

## Cinética de incorporación del mercurio en *Emerita portoricensis* (Crustacea: Decapoda)

E. García<sup>1\*</sup>, M. Lemus<sup>1</sup> y K.S. Chung<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología de Organismos USB, Escuela de Ciencias, Departamento de Biología. Cumaná, Venezuela; emgarcia@usb.ve; mlemus@sucre.udo.edu.ve

<sup>2</sup>Instituto Oceanográfico de Venezuela, UDO, Cumaná 6101. Venezuela; kchung@telcel.ne

\* Correspondencia

Recibido 29-VI-2000. Corregido 3-VII-2000. Aceptado 6-VIII-2000.

**Abstract:** Benthic test species used in toxicity assays are the best indicators of sediment toxicity because they live in direct contact with sediments and the water column. Mercury chloride is one the most toxic metallic salts. Its strong affinity for particles explains the high Hg content found in benthic populations. The genus *Emerita* is abundantly found in Venezuelan coasts and is a good bioaccumulator of pollutants, but the toxicological assays performed on this genus are scarce. The present experimental test reports on the distribution of mercury in the water column and sediment, using static bioassay in short term (24hr) and the ability of *Emerita portoricensis* to bioconcentrate mercury under experimental conditions. Our results suggest that the Hg transference from water to sediment is enhanced in the presence of *Emerita*. The kinetic uptake of Hg in *Emerita portoricensis* shows a mechanism of rapid absorption reaching high metal concentrations in short exposure times.

**Key words:** Bioconcentration factor, mercury, *Emerita portoricensis*.

En ensayos de toxicidad con sedimentos contaminados, las especies bentónicas representan los mejores organismos indicadores para los estudios sobre capacidad de incorporación y bioconcentración de los metales pesados en ecosistemas arenosos, debido a su continua interacción con los sedimentos y el agua intersticial (Chapman *et al.* 1998).

La transferencia de metales pesados entre los diferentes compartimentos (agua-sedimentos) es el resultado de un gran número de acciones e interacciones de diferentes factores abióticos y bióticos (fase acuosa y particulada, especiación química, complejación, biotransformación, etc.) que finalmente definen la biodisponibilidad del metal.

La unión del metal con la fase de sedimentos generalmente reduce la disponibilidad del mismo, pero aumenta el tiempo de exposición, dado que este tipo de enlaces favorece la permanencia de los iones metálicos en ese compartimento. Sin embargo, una complejación por partículas del agua aumenta la movilización del metal y favorece su transporte con las corrientes del sistema (Mikac *et al.* 1980, Bryan y Langston 1992, Allen y Hnasen 1996).

Dependiendo de la disponibilidad del metal, la ruta de entrada y el número de barreras biológicas que separan al organismo del compartimento externo (branquias, exoesqueleto, pared, caparazón, etc) se

puede observar diferentes grados de acumulación dentro del organismo (Baudrimont *et al.* 1997). Este proceso de acumulación está relacionado a su vez, con los mecanismos de almacenamiento intracelular o captación de los metales por vesículas, gránulos o proteínas tipo metalotioninas, jugando un papel regulador de la cinética de incorporación y detoxificación en la mayoría de los organismos (Roesijadi 1992).

Numerosos estudios sobre toxicidad se han llevado a cabo en especies de los grupos: anélidos, crustáceos, moluscos y gasterópodos (Torreblanca *et al.* 1992), pero no con el género *Emerita* de los crustáceos decápodos. Gran parte de los estudios llevados a cabo en este género están relacionados con la ecología, dinámica poblacional y aspectos biométricos en especies de este género en otras latitudes (Efford 1966, 1969, Barnes y Wenner, 1968, Dillery y Knapp 1970, Díaz 1980, Díaz y Costlow 1987, Sastre 1990, Dugan *et al.* 1991, 1994).

