

RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y ACUMULACIÓN DE CADMIO EN EL BIVALVO *LIMA SCABRA* (BORN, 1778) (PTERIOIDA: LIMIDAE)

MAIRIN LEMUS^{1,2}, MARÍA ALEJANDRA BALZA¹ & CARMEN MARTINS¹

¹*Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, e Instituto Oceanográfico de Venezuela,
Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
mlemus@sucre.udo.edu.ve*

²*Centro de Investigaciones Ecológicas de Guayacán. Universidad de Oriente. Venezuela.*

RESUMEN: Ejemplares del bivalvo *Lima scabra* fueron obtenidos de un banco coralino del sureste de la isla de Cubagua, estado Nueva Esparta, y mantenidos en condiciones de laboratorio con la finalidad de analizar la bioacumulación de cadmio y su efecto sobre algunos parámetros iónicos en hemolinfa y tejidos. Se utilizaron ejemplares con talla comprendida entre 72,60 y 86,80 mm de largo y se colocaron en acuarios individuales para un total de 10 controles y 10 expuestos a 0,25 mg/l de Cd. Se analizaron los niveles de Cd en hepatopáncreas, músculo, gónadas, hemolinfa (plasma y células) y resto de tejidos somáticos (branquias y manto). Las concentraciones de Na⁺ y K⁺ se determinaron por espectrofotometría de llama, Cd y Ca⁺² por espectrofotometría de absorción atómica y proteínas totales por colorimetría. Las mayores concentraciones de Cd en *L. scabra* presentaron un valor de 17,60 ± 2,43 µg/g para el resto y de 17,47 ± 2,45 µg/g para hepatopáncreas. El Cd estuvo enlazado en mayor proporción a componentes del plasma y no a la fracción celular de la hemolinfa. La incorporación de Cd en el plasma estuvo asociada a un incremento de proteínas totales en hemolinfa 7,02 mg/l, con respecto a los controles que presentaron un valor promedio de 4,12 mg/l. Se determinó que dosis subletales de Cd disminuyen los niveles de Cl⁻ y Na⁺ en la hemolinfa, con una concomitante disminución de estos iones en los tejidos somáticos.

Palabras clave: Bioacumulación, cadmio, hemolinfa, electrolitos.

ABSTRACT: Specimens ranging between 72.60 and 86.80 mm in length, collected from a coral bank located to the southeast of the Island of Cubagua, state of Nueva Esparta, and kept in laboratory conditions, were assayed for bioaccumulation of cadmium in order to analyze the effect of this trace metal on some ionic parameters in hemolymph and other tissues. The specimens were placed in individual aquaria, 10 being exposed to 0.25 mg/L of Cd and 10 kept as controls. Cd levels were measured in hepatopancreas, muscle, gonads, hemolymph (plasma and cells) and remaining somatic tissues (gills and mantle). Na⁺ and K⁺ concentrations were determined by flame spectrophotometry; those of Cd and Ca⁺², by atomic absorption spectrophotometry, and those of total proteins by colorimetry. The highest concentrations of Cd in *L. Scabra* reached a value of 17.60±2.43µg/g in the remaining tissue and 17.47±2.45µg/g in hepatopancreas. Cd bound mainly to plasma components and not to the cell fraction of hemolymph. The incorporation of Cd in plasma was associated with an increase of total proteins in hemolymph, 7.02 mg/L, relative to Cd uptake in the controls, which showed a mean value of 4.12mg/L. Sublethal doses of Cd were found to lower the levels of Cl⁻ and Na⁺ in the hemolymph, with an attendant reduction of those ions in somatic tissue.

Key words: Bioaccumulation, cadmium, hemolymph, electrolytes.

INTRODUCCIÓN

Los moluscos bivalvos se han empleado como modelos de investigación en el estudio de la contaminación por metales pesados en zonas de gran importancia ecológica y económica, como es el caso de los arrecifes coralinos, y en consecuencia son frecuentemente utilizados en variados ecosistemas como biomonitores de perturbación ambiental (McDOWELL, 1993).

