

Metales traza en el pepino de mar *Holothuria (Halodeima) mexicana* del Caribe de Costa Rica

María Teresa Rojas¹, Jenaro A. Acuña^{1,2,3} y Olga M. Rodríguez¹

¹Escuela de Química, Universidad de Costa Rica, 2060 San José, Costa Rica.

²Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología, CIMAR, Universidad de Costa Rica, 2060 San José, Costa Rica. fax: (506) 253-5661 Correo electrónico: jacuna@cariari.ucr.ac.cr

³Centro de Investigación en Contaminación Ambiental, CICA, Universidad de Costa Rica, 2060 San José, Costa Rica.

(Rec. 26-II-1998. Rev. 15-IV-1998. Acep. 5-VII-1998)

Abstract: The concentrations and in-tissue distributions of six metals, were determined in sea-cucumbers *Holothuria (Halodeima) mexicana* Ludwig 1875 from the Costa Rican Caribbean sea, by the atomic absorption technique. The samples were taken over a period of 16 months between October 1987 and December 1989, with sizes ranging between 17 and 25 cm long and weights from 280 to 600 g. The metal concentration ranges (mg kg⁻¹, dry weight), were Cd 0.1-2.5; Pb 0.2-26; Mn 4.1-46; Cu 1.3-69; Zn 14-174; Fe 20-1044, and the respiratory tree was the structure that showed in general the higher levels of metals, except for Cu and Pb which were higher in the muscles and the body wall, respectively. This paper constitutes an important data base for future comparisons dealing with activities involving coastal impact, since there is no previous information about trace metal content in similar species from this region of the Caribbean.

Key words: Trace metals, Holothuroidea, sea cucumber, coral reefs, Costa Rica, Caribbean sea.

Un ecosistema costero de gran relevancia por su diversidad de especies, es el arrecife coralino. En Costa Rica, el arrecife del Parque Nacional Cahuita, en la costa caribeña (9° 40'N, 82°46'W), está siendo afectado por diferentes actividades antrópicas y desde finales de los años setentas se ha observado un desarrollo coralino pobre, zonas crecientes de coral muerto, aguas muy turbias y una disminución aparente en la abundancia de peces (Murillo & Cortés 1984, Cortés *et al.* 1984, Cortés & Risk 1984, 1985, Cortés & Guzmán 1985, Cortés 1990). En este arrecife repercute una fuerte corriente costera superficial con dirección sureste, receptora de las descargas de importantes ríos y de aguas servidas de la Ciudad de Limón y de otros pueblos costeros, razón por la cual se debe poner especial interés en conocer todas aquellas variables que impliquen un impacto ambiental real o potencial

sobre el arrecife. Los estudios de contaminación del arrecife, localizado frente a Puerto Vargas, han incluido una vigilancia sobre la contaminación por petróleo (Acuña 1993) y un inventario sobre metales pesados en el esqueleto del coral *Siderastrea siderea* y en los sedimentos coralinos (Guzmán & Jiménez 1992).

Por lo general, se emplean los resultados de los análisis químicos en muestras de bivalvos para avalar ciertos problemas relacionados con la contaminación costera, teniéndose presente que el uso de biomonitores introduce una serie de variables biológicas, tales como la especie, su peso, edad, sexo, época de reproducción, dieta y mecanismos de ingestión, estrategias de acumulación y depuración, entre otros, que condicionan la información para hacer únicamente comparaciones intraespecíficas (Rainbow & Phillips 1993). Un programa inter-

nacional de gran éxito ha sido el conocido como "Mussel Watch", que ha involucrado a muchos países en los que se han colectado muestras de bivalvos, para analizar el contenido de plaguicidas organoclorados y bifenilos policlorados. Los laboratorios del CIMAR y de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica, han colaborado con apoyo logístico como centros de acopio de muestras locales y regionales. En este contexto, inspecciones previas revelaron que los bivalvos del arrecife del Parque Nacional Cahuita son fundamentalmente perforadores y difíciles de localizar, por lo que en apariencia no se dispone del biomonitor idóneo para esta zona. No obstante, los pepinos de mar (*Holothuria (Halodeïma) mexicana* Ludwig 1875) constituyen un componente abundante de su megafauna invertebrada bentónica y puesto que podrían satisfacer varias de las características que ha de tener un organismo para que pueda ser utilizado como biomonitor (Lauenstein *et al.* 1993), resulta oportuno establecer los niveles de concentración de algunas sustancias potencialmente contaminantes del medio ambiente y que están o pueden estar presentes en estos organismos, de manera que se provea una base para estimar las perturbaciones del ecosistema que estén ocurriendo o que ocurran en el futuro (Zauke *et al.* 1996), por ejemplo, en función de concentraciones altas atípicas de metales en los tejidos de pepinos de mar (Rainbow & Phillips 1993).