Este género está representado por dos especies de alta abundancia en las costas venezolanas, las cuales podrían utilizarse para llevar a cabo ensayos de toxicidad en condiciones de laboratorio y de campo, dado que se ha demostrado que acumulan concentraciones significativas de metales en ambientes contaminados (Pérez *et al.* 1989). Monitoreos ambientales realizados sobre el mercurio, en la costa centro occidental de Venezuela (Golfo Triste), mostraron la alta capacidad de acumulación que posee esta especie, en comparación con otros organismos bentónicos (Pérez 1999, en prensa).

Con base en el potencial tóxico del mercurio y la alta concentración de este metal en organismos de *Emerita* provenientes de ambientes contaminados, el objetivo del presente estudio fue determinar, experimentalmente, la capacidad de incorporación de mercurio en *E. portoricensis* y su relación con la transferencia del metal entre los compartimentos agua y sedimento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares de *E. portoricensis* fueron recolectados manualmente en la playa de los Bordonos, Cumaná, Venezuela (10° 30' N, 64° 9' W) y se trasladaron al laboratorio, donde se seleccionaron las hembras adultas en estadio reproductivo avanzado. El lapso de aclimatación fue de 15 días, tiempo durante el cual se alimentaron con *Tetracelmis chui* y nauplios de artemia.

Para determinar la cinética de incorporación de mercurio se utilizaron acuarios de PVC 502030 cm, preparados con 3 l de agua de mar filtrada con papel Whatman 42 y Millipore 45 m y dos kg de arena esterilizada. La granulometría de la arena fue: 70% de 250  $\mu\text{m}$ ; 13% de 177  $\mu\text{m}$  y 10% con 177  $\mu\text{m}$ . La temperatura promedio de los ensayos fue de 24°C, con un fotoperíodo de 12/12 hr y la concentración de oxígeno disuelto estuvo comprendida entre 5.9-6.5 mg/l. Fueron colocados 15 ejemplares en los acuarios experimentales. En todas las experiencias se utilizó el mismo diseño con agua-sedimentos y organismos sin Hg, como control del experimento, sin detectarse trazas del metal en ningún compartimento.

**Transferencia del mercurio y cinética de absorción:** Los acuarios fueron contaminados con 1 ppm de mercurio (preparado a partir de  $\text{HgCl}_2$ ), y se determinó una concentración de Hg inicial promedio de 1.0140.01 ppm. El tiempo de exposición fue de 24 hr.

El acuario I fue utilizado para el control de evaporación del Hg, el II y III se utilizaron para la transferencia del metal en los compartimentos agua-sedimento en presencia y ausencia de organismos. Todas las experiencias se realizaron, al menos, por duplicado. El acuario IV fue utilizado para la cinética de incorporación en los ejemplares de *Emerita* y fue cuadruplicado, una repetición para obtener organismos completos y otra para disectarles en caparazón y parte blanda (Fig.1).

**Análisis de Mercurio:** Para determinar la concentración de mercurio en cada uno de los compartimentos se tomaron muestras de

CUADRO 1

Concentración de mercurio en agua durante la exposición de *Emerita portoricensis* a 1 ppm de Hg por 24 h.

TABLE 1

Mercury concentration in water during exposure of *Emerita portoricensis* to 1 ppm of Hg for 24 h.

	Tiempo (horas)						Fs	Scheffe
	0	1	3	6	12	24		
A I	1.01±	0.94±	1.02±	0.89±	0.88±	0.88±	2.95ns	
N=2	0.009	0.080	0.098	0.003	0.008	0.03		
A II	1.03±	0.93±	0.89±	0.81±	0.75±	0.56±	9.31***	0 1 3 6 12 24
N=3	0.058	0.082	0.050	0.140	0.132	0.045		
A III	0.99±	0.73±	0.45±	0.32±	0.24±	0.05±	82.14***	0 1 3 6 12 24
N=4	0.040	0.119	0.087	0.092	0.049	0.012		

AI Agua de mar y 1 ppm de Hg; AII Agua de mar, 1 ppm de Hg y sedimento y AIII agua de mar, 1 ppm de Hg, sedimento y organismos. El cuadro muestra los valores promedios y la desviación estándar, A= Acuarios y N= número de repeticiones.

ns: no existen diferencias significativas

\*\*\*  $p < 0.001$

agua, sedimento y organismos a 1, 3, 6, 12 y 24 horas de exposición al metal. Un ml de agua de mar y 2 g de arena fueron tomados por duplicado en los acuarios I, II y III. En el acuario IV se tomaron las muestras correspondientes a: organismo completo, parte blanda y caparazón, para realizar las determinaciones de mercurio.