En el área del Caribe pocos estudios han considerado a los bivalvos asociados a los corales, como posibles monitores de contaminación, aún cuando existe una gran diversidad de especies que podrían ser evaluadas, entre las que pueden mencionarse a *Lima scabra*, quien es posiblemente el invertebrado más conspicuo asociado a corales escleractíneos de los bancos someros en la costa nororiental de Venezuela (GÓMEZ, 1998).

Los metales y en particular el Cd es un elemento extremadamente tóxico para la biota dado que tiene la capacidad de atravesar las barreras biológicas y enlazarse con los componentes citoplasmáticos y organelos celulares para alterar la fisiología celular. El cadmio al igual que otros metales puede afectar significativamente la actividad de la ATPasa a nivel branquial (BURKE *et al.* 2003; LIONETTO *et al.* 2006), crear daños oxidativos y peroxidación de membranas (COMPANY *et al.* 2004), que traen como consecuencia una alteración del equilibrio iónico.

Aun cuando no existen registros que determinen la presencia de cadmio en el área donde se realizó la captura de los ejemplares, algunos trabajos realizados en la zona nororiental han demostrado concentraciones por debajo de $1\mu\text{g/g}$, valor límite para sedimentos no contaminados (ACOSTA *et al.* 2002). Sin embargo, en el golfo de Cariaco, este metal ($1,20 - 3,30\mu\text{g/g}$) presenta valores significativamente elevados (MARTÍNEZ 2002). Por otro lado, los estudios de biomonitorio señalan diferentes tasas de acumulación de este metal de acuerdo a la especie. En *Arca zebra* proveniente de la localidad de Chacopata las concentraciones de Cd están comprendidas entre $6,01$ y $22,03\mu\text{g/g}$ de masa seca (ACAGUA 2008), mientras que otras no tienen la misma capacidad de incorporación como es el caso de *Perna viridis* (LINNAEUS 1758) cuyas concentraciones no superan valores de $1,55 \pm 0,34\mu\text{g/g}$ para esta misma zona (LEMUS *et al.* 2010).

Lima scabra es una especie relativamente abundante y de cierto valor económico, con una distribución relativamente amplia, desde Carolina del Norte hasta Brasil (ABBOTT 1984; DÍAZ & PUYANA 1994; LODEIROS *et al.* 1999); sin embargo, existen pocos trabajos sobre ella.

En el presente estudio se determinó la acumulación de Cd en los tejidos somáticos, reproductivos y hemolinfa de *L. scabra* expuesto a dosis subletales del metal y sus efectos sobre algunos parámetros iónicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares de *L. scabra* se obtuvieron del medio natural manualmente por buceo en apnea, en un banco coralino costero, situado en la costa sureste de la isla de Cubagua, estado Nueva Esparta, Venezuela ($10^{\circ} 46' 16''$ Lat. N y $64^{\circ} 10' 49''$ Long. W).

Transcurridos 15 días de aclimatación en condiciones de laboratorio, los ejemplares fueron separados en dos grupos. Los organismos del grupo control ($n = 10$) de talla promedio de $82,34 \pm 11,37$ mm de largo y los del grupo expuestos a Cd ($n = 10$) de $73,37 \pm 16,13$ mm, fueron colocados individualmente en acuarios de 2 litros de capacidad con agua de mar filtrada. Los organismos expuestos a Cd fueron contaminados diariamente con $0,25$ mg/l de Cd, durante 9 días. A ambos grupos se les realizaron recambios diarios de agua de mar y se alimentaron con la microalga *Dunaliella salina* (DUNAL) TEODORESCO 1905, durante todo el período de experimentación.