El objetivo de este estudio fue evaluar los niveles de concentración de seis metales en varios tejidos de pepinos de mar del arrecife coralino, para contribuir en una etapa inicial a los estudios de selección de organismos bio-monitores de contaminación por metales. Cuatro de los metales analizados (cobre, cadmio, plomo y zinc), por lo general están asociados con fuentes antropogénicas y los otros dos (hierro y manganeso), son abundantes en las fases sólidas de la mayoría de los ambientes (Hall *et al.* 1996). Posteriormente, será necesario diseñar los estudios toxicocinéticos que permitan estimar el posible incremento en la variabilidad de las concentraciones de los metales en los tejidos de pepinos de mar, de manera que se logre valorar la calidad ambiental del arrecife en lo que respecta a la presencia de los metales ~~traza~~.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los metales cadmio, cobre, zinc y plomo, se obtuvieron de la Environmental Protection Agency de los Estados Unidos de Norteamérica (EPA), con porcentajes de pureza certificados de más del 99%. Se emplearon sulfato de hierro (II) y aluminio, y cloruro de manganeso (II) tetrahidratado, ambos de pureza 99.99% y se bidestiló el ácido nítrico concentrado, calidad reactivo analítico.

En la digestión de las muestras se utilizó un reactor a presión, de acero inoxidable con recipiente de teflón de 50 ml de capacidad. Las condiciones de trabajo fueron a 200 °C y 200 bar, durante 25 min. Todos los materiales plásticos se limpiaron con detergente, agua del grifo y agua destilada; se dejaron en reposo por 12 horas en ácido nítrico al 15% y se enjuagaron con agua bidestilada y desionizada. Se empleó un espectrofotómetro de absorción atómica (EAA), con atomización de llama y corrector de fondo, marca Shimadzu, modelo AA-670.

Se muestreó entre octubre de 1987 y diciembre de 1989, a profundidades entre 2-3 m y a una distancia de 50-100 m de la costa, dentro de la cresta interna del arrecife frente a Puerto Vargas, logrando colectar un total de 35 especímenes en 16 muestreos. No se discriminó entre los organismos con la superficie ventral blanquizca o rojiza y se procuró emplear sólo adultos, los que usualmente tienen la superficie dorsal de color gris, café o negra (Hendler *et al.* 1995). Las muestras se almacenaron en bolsas de plástico lavadas con HNO₃ y se trasladaron en hieleras al laboratorio, donde se conservaron a -20 °C hasta el momento del análisis. Los datos sobre la precipitación (mm) en Cahuita, período 1987-1989, fueron proporcionados por el Instituto Meteorológico Nacional de Costa Rica (IMN).

Para cada muestra se separaron los músculos, la cubierta corporal, la dermis, el árbol respiratorio y los túbulos de Cuvier. Todas las muestras fueron homogeneizadas individualmente y porciones de 0.5 g de cada tejido, desecadas a 85 °C, se digirieron con 4.7 ml de ácido nítrico bidestilado; el volumen final se ajustó a 10.0 ml con agua desionizada-bidestilada y se conservaron en recipientes plásticos hasta el momento de la medición en el EAA.

Simultáneamente, se prepararon ensayos en blanco bajo las mismas condiciones aplicadas a las muestras y se efectuaron pruebas de li-

nealidad y recuperación para cada uno de los metales.

CUADRO 1

Ámbitos de concentración de metales en diferentes tejidos de pepinos de mar (Holothuria (Halodeima) mexicana Ludwig 1875) del arrecife coralino frente a Puerto Vargas (Caribe, Costa Rica)