Todas las muestras fueron tratadas de acuerdo con el procedimiento EPA (Anónimo 1976), mediante una digestión ácida con  $H_2SO_4:HNO_3$  (1: 1 v/v) a 60°C durante 6 hr. El mercurio total fue oxidado con  $KMnO_4$  y medido mediante la técnica de vapor frío (Beatty 1978) en un espectrofotómetro Perkin Elmer (modelo 2380) con un límite de detección de 0.02  $\mu g/ml$ . La concentración fue referida con base en el peso húmedo y cada

muestra fue leída por duplicado. La precisión y reproductibilidad del método fue determinada utilizando patrones de Hg certificados.

Para determinar si existen diferencias significativas en la concentración del metal en agua, sedimento y organismos, se realizaron análisis de varianza sencillos considerando los tiempos de exposición. En las pruebas que resultaron ser diferentes significativamente se realizaron análisis *a posteriori* de Scheffe.

## RESULTADOS

La concentración inicial de Hg en el compartimento agua presentó un valor promedio de 1.010.01 ppm en todas las experiencias, sin mostrar diferencias significativas durante

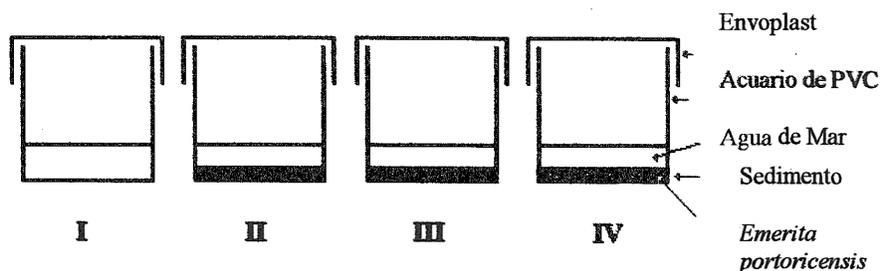


Fig. 1. Diseño experimental. *Emerita portoricensis* expuesta a 1 ppm de Hg durante 24 horas. Acuarios: I Agua de mar, 1 ppm de Hg. (control); II Agua de mar, 1 ppm de Hg y sedimento. III. Agua de mar, 1 ppm de Hg, sedimento y 15 organismos (transferencia del Hg). IV Agua de mar, sedimento, 1 ppm de Hg y 15 organismos (cinética de Hg).

Fig. 1. Experimental design. *Emerita portoricensis* exposed to 1 ppm of Hg for 24 h.

Aquaria: I Sea water, 1 ppm of Hg. (control); II Sea water, 1 ppm of Hg and sediment. III. Sea water, 1 ppm of Hg, sediment and 15 organisms (transference of Hg). IV Sea water, sediment, 1 ppm of Hg and 15 organisms (kinetics of Hg).

CUADRO 2

Concentración de mercurio en sedimento durante la exposición de *Emerita portoricensis* a 1 ppm de Hg por 24 h.

TABLE 2

Mercury concentration in sediment during exposure of *Emerita portoricensis* to 1 ppm of Hg for 24 h.