Los análisis de los parámetros iónicos en hemolinfa se efectuaron extrayendo el líquido por punción intravalvar. Para ello se utilizaron jeringas heparinizadas (20 mg/ml) y en condiciones de estricta anaerobiosis, siguiendo la metodología descrita por BELMAR *et al.* (1998). Posteriormente, se tomó de cada ejemplar $1,5$ ml de hemolinfa y se centrifugó a 5000 rpm durante 5 min, para realizar los análisis de proteínas totales y las determinaciones de iones. La determinación de proteínas totales se realizó por el método de Biuret (Lowry *et al.* 1951).

Las gónadas, hepatopáncreas, músculo y restos de tejidos somáticos (branquias y manto), fueron disectados por separado para cada ejemplar. Los tejidos fueron pesados y deshidratados por 24 horas. Cada muestra de tejido deshidratado fue digerido con 4 ml de $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{SO}_4$ ($1:1$ v/v) y posteriormente enrasados a 10 ml con agua desionizada y se procedió a realizar diluciones $1:50$ y $1:100$. De igual manera, se realizaron diluciones de la hemolinfa $1:100$ y $1:200$ para las determinaciones.

Los iones sodio (Na^+) y potasio (K^+) se determinaron en un fotómetro de llama Corning-310. El ión calcio (Ca^{+2}) fue valorado por espectrofotometría de absorción atómica. El ión cloruro (Cl^-) se cuantificó solo en hemolinfa por el método de SCRIBNER & BELDING (1970). Los valores de los iones fueron expresados en mmol/l para la hemolinfa y mmol/g de peso húmedo para los diferentes tejidos y la eficiencia de las lecturas fueron comparadas con los estándares de otros bivalvos (BELMAR *et al.* 1998; WILLMER *et al.* 2000). Los valores de Cd fueron expresados en $\mu\text{g/g}$ de masa húmeda ($\mu\text{g/g m h}$) y las proteínas totales en mg/l.

Los resultados se analizaron estadísticamente con análisis de variancia de una vía para la hemolinfa y de dos

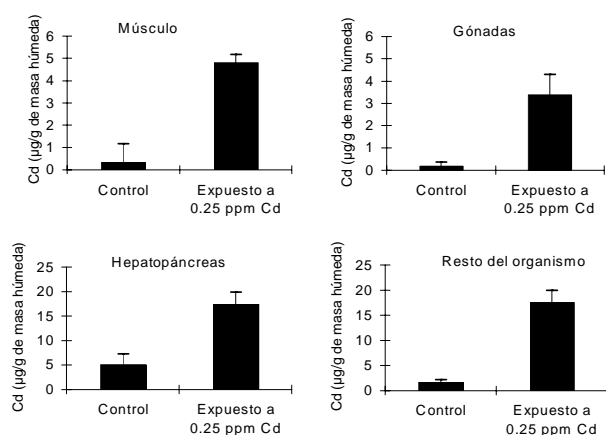


Fig. 1. Concentración de cadmio (Cd) en tejidos del bivalvo *Lima scabra* en condiciones de laboratorio. Control y expuestos a Cd.

vías para los tejidos, con un $\alpha = 0,05$ y $n = 5$ para los controles y $n = 4$ para los expuestos a Cd. En los grupos que presentaron diferencias significativas se realizaron pruebas *a posteriori* Duncan, (SOKAL & ROHLF 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la exposición de *L. scabra* a una concentración subletal de cadmio durante 9 días se evidenció que el metal fue acumulado diferencialmente en los tejidos y estuvo presente en la hemolinfa de los organismos. Se determinaron diferencias significativas en la bioacumulación de Cd entre los tejidos ($F_s = 90,89$; $p < 0,001$) y entre ambos grupos experimentales ($F_s = 316,14$; $p < 0,001$). Las gónadas y el músculo no mostraron diferencias significativas y presentaron las menores concentraciones del metal, $3,41 \pm 0,89$ y $4,82 \pm 0,89$ $\mu\text{g/g m h}$, respectivamente. El hepatopáncreas y el resto (branquias y manto) mostraron los mayores registros de Cd (Fig. 1).