Metal (mg kg ⁻¹ , peso seco)	TEJIDOS*				
	Músculo	Dermis	Cubierta Corporal	Túbulos de Cuvier	Arbol Respiratorio
Cd	0.1-1.5 (0.6±0.1)	0.1-1.4 (0.7±0.2)	0.3-2.2 (1.2±0.3)	0.1-1.7 (1.0±0.4)	0.1-2.5 (1.3±0.7)
Pb	3.1-7.6 (5.4±0.6)	0.2-10 (5±1)	4.1-26 (16±3)	3.4-11 (7±2)	1.8-21 (11±4)
Mn	10-32 (19±3)	4.1-16 (9±2)	6.6-29 (12±3)	6.5-46 (22±9)	10-46 (25±8)
Cu	4.5-69 (22±10)	1.3-33 (9±6)	3.2-28 (11±5)	4.6-14 (8±3)	8.3-24 (15±4)
Zn	53-165 (101±15)	14-84 (42±12)	30-72 (46±6)	43-113 (69±15)	49-174 (104±30)
Fe	91-293 (185±35)	20-132 (63±25)	38-206 (120±40)	88-577 (317±100)	288-1044 (436±110)

* Promedio y desviación estándar (n = 35)

CUADRO 2

Series de distribución de concentraciones relativas de metales traza en diferentes tejidos de pepinos de mar (Holothuria (Halodeima) mexicana Ludwig 1875) del arrecife coralino frente a Puerto Vargas (Caribe, Costa Rica)

TEJIDOS	TENDENCIAS
Músculos	Cd < Pb < Mn, Cu < Zn < Fe
Dermis	Cd < Pb < Cu, Mn < Zn < Fe
Cubierta corporal	Cd < Cu, Mn, Pb < Zn < Fe
Túbulos de Cuvier	Cd < Pb, Cu < Mn < Zn < Fe
Arbol respiratorio	Cd < Pb, Cu < Mn < Zn < Fe

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se presentan los ámbitos de concentración de metales en diferentes tejidos del pepino de mar, *H. mexicana*, el correspondiente promedio y su desviación estándar. Considerando globalmente los tejidos, el cadmio se encontró dentro del ámbito de 0.1 - 2.5 mg kg⁻¹; a continuación, y en orden de magnitudes ascendentes, estuvieron el plomo (0.2 - 26 mg kg⁻¹), el manganeso (4.1 - 46 mg kg⁻¹), el cobre (1.3 - 69 mg kg⁻¹), el zinc (14 - 174 mg kg⁻¹), y con los datos más altos el hierro (20 - 1044 mg kg⁻¹). En el Cuadro 2 se indican las series de distribución de concentraciones

relativas de los metales analizados.

DISCUSION

Al comparar estos ámbitos con los registrados por otros autores para crustáceos, poliquetos, bivalvos, peces y equinodermos de lugares considerados sin actividad antrópica importante, resultó que en el pepino de mar el cadmio presentó por lo general el ámbito de concentración más bajo, y el plomo el ámbito de concentración más amplio que los de los otros organismos. Los ámbitos de las concentraciones de manganeso y zinc, fueron en general intermedios a los determinados para los diferentes organismos mencionados y en relación con el cobre y el hierro, (con excepción de los crustáceos y equinodermos, respectivamente), los ámbitos de las concentraciones en el pepino de mar resultaron mayores (Gault *et al.* 1983, Howard & Brown 1983, Medina *et al.* 1986, Romeo & Gnassia-Barrelli 1988, Chan 1989, Harding & Goyette 1989, Ridout *et al.* 1989, Gibbs & Miskiewicz 1995).

Las distribuciones temporales de las concentraciones promedio mensual de los metales por tejido, en general no mostraron patrones estacionales o tendencias definidas para el

pepino de mar, como si han sido registrados por varios autores para otros organismos, por ejemplo, *Mytilus edulis* (Cossa *et al.* 1980, Latouche & Mix 1981, Gault *et al.* 1983), *Nereis diversicolor* (Howard & Brown 1983), *Mytilus galloprovincialis* y *Ostrea edulis* (Martincic *et al.* 1984), *Galeus melastomus* (Vas & Gordon 1988), *Echinometra lucunter* (Ablanedo *et al.* 1990), varias macroalgas (Ramírez *et al.* 1990), varios peces, moluscos y crustáceos (Pastor *et al.* 1994), *Chamelea gallina* (Usero *et al.* 1996); a su vez este resultado coincidió con el hecho de que en esta zona, durante el periodo del estudio, las estaciones seca y lluviosa no estuvieron suficientemente marcadas; fue así como la temperatura del agua y la salinidad en el momento de los muestreos se mantuvieron entre 26.5-31.0 °C y 32.0-34.0 (Escala práctica de salinidad 1978). Sin embargo, en todos los tejidos se apreciaron concentraciones ligeramente más altas de manganeso durante los meses de junio y julio.