	Tiempo (horas)						Fs	Scheffe
	0	1	3	6	12	24		
A II	0.03	0.13	0.17	0.28	0.30	0.39	90.26***	<u>0 1 3 6 12 24</u>
N=3	0.003	0.021	0.029	0.039	0.021	0.010		
AIII	0.03	0.39	0.77	0.78	0.83	0.89	59.73***	<u>0 1 3 6 12 24</u>
N=4	0.015	0.054	0.124	0.120	0.098	0.047		

\*\*\*  $p < 0.001$  AI Agua de mar; AII Agua de mar, sedimento, 1 ppm de Hg; AIII Agua de mar, sedimento, 1 ppm de Hg y organismos. El cuadro muestra los valores promedios y la desviación estándar, A= Acuarios y N= número de repeticiones.

el tiempo de exposición de 24 hr. Se observó una concentración promedio de 0.870.03 ppm al final del ensayo, lo cual representa una pérdida del 12% de la concentración inicial en dicho compartimento (Cuadro 1).

La columna de agua en presencia de sedimentos mostró una disminución significativa del Hg a partir de las 6 hr de ensayo, alcanzando a las 24hr un valor mínimo de 54% de la concentración inicial. Así mismo, en presencia de organismos, el agua de mar mostró una disminución de 99.9% al final del ensayo. Este proceso de disminución significativa del metal en la columna de agua, es detectado a partir de las 3 hr (Cuadro 1).

Los análisis de Hg en el compartimento

de los sedimentos muestran un comportamiento inverso a la disminución observada en la columna de agua. En el Cuadro 2 se puede observar que la concentración del metal en el sedimento sigue un aumento proporcional en el tiempo. Sin embargo, este mecanismo de transferencia es acelerado y magnificado, en valor de concentración (ppm), en presencia de organismos en el sistema analizado.

En las experiencias de la cinética de incorporación de Hg en *E. portoricensis*, los ejemplares utilizados fueron hembras adultas maduras, con una talla promedio de cefalotorax de 2.5 a 3.8 cm, en los cuales no fue detectada la presencia de Hg en los ensayos

CUADRO 3

Factor de bioconcentración de mercurio en *Emerita portoricensis* durante la exposición a 1 ppm de Hg por 24 h.

TABLE 3

Mercury bioconcentration factor in *Emerita portoricensis* during exposure to 1 ppm of Hg for 24 h.

Factor de bioconcentración	(horas)					Fs	Scheffe
	1	3	6	12	24		
3.88	8.41	14.74	48.33	171.99	179.95***	<u>1 3 6 12 24</u>	
0.39	2.58	2.10	5.29	22.53			

El cuadro muestra los valores promedios y la desviación estándar. N=6

\*\*\*  $p < 0.001$

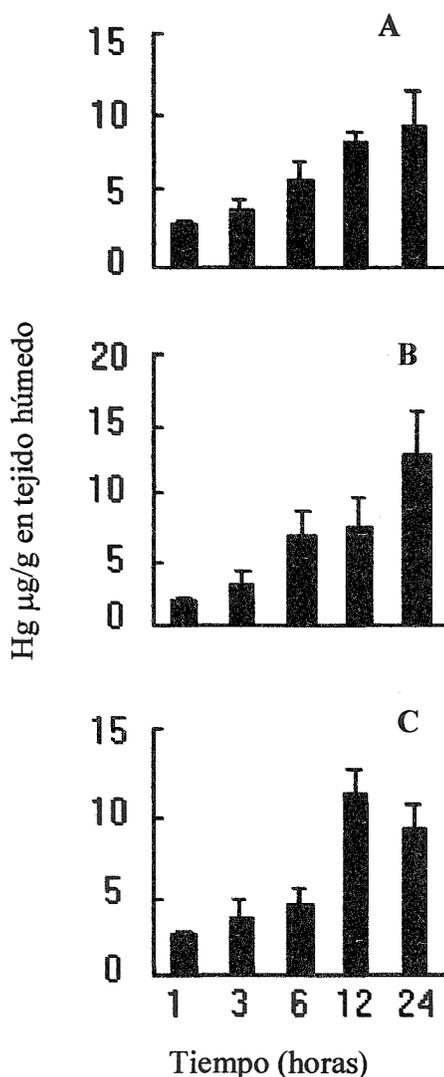


Fig. 2. Concentración de mercurio en *Emerita portoricensis* expuesta a 1 ppm de Hg durante 24 h. A: Organismo completo, (Fs=32.54,  $p < 0.001$ ), Scheffe 1 3 6 12 24. B: Caparazón (Fs=22.22  $p < 0.001$ ) 1 3 6 12 24. C: Tejido blando (Fs: 60.47,  $p < 0.001$ ) 1 3 6 12 24. Las barras representan los valores promedios y las líneas la desviación estándar. N=6