La cinética de incorporación de metales en invertebrados ha demostrado que los tejidos parenquimatosos presentan siempre las mayores concentraciones del metal, principalmente en las branquias y hepatopáncreas y esto se ha atribuido a que los mismos pueden metabolizar estos elementos a través del enlazamiento a proteínas de alto y bajo peso molecular como por ejemplo las metalotioninas (LEMUS 2005; LONG *et al.* 2010). Por otro lado, las metalotioninas junto con los metales pueden ser excretadas por exocitosis a través de

TABLA 1. Concentración de cadmio en plasma y hemocitos del bivalvo *Lima scabra* expuesta a 0,25 ppm de cadmio durante 9 días. Se presentan los valores promedios y las desviaciones estándar (\pm SD) de cada parámetro, para los dos grupos estudiados, controles y expuestos a cadmio (Cd).

	Plasma	Hemocitos
Control	No detectado (n=12)	$0,008 \pm 0,005$ (n=12)
Expuestos a 0,25 ppm de Cd	$3,48 \pm 0,028$ (n=8)	$0,110 \pm 0,072$ (n=8)

lisosomas o formar gránulos que inactivan la toxicidad de los metales (MARIGÓMEZ *et al.* 2002). El tejido muscular se ha considerado como un órgano receptor de metales, con muy poca participación metabólica en los procesos de metabolización y excreción de metales.

La alta tasa de bioacumulación de metales en los bivalvos se debe a su gran capacidad de filtración e incorporación de metales pesados a través de las branquias y los mismos son transportados por la hemolinfa a diferentes tejidos, con mayor acumulación en el hepatopáncreas y órganos excretores (EVTUSHENKO *et al.* 1990; SATISH & ROBINSON 2001). Por otra parte, los organismos fueron alimentados con microalgas y las mismas tienen la propiedad de bioacumular con gran rapidez los metales pesados como el Cd (ANSARI *et al.* 1997; ROMERO *et al.* 2001).

En la hemolinfa los niveles de cadmio fueron de $3,48 \pm 0,028$ $\mu\text{g/g}$, superiores a los observados en las células (pelet) ($0,110 \mu\text{g/g} \pm 0,072$) (Tabla 1). El transporte de los metales desde los sitios blanco o sitios de entrada pueden ocurrir a través de proteínas de la hemolinfa. Se ha señalado que una glicoproteína rica en histidina puede enlazar Cd y transportarlo a través de la hemolinfa, tal es caso del majillón *Mytilus edulis* LINNAEUS 1758 cuando está expuesto al metal (SATISH & ROBINSON 2001). Esta proteína presenta una masa molecular de 63 kDa y no es una metalotionina. Posiblemente, el incremento observado en los niveles de proteína plasmática en los ejemplares expuestos al metal este asociado con una mayor síntesis de esta proteína. Además de esta proteína, también se ha demostrado que *M. edulis* expuesto a Cu durante 5 días incrementó 1,7 veces los niveles de glutatión en la hemolinfa de este organismo (AL-SUBIAI & AWADHESH

TABLA 2. Concentración de iones en la hemolinfa del bivalvo *Lima scabra*. Se presentan los valores promedios y las desviaciones estándar (\pm SD) de cada parámetro, para los dos grupos estudiados, controles y expuestos a cadmio (Cd).

HEMOLINFA	Ca ²⁺ mmol/l	Na ⁺ mmol/l	K ⁺ mmol/l	Cl ⁻ mmol/l
Controles	8,12 \pm 1,73	497,00 \pm 12,82	8,80 \pm 1,04	521,33 \pm 32,72
Expuestos a Cd	7,29 \pm 2,64	464,40 \pm 21,01	8,48 \pm 0,87	454,33 \pm 21,01

2009). Aunque los niveles de cadmio enlazados a las células de la hemolinfa fueron bajos, se ha señalado la existencia de proteínas enlazadas a las membranas de los hemocitos que pueden transportar los metales y que además pueden ser del tipo metalotioninas (ALONSO & MARTIN-MATEO 1996). Sin embargo, en el caso de *L. scabra* este tipo de enlazamiento no parece ser importante en el transporte de Cd a través de la hemolinfa.