El estudio de las concentraciones promedio mensual de metales en el pepino de mar indicó que con el cobre se presentó la mayor dispersión, pues el coeficiente de variación, v , estuvo, en términos generales, entre 30 y 70%, seguido por el cadmio (v entre 20 y 50%). El hierro, el manganeso y el plomo mostraron una variabilidad similar (v entre 10 y 40%) y el zinc mantuvo concentraciones más uniformes (v entre 10 y 30%). Con respecto a los tejidos estudiados, en el árbol respiratorio y en los túbulos de Cuvier, la dispersión de concentraciones de los metales estuvo entre 25.2% (Fe) y 53.8% (Fe), con la excepción de las concentraciones de zinc en los túbulos de Cuvier ($v = 21.7\%$). En los músculos, la dermis y la cubierta corporal, la mayor variabilidad se presentó con las concentraciones de cobre, $v = 45.5\%$, 66.7% y 45.5%, respectivamente, y fue menor para los otros metales; por ejemplo, para los músculos estuvo entre 11.1% (Pb) y 18.9% (Fe); para la dermis entre 20.0% (Pb) y 39.7% (Fe) y para la cubierta corporal entre 13.0% (Zn) y 33.3% (Fe).

Esta situación es consistente con la literatura sobre la presencia de metales traza en organismos marinos, la cual brinda datos que exhiben dispersiones altas, como consecuencia de diversos factores, entre los que se destacan las diferencias naturales entre especies, sus condi-

ciones fisiológicas, las descargas de contaminantes y las características de los sedimentos y de las masas de agua en contacto con los organismos (Gault *et al.* 1983, Howard & Brown 1987, Chan 1989, Hotalung 1989, Ablanedo *et al.* 1990, Gibbs & Miskiewicz 1995, Usero *et al.* 1996). Los análisis de varianza ($p < 0.05$) llevados a cabo para cada metal, empleando a los tejidos como fuente de variación, indicaron diferencias significativas entre los tejidos para todos los metales.

En el Cuadro 2 se muestra la distribución de las series de concentración, derivadas al considerar la relación entre la concentración de cada metal con respecto a la suma de las concentraciones de los metales analizados en cada tejido (carga total). El cadmio fue el metal más escaso y el hierro el más abundante en todos los tejidos. El cadmio apenas representó entre 0.2% y 0.6% del total determinado. La concentración del hierro significó hasta un 50% de la carga total y en los túbulos de Cuvier y en el árbol respiratorio llegó a constituir hasta tres cuartas partes de la carga total; en función de los tejidos, excedió desde un 16% hasta un 58% al siguiente metal en abundancia, el zinc. Las concentraciones promedio de zinc fueron mayores en un ámbito del 11% al 25% con respecto al siguiente metal en abundancia (Mn, Cu o Pb); y su carga específica representó un 20-30% del total. El plomo, el cobre y el manganeso alcanzaron cargas porcentuales que oscilaron entre 2% y 7%. Sólo en el caso del plomo en la cubierta corporal su concentración representó un 7.8% de la carga total y ocupó un tercer lugar en abundancia de los metales determinados en este tejido, siendo mayor que las del cobre, el manganeso y el cadmio.

En general, el árbol respiratorio fue el tejido en el que se dieron las máximas concentraciones, a excepción del cobre y el plomo, que resultaron superiores en los músculos y en la cubierta corporal, respectivamente (Cuadro 1). La dermis fue el tejido que presentó la mínima concentración de casi todos los metales, seguido por la cubierta corporal. Los músculos y los túbulos de Cuvier ocuparon en general posiciones intermedias, siendo las concentraciones en los últimos ligeramente mayores.

Las concentraciones ambientales de metales en las aguas superficiales y en los sedimentos en la vecindad de la zona de muestreo de este

estudio, han sido reportadas por Sandí (1990) y Guzmán & Jiménez (1992), respectivamente. En las aguas los ámbitos, en $\mu\text{g l}^{-1}$, fueron de <1 a 2.9 de Zn, de <1 a 80 de Cd, de <1 a 15.4 de Pb, de <1 a 21.4 de Cu, de 10 a 680 de Mn y de 140 a 610 de Fe. En los sedimentos de dos puntos, uno al norte y otro al sur del sitio de muestreo para esta investigación, los promedios, en mg kg^{-1} , fueron de 4.8 y 6.6 para el Cd, de 7.3 y 16.9 para el Cu, de 16.2 y 37.5 para el Zn, de 20.8 y 29.0 para el Pb, de 292 y 449 para el Mn y de 3 382.5 y 11 445.0 para el Fe. Puesto que la mayoría de los organismos reflejan en cierta manera la calidad de sus ambientes, destaca el hecho de que en el pepino de mar del arrecife coralino frente a Puerto Vargas (Caribe, Costa Rica) se notó una concentración más alta de cobre y de zinc que la de su ambiente y aunque puede constituir una buena opción como bioindicador de contaminación por metales en los ambientes marinos, se necesitan más estudios que incluyan diferentes escalas espaciales y temporales.