Fig. 2. Mercury concentration in *Emerita portoricensis* exposed to 1 ppm of Hg for 24 h. A: whole organism, (Fs=32.54,  $p < 0.001$ ), Scheffe 1 3 6 12 24. B: Carapace (Fs=22.22  $p < 0.001$ ) 1 3 6 12 24. C: Soft tissue (Fs: 60.47,  $p < 0.001$ ) 1 3 6 12 24. Bars: means, Lines: standard deviation. N=6

control. En la Fig. 2A se muestra la cinética de incorporación del Hg en los organismos enteros (tejido blando—caparazón), obteniéndose valores significativos de Hg a partir de las tres horas de exposición. A las 12 hr se observó un incremento que muestra su máximo de incorporación al final del ensayo. Por otra parte, la disección de los organismos permitió diferenciar la concentración de Hg adsorbida al caparazón (Fig.2B) y aquella que se encuentra intracelularmente en el tejido blando (Fig.2C). Estos resultados muestran una adsorción no significativa del metal al caparazón entre 1 y 3hr. Sin embargo, a partir de 6 hr el incremento de la adsorción es significativo hasta alcanzar su máximo valor al final del ensayo. La concentración intracelular de Hg a nivel del tejido blando muestra valores en ascenso significativo hasta 12 hr de exposición, sin embargo, indica una estabilización de la acumulación a partir de ese momento y hasta las 24hr.

Los factores de bioconcentración (FBC) son definidos por la relación entre la concentración de Hg en el organismo (tejido blando) y la concentración en el agua (Rand y Petrocelli 1985) para cada uno de los tiempos de la cinética. Los valores obtenidos (Cuadro 3) indican que los FBC mantienen una relación directa con el tiempo de exposición, aumentando significativamente para cada tiempo analizado. Los organismos poseen la capacidad de acumular en dos órdenes de magnitud en ppm, la concentración a la cual fueron expuestos en el tiempo inicial del ensayo.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran tres aspectos importantes en relación con los ensayos toxicológicos y la capacidad de bioconcentración del crustáceo *E portoricensis*. 1. Se evidenció la transferencia del mercurio a escala de un microsistema cerrado (agua-sedimento) en condiciones de laboratorio y la contribución de la biota, en este caso *Emerita*, en la

dinámica de dicho proceso. 2. Se detectó la incorporación del metal dentro del organismo en tiempos de exposición cortos (24 hr), mostrando así la capacidad de absorción de dicha especie. 3. Se demostró el potencial de *E. portoricensis* como organismo bioconcentrador de metales pesados en los ambientes acuáticos.

El proceso de transferencia de los metales de la columna de agua a los sedimentos depende generalmente de factores complejos, tanto abióticos como bióticos, que definen la partición del tóxico en ambos compartimentos. En los ensayos de distribución de Hg entre agua y sedimentos se pudo observar que el porcentaje de pérdida por evaporación o adsorción a las paredes del acuario, cuando el compartimento agua está solo, no representó más de 12% de la concentración inicial utilizada, a pesar de ser uno de los metales con menor temperatura de evaporación (Forstner y Withman, 1981). En presencia de sedimentos, la concentración de Hg en el agua después de 24 hr se mantiene en 53% de su concentración inicial. Los sedimentos, los cuales inicialmente no contenían Hg, a las 24 hr contienen una cantidad significativa del metal (0.390.01 ppm). Esta transferencia o flujo entre ambos compartimentos ha sido señalada por otros autores como el producto de la gran afinidad del Hg por las partículas del sedimento (Langston 1985), así como de procesos de unión entre los posibles elementos del sedimento, como el hierro y manganeso en forma de hidróxidos, con el carbón orgánico particulado. Por otra parte, sustancias húmicas que pueden estar presentes en la fracción particulada del sedimento han sido reportadas como importantes enlazadores de los metales pesados (Chapman *et al.* 1998). Todos estos procesos químicos antes mencionados, son incrementados por la presencia de organismos bentónicos como *Emerita*. Los resultados muestran, a 24 hr de exposición, una transferencia al sedimento de aproximadamente 90% del Hg soluble presente en la columna de agua. Esta aceleración en el proceso de transferen-