Los electrolitos analizados en la hemolinfa demostraron una disminución significativa de los niveles de Na⁺ (Fs = 5,46; p < 0,05) y Cl⁻ (Fs = 8,91; p < 0,05) en el grupo expuesto a Cd (Tabla 2). Mientras que los niveles de Ca²⁺ y K⁺ no mostraron variaciones significativas. En estudios de organismos expuestos a metales pesados (RICHARDS & PLAYLE 1999; LIGNOT *et al.* 2000; ROSE-JANES & PLAYLE 2000) se ha observado una disminución significativa de los niveles de Na⁺ y Cl⁻ en la hemolinfa. Dicha disminución de los niveles iónicos de Na⁺ y Cl⁻ se atribuye a la pérdida parcial o completa de la capacidad de osmo regulación e ióno regulación, ocasionada por la exposición a agentes contaminantes, estresores ambientales y patológicos. Diferentes causas de estas variantes incluyen alteraciones en la estructura y ultraestructura de los órganos branquiales y excretores, cambios en la actividad de la Na⁺/K⁺ ATPasa y alteración del flujo de iones y permeabilidad de la superficie. Estas alteraciones de la capacidad de osmo regulación e ióno regulación son consideradas como un bioindicador no específico por efecto de agentes perturbadores (RICHARDS & PLAYLE 1999; LIGNOT *et al.* 2000).

La determinación de proteínas totales en hemolinfa mostró diferencias significativas entre los dos grupos experimentales (Fs = 11,48; p < 0,05), siendo mayor para los organismos expuestos a Cd 7,019 mg/l \pm 3,423 que para los organismos no expuestos 4,123 mg/l \pm 0,795. El aumento en el contenido de proteínas totales en los

organismos contaminados, sugiere una posible alteración fisiológica, lo que ocasionaría la síntesis de proteínas producto de la presencia de Cd. Un aumento en los niveles de proteínas plasmáticas en los organismos contaminados con Cd podría estar asociado a una respuesta fisiológica para compensar los efectos del metal, que posiblemente estén relacionados a la síntesis de la glicoproteína rica en histidina que es capaz de transportar el Cd (SATISH & ROBINSON 2001). También podría deberse a proteínas de estrés que se expresan o sintetizan como consecuencia de la perturbación del metal (SIMKISS *et al.* 1982; WEBB & CAIN 1982; VIARENGO 1985; MOUNEYRAC *et al.* 1998; GÓMEZ 1998).

Los parámetros iónicos estudiados en tejidos (Tabla 3) reflejaron diferencias significativas en los tejidos de ambos grupos experimentales para el Ca²⁺ (Fs = 6,38; p < 0,05). Los niveles de Ca²⁺ y Cd en los tejidos del grupo expuesto al metal fueron mayores que los detectados en el grupo control. Los mayores valores de Ca²⁺ fueron registrados en músculo (0,24 mmol/g) del grupo control, mientras que en el grupo expuesto a Cd fue en el hepatopáncreas (0,75 mmol/g). Con respecto al K⁺ se encontraron diferencias significativas entre los tejidos (Fs = 7,32; p < 0,001) y entre los grupos experimentales (Fs = 9,50; p < 0,01), y la prueba *a posteriori* señaló la existencia de tres grupos homogéneos con las menores concentraciones en los restos de tejidos, una concentración intermedia en gónadas y hepatopáncreas y la mayor concentración en músculo. Por su parte en el Na⁺ se evidenciaron diferencias significativas entre los tejidos (Fs = 5,80; p < 0,01), y la prueba *a posteriori* señaló la existencia de dos grupos homogéneos uno representado por el músculo y las gónadas con los menores registros y otro constituido por los restos de

TABLA 3. Concentración de iones en los tejidos del bivalvo *Lima scabra*. Se presentan los valores promedios y las desviaciones estándar (\pm SD) de cada parámetro, para los dos grupos estudiados, controles y expuestos a cadmio (Cd).