RESUMEN

Se determinaron las concentraciones de seis metales y su distribución entre varios tejidos de pepinos de mar (*Holothuria (Halodeima) mexicana* Ludwig 1875) del mar Caribe costarricense, empleando la técnica de absorción atómica. Las muestras fueron recolectadas durante un período de 16 meses, entre octubre de 1987 y diciembre de 1989; la longitud de los especímenes estuvo en el ámbito de 17 a 25 cm y las masas entre 280 y 600 g. Los ámbitos de las concentraciones de los metales (mg kg^{-1} , peso seco), fueron: Cd 0.1-2.5; Pb 0.2-26; Mn 4.1-46; Cu 1.3-69; Zn 14-174; Fe 20-1044. El árbol respiratorio fue la estructura que mostró, en general, los niveles más altos de concentración de metales, excepto para el Cu y el Pb, los cuales fueron más altos en los músculos y en la cubierta corporal, respectivamente. Este trabajo constituye una importante base para futuras comparaciones que involucren actividades de impacto costero, debido a que no hay datos previos del contenido de metales en los organismos de esta especie de esta área.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue posible gracias al financiamiento y apoyo de la Vicerrectoría de Investigación y de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica. Muchas gracias a E. Ruiz, P. Silva, M. Espinosa, M. Murillo, J. Vargas y varios estudiantes de pregrado que colaboraron durante las giras al campo.

REFERENCIAS

- Acuña J. A. 1993. Contaminación por petróleo en la costa caribe de Costa Rica. p : 153-161. In El Manejo de ambientes y recursos costeros en América Latina y el Caribe. Depto. As. Cicut. Tecnol. Org. Est. Am. Washington. D.C.
- Ablanedo N., H. González, M. Ramírez & I. Torres. 1990. Evaluación del erizo de mar *Echinoderma lucunter* como indicador de contaminación por metales pesados, Cuba. Aquat. Living Resour. 3: 113-120.
- Bryan G.W. 1973. The occurrence and seasonal variation of trace metals in the scallops *Pecten maximus* (L.) and *Chlamys opercularis* (L.). J. Mar. Biol. Ass. U.K. 53: 145-166.
- Chan H.M. 1989. Temporal and spatial fluctuation in trace metal concentration in transplanted mussels in Hong Kong. Mar Pollut. Bull. 20: 82-86.
- Cortés J. 1990. Situación actual de los arrecifes coralinos de Costa Rica. Sea Wind 4: 10-13.
- Cortés J. & H.M. Guzmán. 1985. Arrecifes coralinos de la costa Atlántica de Costa Rica. Brenesia 23: 275-292.
- Cortés J. & M.J. Risk. 1984. El arrecife coralino del Parque Nacional Cahuita, Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 32: 109-121.
- Cortés J. & M.J. Risk. 1985. A reef under siltation stress. Cahuita. Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 32: 109-121.
- Cortés J., M.M. Murillo, H.M. Guzmán & J. Acuña. 1984. Pérdida de zooxantelas y muerte de corales y otros organismos arrecifales en el Caribe y Pacífico de Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 32: 227-231.
- Cossa D., E. Bourget, D. Pouliot, J. Piuze & J.P. Chanut. 1980. Geographical and seasonal variations in the relationship between trace metal content and body weight in *Mytilus edulis*. Mar Biol. 58: 7-14.
- Gault N.F.S., E.L.C. Tolland & J.G. Parker. 1983. Spatial and temporal trends in heavy metal concentrations in mussels from Northern Ireland coastal waters. Mar. Biol. 77: 307-316.