cia puede ser explicada por diversos factores dependientes de los organismos presentes: 1. El constante movimiento del sedimento producido por un organismo filtrador como *Emerita* aumenta la interacción entre éste y la columna de agua, favoreciendo el intercambio entre ambos compartimento. 2. La posible excreción de mucus, formado por ácido siálico, el cual acelera la sedimentación de los iones metálicos (Eddy y Fraser 1992).

La importancia de los organismos dentro de la dinámica de los metales pesados entre agua y sedimento ha sido también demostrada con metales esenciales, como Cu y Zn por Marcano *et al.* (1992)- El observó incrementos de la concentración inicial de estos metales en el sedimento, de 0.5 y 10 ppm a 4 y 15.6, respectivamente, en presencia de *Euritoe coplanata* durante 7 días de ensayo.

Este tipo de resultados han sido observado en presencia de organismos como oligoquetos, larvas del género *Diptera*, crustáceos y moluscos, confirmando que la bioperturbación que ejercen sobre las capas superficiales de sedimento contribuye de manera importante al intercambio y biodisponibilidad de los iones metálicos en los compartimentos agua y sedimentos (Deaver y Rodgers 1996).

El análisis de incorporación del Hg en *E. portoricensis* mostró que este organismo posee la capacidad de absorber el ion metálico y concentrarlo intracelularmente, como se observa en la Fig.(2C). La separación entre caparazón y tejido blando nos permite diferenciar dos tipos de procesos: uno pasivo de quelación y adsorción al caparazón y otro activo de incorporación dentro del organismo. El proceso pasivo es bien conocido hoy en día por la gran afinidad que presentan los metales pesados por el carbonato de calcio, donde queda inmovilizado el ion, sin penetrar al resto del organismo; esta unión puede ser alterada por el pH del medio y la salinidad, haciendo disponible de nuevo la forma libre del metal (Chapman *et al.* 1998). Los procesos activos de incorporación ocurren

generalmente vía aparato branquial, donde el flujo de agua permite, a su vez, el flujo del Hg, como ha sido demostrado en diferentes organismos bentónicos (Bianchini y Gilles 1996). En *E. portoricensis*, no ha sido estudiada hasta el momento la principal vía de entrada del Hg, sin embargo, su distribución a nivel intracelular, sugiere al tejido branquial como órgano acumulador (García y Lemus, en preparación).

Otra característica que debe ser tomada en cuenta en este tipo de organismos, es la presencia de exoesqueleto e integumentos externos, los cuales muestran una gran capacidad de adhesión de metales pesados, sin alterar significativamente el metabolismo del organismo (Barnes 1997).

Todos estos elementos (caparazón-exoesqueleto-tejido blando) están incluidos en la concentración reportada como organismo entero (Fig.2A). Se observa que a partir de 12 hr de exposición, tanto en el organismo entero como en el tejido blando, las concentraciones acumuladas en *Emerita* no muestran diferencias significativas, lo que sugiere una posible estabilización en el proceso de incorporación, o una saturación de los sitios de enlace, así como del propio mecanismo activo de absorción del metal. Esta acumulación de Hg en *E. portoricensis* es magnificada al calcular los valores del factor de bioconcentración, ya que, en este caso, la relación se establece con base en la concentración detectada en el agua, para cada uno de los tiempos de exposición. A pesar de ser tomada en cuenta exclusivamente la concentración en los tejidos blandos del organismo, los valores muestran una bioconcentración de dos órdenes de magnitud superior a la concentración del medio circundante, sin mostrar efectos observables visualmente de daño fisiológico o de alguna intoxicación aparente. Esto contrasta con los resultados obtenidos de algunas especies eurialinas de cangrejos, en las cuales la misma concentración de Hg (1 ppm) es letal, a tiempos de exposición similares. (Bianchini y Gilles 1996).

