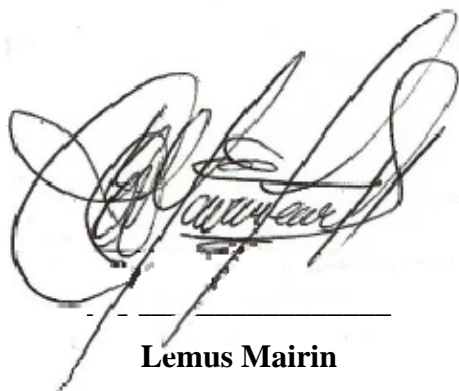
Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009): “Los trabajos de grados son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y solo podrá ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Concejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Concejo Universitario, para su autorización”.



Cedeño Aniuska

Autor



Lemus Mairin

Asesor