- Gibbs P.J. & A.G. Miskiewicz. 1995. Heavy metals in fish near a major primary treatment sewage plant outfall. *Mar. Pollut. Bull.* 30: 667-674.
- Guzmán H.M. & C.E. Jiménez. 1992. Contamination of coral reefs by heavy metals along the Caribbean coast of Central America (Costa Rica and Panama). *Mar. Pollut. Bull.* 24: 554-561.
- Harding L. & D. Goyette. 1989. Metals in northeast Pacific coastal sediments and fish, shrimp and prawn tissues. *Mar. Pollut. Bull.* 20: 187-189.
- Hall I.R., D.J. Hydes, P.J. Statham & J. Overnell. 1996. Dissolved and particulate trace metals in a Scottish sea loch: an example of a pristine environment?. *Mar. Pollut. Bull.* 32: 846-854.
- Hendler G., J.E. Miller, D.L. Pawson & P.M. Kier. 1995. Sea stars, sea urchins, and allies. Echinoderms of Florida and the Caribbean. Smithsonian Institution. Washington, D.C.
- Howard L.S. & B.E. Brown. 1983. Natural variations in tissue concentration of copper, zinc and iron in the polychaete *Nereis diversicolor*. *Mar. Biol.* 78: 87-97.
- Howard L.S. & B.E. Brown. 1987. Metals in *Pocillopora damicornis* exposed to tin smelter effluent. *Mar. Pollut. Bull.* 18: 451-454.
- Hutalung H.P. 1989. Mercury and cadmium content in green mussel, *Mytilus viridis* L. from Onrust waters. Jakarta Bay. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 42: 814-820.
- Latouche Y.D. & M.C. Mix. 1981. Seasonal variation in soft tissues weight and trace metal burdens in the bay mussel, *Mytilus edulis*. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 27: 821-828.
- Lauenstein G.G., A.Y. Cantillo & S.S. Dolvin. 1993. NOAA National status and trends program development and methods. In NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 71. National status and trends program for marine environmental quality. Volume 1. Overview and Summary of Methods. Silver Spring, Maryland.
- Martincic D., H.W. Nürnberg, M. Stoeppler & M. Branica. 1984. Bioaccumulation of heavy metals by bivalves from Lim Fjord (North Adriatic Sea). *Mar. Biol.* 81: 177-188.
- Medina J., F. Hernández, A. Pastor, J.B. Beferull & J.C. Barbera. 1986. Determination of mercury, cadmium, chromium and lead in marine organisms by flameless atomic absorption spectrometry. *Mar. Pollut. Bull.* 17: 41-44.
- Murillo M.M. & J. Cortés. 1984. Alta mortalidad en la población del erizo de mar *Diadema antillarum* Philippi (Echinodermata, Echinoidea) en el Parque Nacional Cahuita. Limón. Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 32: 167-169.
- Pastor A., F. Hernández, M.A. Peris, J. Beltrán, J.V. Sancho & M.T. Castillo. 1994. Levels of heavy metals in some marine organisms from the western mediterranean area (Spain). *Mar. Pollut. Bull.* 28: 50-53.
- Rainbow P.S. & D.J.H. Phillips. 1993. Cosmopolitan bioindicators of trace metals. *Mar. Pollut. Bull.* 26: 593-601.
- Ramírez M., H. González, N. Ablanado & I. Torres. 1990. Heavy metals in macroalgae of Havana's northern litoral, Cuba. *Chem. Ecol.* 4: 49-55.
- Ridout P.S., P.S. Rainbow, H.S.J. Roe & H.R. Jones. 1989. Concentrations of V, Cr, Mn, Fe, Ni, Co, Cu, Zn, As, and Cd in mesopelagic crustaceans from the North East Atlantic Ocean. *Mar. Biol.* 100: 465-471.
- Romeo M. & M. Gnassia-Barelli. 1988. *Donax Trunculus* and *Venus verrucosa* as bioindicators of trace metal concentrations in Mauritanian coastal waters. *Mar. Biol.* 99: 223-227.
- Sandi G. 1990. Determinación de Zn, Cd, Pb, Cu, Fe, Mn y Cr en aguas del arrecife coralino del Parque Nacional Cahuita, Costa Rica. Tesis de Licenciatura. Escuela de Química, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica, p. 42.
- Usero J., E. González-Regalado & I. Gracia. 1996. Trace metals in the bivalve mollusc *Chamelea gallina* from the Atlantic coast of southern Spain. *Mar. Pollut. Bull.* 32: 305-310.
- Vas P. & J.D.M. Gordon. 1988. Trace metal concentrations in the Scyliorhinid shark *Galeus melastomus* from the Rockall Trough. *Mar. Pollut. Bull.* 19: 396-398.
- Zauke G-P, G. Petri, J. Ritterhoff & H. G. Meurs. 1996. Theoretical background for the assessment of the quality status of ecosystems: lessons from studies of heavy metals in aquatic invertebrates. *Senckenb. mar.* 27: 207-214.