Los factores de bioconcentración son una relación entre las concentraciones en el medio exterior y en los organismos. Estos factores definen la capacidad de los organismos de almacenar diferentes tóxicos y en consecuencia, de adquirir concentraciones superiores a las detectadas en el medio circundante. Por ello, han sido utilizados como punto de referencia para evaluar la capacidad de bioacumulación y biomagnificación en los procesos de transferencia a nivel de cadena trófica en los diferentes ecosistemas.

Por esta razón, la capacidad mostrada por *E. portoricensis* de almacenar altas concentraciones de mercurio en cortos períodos, sin causar mortandad en el organismo, sugiere la utilización de esta especie tropical como un excelente organismo bioindicador de ambientes marinos costeros contaminados.

#### AGRADECIMIENTO

Esta investigación ha sido financiada por el Decanato de Investigaciones de la Universidad Simón Bolívar y por el Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente.

#### RESUMEN

En los ensayos de toxicidad, los organismos bentónicos han sido los mejores indicadores para el estudio de los contaminantes, dada su continua interacción con el sedimento y la columna de agua. El mercurio representa uno de los iones metálicos de mayor toxicidad y con gran afinidad con las partículas del sedimento y por esta razón, se ha reportado grandes concentraciones de este metal en las poblaciones de organismos bentónicos. El género *Emerita* es muy abundante en las costas venezolanas y es un buen bioacumulador de contaminantes, sin embargo son muy escasos los ensayos toxicológicos realizados con este género. Este estudio reporta la distribución del Hg en la columna de agua y los sedimentos, mediante de

ensayos estáticos de corta duración (24 hr) y discute la capacidad de *E. portoricensis* para bioconcentrar mercurio en condiciones de laboratorio. Los resultados obtenidos indican que la dinámica de transferencia del Hg entre el agua y los sedimentos es incrementada por la presencia de *Emerita* en los ensayos. Por otro lado, el análisis de la cinética de incorporación del Hg en *E. portoricensis* mostró una rápida absorción del metal, alcanzando altas concentraciones, en tiempos de exposición cortos.