		Ca ²⁺ mmol/g	Na ⁺ mmol/g	K ⁺ mmol/g
Músculo	Control	0,24 \pm 0,13	3,50 \pm 1,00	6,15 \pm 0,73
	Cd	0,36 \pm 0,14	4,42 \pm 3,00	4,38 \pm 1,01
Resto	Control	0,06 \pm 0,05	12,00 \pm 4,00	3,84 \pm 0,76
	Cd	0,31 \pm 0,02	5,00 \pm 2,58	2,58 \pm 0,30
Hepatopáncreas	Control	0,06 \pm 0,05	14,40 \pm 4,34	5,04 \pm 1,12
	Cd	0,75 \pm 0,66	6,50 \pm 3,00	3,43 \pm 0,67
Gónada	Control	0,18 \pm 0,06	4,00 \pm 2,45	3,92 \pm 0,90
	Cd	0,20 \pm 0,24	7,00 \pm 3,83	3,68 \pm 1,29

tejidos y hepatopáncreas con los mayores registros. Es evidente que los tejidos que presentaron mayor incorporación de Cd (hepatopáncreas y branquias) tuvieron los menores valores de Na^+ y los más altos niveles de Ca^{+2} , sugiriendo una alteración causada por el efecto tóxico del metal.

El Cd por ser un metal no esencial puede alterar el balance $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{+2}$ y además determina el reemplazo del Ca^{+2} produciendo selectividad en su paso por las membranas con un incremento en la concentración interna (VIARENGO 1985). El Cd es incorporado por la bomba de Ca^{+2} dado que los iones no tienen alta afinidad por los ligandos orgánicos y por lo tanto requieren de bombas para el transporte activo y así movilizarse en contra de un gradiente de concentración dentro o fuera de la célula. El Cd es tomado por los canales de las células de cloro en las branquias probablemente dependiendo de la energía generada por el sistema Na^+/K^+ ATPasa (PIVOVAROVA & LAGERSPETZ 1996).

En células de las branquias del pectínido *Mizohupecten yessoensis* (JAY 1857) se demostró que el Cd perturba los procesos metabólicos responsables de la biosíntesis de los lípidos en las membranas (CHELOMIN & BELCHEVA 1990). En *Mytilus galloprovincialis* LAMARCK 1819 expuesta a dosis de 1,78 μmol de cadmio mostró una significativa disminución en la actividad de la anhidrasa carbónica del manto (LIONETTO *et al* 2006). Por otro lado, BURKE *et al.* (2003) demostraron que la actividad de la ATPasa en tejido branquial del cangrejo *Carcinus maenas* (LINNAEUS 1758) es afectada por el cadmio y su efecto es aún mayor cuando la exposición se realiza a bajas salinidades. Todas estas alteraciones causadas por el cadmio explican una alteración en el equilibrio ácido básico en *L. scabra* expuesta a una dosis subletal del metal y se plantea que estas evaluaciones puedan ser utilizadas como biomarcadores de contaminación ambiental.

CONCLUSIONES

El cadmio se acumuló en los tejidos en el siguiente orden de magnitud: resto > hepatopáncreas > músculo > gónada. El Cd estuvo enlazado en mayor proporción a la fracción proteica de la hemolinfa en relación a la fracción celular. La incorporación de cadmio en la hemolinfa estuvo asociado a un incremento en los niveles de proteínas en los organismos contaminados, al mismo tiempo que este metal produjo una disminución los niveles de Cl^- y Na^+ en

la hemolinfa, con una concomitante disminución de estos iones en los tejidos somáticos.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, al Sr. ÁNGEL ANTÓN y YANET ANTÓN, por toda la colaboración suministrada.