### REFERENCIAS

- Allen, H.G. & D.J. Hnasen. 1996. The importance of trace metal speciation to water quality criteria. *Water Environ. Res.* 68: 42-54.
- Anónimo. 1976. Manual of methods of chemical analysis of water and wastes. Environmental Protection Agency. Springfield. 11838 p.
- Barnes, N. & A.M. Wenner. 1968. Seasonal variation in the sand crabs *Emerita analoga* (Decapoda: Hippidae) in the Santa Barbara area of California. *Limnol. Oceanogr.* 13: 465-475
- Barnes, R. 1997. Zoología de Invertebrados. Interamericana. 826 p.
- Baudrimont, M., J. Metivaud, R. Maury-Brachet, F. Ribeyre & A. Boudou. 1997. Bioaccumulation and Metallothionein response in the asiatic clam (*Corbicula fluminea*) after experimental exposure to cadmium and inorganic mercury. *Environm. Toxicol. Chem.* 16: 2096-2105.
- Beatty, R. 1978. Concepts, instrumentation and techniques in atomic absorption spectrophotometry. Perkin-Elmer Corp. USA 49 p.
- Bianchini A. & R. Gilles 1996. Toxicity and accumulation of mercury in tree species of crabs with different osmoregulation capacities. *Bull. Environm. Cont. Toxicocol.* 57: 91-98.
- Bryan, G.W. & W.J. Langston. 1992. Bioavailability accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environ. Pollut.* 76: 89-131.
- Chapman, P.M., F. Wang, C. Janssen, G. Persoone & E. Allen. 1998. Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment and remediation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55: 2221-2243.
- Deaver, E. & J. H. Rodgers. 1996. Measuring bioavailable copper using anodic stripping voltammetry. *Environ. Toxicol. Chem.* 15: 1925-1930.
- Diaz, H. 1980. The mole crab *Emerita talpoide* (Say): a case of changing life history pattern. *Ecol. Monogr.* 50: 456-477.
- Diaz, H. & J. Costlow. 1987. Seasonal developmental sequences of *Emerita talpoide* (Say) (Anomura: Hippidae). *J. Coast. Res.* 3: 169-177.
- Dillery, D. G. & L. V. Knapp. 1970. Longshore movements of sandcrab *Emerita analoga* (Decapoda: Hippidae). *Crustaceana.* 18: 233-240.
- Dugan, J. E., A. M. Wenner & D.M. Hubbard. 1991. Geography variation in the reproductive biology of the sand crab *Emerita analoga* (Stimpson) on the California coast. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 150: 63-81.
- Dugan, J.E., D.M. Hubbard & A.M. Wenner. 1994. Geographic variation in life history of the sand crabs *Emerita analoga* (Stimpson) on the California Coast. Relationships to environmental variables. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 181: 255-278.
- Eddy, F. B. & J. E. Fraser. 1982. Sialic acid and mucus production in rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson) in response to zinc and seawater. *Comp. Biochem. Physiol.* 73: 357-359.
- Efford, I. A. 1966. Feeding in the sand crabs *Emerita analoga* (Decapoda: Hippidae) *Crustaceana* 10: 167-182.
- Efford, I. A. 1969. Eggs size in the crab, *Emerita analoga* (Decapoda: Hippidae) *Crustaceana* 16: 15-26.
- Forstner, U. & G.T. Whitman. 1981. Metal pollution in the environment. Springer, Berlin Heidelberg New York. 483 p.
- Langston, W.J. 1985. Assessment of distribution and availability of arsenic and mercury in estuaries. In Wilson, J.E. & W Halcrow (eds.). *Estuarine Management and Quality*. Plenum, Nueva York. 131-146 p.
- Marcano, L. 1992. Acumulación y depuración de zinc y cobre en relación con el perfil de metalotioninas en el poliqueto *Eurytoe coplanata* (Anelida: Amphino-midae). Trabajo de grado para optar al título de Magister Scientiarum, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- Mason, A.Z. & J.A. Nott. 1980. The kinetics of zinc accumulation by the marine prosobranch gasteropod *Littorina littorea*. *Mar. Environ. Res.* 24: 135-139.
- Mikac, N., M. Picer, P. Stegnar & T.M. Tusek. 1985. Mercury distribution in a polluted marine area, ratio of total mercury methyl mercury and selenium in sediments, mussels and fish. *Water Res.* 19: 1389-1392.
- Pérez D. 1999. Mercury levels in mole crabs *Hippa cubensis*, *Emerita brasiliensis*, *E. portoricensis* and *Lepidopa richmondi* (Crustacea: Decapoda: hippidae) from a sandy beach at Venezuela. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* (en prensa).

- Pérez, D., R. Reyes & J. Pérez. 1989. Estudio de las concentraciones de mercurio en material biológico, en: Línea base de referencia de la contaminación de Golfo triste y áreas adyacentes. Pequiven-USB.
- Roesijadi, G. 1992. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquat. Toxicol.* 22: 81-114.
- Sastre, M.P. 1990. Relationship between life history stages and population fluctuations in *Emerita portoricensis*. *Bull. Mar. Sci.* 47: 256-235.
- Torreblanca, A., J. Ramos & J.D. Mayans. 1992. Changes in biochemical composition of gills, hepatopancreas and muscle of the red crayfish *Procambarus clarkii* (Girard) after sublethal exposure to mercury. *Comp. Biochem. Physiol.* 102: 247-252.