REFERENCIAS

- ABBOTT, R. 1984. *American Seashells. The Marine Mollusca of the Atlantic and Pacific Coast of North America*. Van Nostrand Reinhold Co., New York. USA. pp 663.
- ACAGUA, A. 2008. *Variación estacional de Cu, Cd, Cr Pb Ni y Zn en Arca zebra (Mollusca: Bivalvia) de isla Criba, estado Sucre, Venezuela*. Trab. Grad. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, 53 pp.
- ACOSTA, V., C. LODEIROS, W. SENIOR & G. MARTINEZ. 2002. Niveles de metales pesados en sedimentos superficiales en tres zonas litorales de Venezuela. *Interciencia*. 27(12): 686-690.
- ALONSO, J. & M. MARTIN-MATEO. 1996. Induction and characterization of metallothionein in different organs of *Ostrea edulis* L. *Biol. Trace Elem Res.* 53 (1-3): 85-94.
- AL-SUBIAI, S. & J. AWADHESH. 2009. Contamination of bivalve haemolymph samples by adductor muscle components: implications for biomarker studies. *Ecotoxicol.* 18 (3): 334-342.
- ANSARI, Z., M. SALDANHA & R. RAJKUMAR. 1997. Effects of petroleum hydrocarbons on the growth of a microalga *Isochrysis* sp. (Chrysophyta). *Indian J. Mar. Sci.* 26: 372-376.
- BELMAR, M., J. ARMAS, D. BELMAR, W. RIVEROS & S. YEGRES. 1998. Iones extracelulares en invertebrados y vertebrados acuáticos y terrestres del Oriente de Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela*, 37 (1-2): 17-25.
- BURKE, J., R. HANDY & S. ROAST. 2003. Effect of low salinity on cadmium accumulation and calcium homeostasis

- in the shore crab (*Carcinus maenas*) at fixed free Cu^{2+} concentration. *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (11): 2761-2767.
- CHELOMIN, V. & N. BELCHEVA. 1990. Alterations of microsomal lipid synthesis in gills of bivalve mollusc *Mizuhopecten yessoensis* in response to cadmium accumulation. *Comp. Biochem. Physiol.* 99 (1-2): 1-5.
- COMPANY, R., A. SERAFIN, M. BEBIANO, R. COSSON, B. SHILLITO & A. FIALA-MEDIONI. 2004. Effect of cadmium, copper and mercury on antioxidant enzymatics and lipid peroxidation in the gills of the hidrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus*. *Mar. Environ. Res.* 58: 377-381.
- DÍAZ, J. & M. PUYANA. 1994. *Moluscos del Caribe Colombiano. Un catálogo ilustrado*. Editorial Presencia. Santa Fé de Bogotá, Colombia. 291 pp.
- EVTUSHENKO, Z., O. LUKYANOVA & N. BELCHEVA. 1990. Cadmium biaccumulation in organs of scallop *Mizuhopecten yessoensi*. *Mar. Biol.* 104: 247-250.
- GÓMEZ, J. 1998. *Efectos de la toxicidad del cobre y cadmio en una población natural del bivalvo Lima scabra (Born, 1778): Aspectos genéticos y reproductivos*. Trab. Grad. Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela. 147 pp.
- LEMUS, M. 2005. *Expresión de proteínas en el cangrejo Emerita portoricensis (Decapoda: Hippidae) por contaminación con mercurio*. Trab. Grad. Universidad Simón Bolívar, Sartenejas, Venezuela, 122 pp.
- LEMUS, M., C. LAURENT, A. ACAGUA, M. CABRERA, A. APONTE & K. CHUNG. 2010. Variación estacional de metales pesados en *Perna viridis*, de la localidad de Guayacán, península de Araya, estado Sucre Venezuela. *Biologist.* 8: 126-138.
- LIGNOT, L., C. SPANING & G. CHARMANTIER. 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture.* 191 (1-3): 209-245.
- LIONETTO, M., R. CARICATO, E. ERROI, M. GIORDANO & T. SCHETTINO. 2006. Potential application of carbonic anhydrase activity and biomarker studies. *Chem. Ecol.* 22: 119-125.
- LODEIROS, C., B. MARÍN & A. PRIETO. 1999. *Catálogo de moluscos marinos de las costas nororientales de Venezuela*. Clase Bivalvia. Edición APUDONS. Cumaná, Venezuela, 109 pp.
- LONG, A., C. LI, S. CHEN, W. YAN, A. DANG, Y. CHENG & D. LU. 2010. Ort-term metal accumulation and MTLP induction in the digestive of *Perna viridis* exposed to Zn and Cd. *J. Environ. Sci.* 22 (7): 975-981.
- LOWRY, D., N. ROSEBROUGH, A. FAVE & R. RANDALL. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- MARIGÓMEZ, I., M. SOTO, M. CAJARAVILLE, E. ANGULO & L. GIAMBERINI. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in mollusks. *Microsc. Res. Tech.* 56: 358-392.
- MARTÍNEZ G. 2002. Metales pesados en sedimentos superficiales del Golfo de Cariaco, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela*, 41 (1 & 2): 83-96.
- MCDOWELL, J. 1993. How marine animals respond to toxic chemicals in coastal ecosystems?. *Oceanus*, 36: 56-64.
- MOUNEYRAC, C., J. AMIARD & C. AMIARD-TRIQUET. 1998. Effects of natural factors (salinity and body weight) on cadmium, copper, zinc and metallothionein-like protein levels in resident populations of oysters *Crassostrea gigas* from a polluted estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 162: 125-135.
- PIVOVAROVA N. & K. LAGERSPETZ. 1996. Effect of cadmium on the ATPase activity in gills of *Anodonta cygnea* at different assay temperatures. *J. Therm. Biol.* 21: 77-84.
- RICHARDS, J. & R. PLAYLE. 1999. Protective effects of calcium against the physiological effects of exposure to a combination of cadmium and copper in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Zool.* 77 (7): 1035-1047.
- ROMERO, Y., C. LODEIROS, M. ESCLAPÉS, N. MARÍN, M.

- GUEVARA & E. MORALES. 2001. Efecto tóxico del cadmio sobre microalgas aisladas del nororiente de Venezuela. *Interciencia*, 27 (63): 104-109.
- ROSE-JANES, N. & R. PLAYLE. 2000. Protection by two complexing agents, thiosulphate and dissolved organic matter, against the physiological effects of silver nitrate to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in ion-poor water. *Aquat. Toxicol.* 51 (1): 1-18.
- SATISH, N. & W. ROBINSON. 2001. Cadmium binding to a histidine-rich glycoprotein from marine mussel blood plasma: Potentiometric titration and equilibrium speciation modeling. *Environ. Toxicol. Chem.* 20 (7): 1596-1604.
- SCRIBNER, R. & B. BELDING. 1970. Determination of chloride in the blood. *Proc. Staff Meeting Mayo Clin.* 25: 209-212.
- SIMKISS, K., M. TAYLOR & A. MASON. 1982. Metal detoxification and bioaccumulation in molluscs. *Mar. Biol.* 3: 187-201.
- SOKAL, R & F. ROHLF. 1997. *Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. Third Edition. W. H. Freeman and Company, New York. USA. 887 pp.
- VIARENGO, A. 1985. Biochemical effects of trace metals. *Mar. Poll. Bull.* 16 (4): 153-158.
- WEBB, M. & K. CAIN. 1982. Functions of metallothionein. *Biochem. Pharmacol.* 3: 137-142.
- WILLMER, P., G. STONE & I. JOHNSTON. 2000. *Environmental Physiology of Animals*. First Edition. Blackwell Science Ltd. Oxford, U.K. 644 pp.

RECIBIDO: Febrero 2011

ACEPTADO: Enero 2012