

## Nota de Investigación/Research Note

### Mercury levels in *Perna viridis* from the north coast of Sucre State, Venezuela

#### Contenido de mercurio en *Perna viridis* en la costa norte del Estado Sucre, Venezuela

N Rojas<sup>1</sup>, M Lemus<sup>2</sup>, L Rojas<sup>3</sup>, G Martínez<sup>4</sup>, Y Ramos<sup>1</sup>, KS Chung<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Postgrado en Biología Aplicada, Universidad de Oriente-Núcleo Sucre, Venezuela.

<sup>2</sup> Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Centro de Investigaciones Ecológicas de Guayacán, Cumaná, Venezuela.  
E-mail: mlemus@sucre.udo.edu.ve

<sup>3</sup> Departamento de Química, Escuela de Ciencias, Cumaná, Venezuela.

<sup>4</sup> Instituto Oceanográfico de Venezuela, Cumaná 6101, Venezuela.

#### Resumen

Se determinaron los niveles de mercurio en el mejillón verde, *Perna viridis*, provenientes de dos zonas del Estado Sucre (Venezuela), Chacopata y Río Caribe. Los especímenes de *P. viridis* fueron capturados en la zona intermareal de febrero a diciembre de 2003. Los ejemplares presentaron tallas comprendidas entre 18 y 113 mm de longitud anteroposterior y fueron caracterizados de acuerdo con su madurez sexual en juveniles y adultos. La determinación del mercurio se realizó por espectrofotometría de absorción atómica y los valores fueron validados con estándares certificados. En ambas localidades se encontraron variaciones estacionales significativas; en Chacopata la mayor concentración de mercurio se encontró durante febrero, con un promedio de  $0.432 \pm 0.472 \mu\text{g g}^{-1}$  p.s., mientras que en Río Caribe ésta fue de  $1.129 \pm 0.763 \mu\text{g g}^{-1}$  p.s. durante abril. No se evidenció relación entre los niveles de mercurio y la madurez sexual en la localidad de Chacopata, pero sí en Río Caribe donde los organismos inmaduros presentaron las mayores concentraciones ( $0.471 \pm 0.679$  y  $0.688 \pm 0.894 \mu\text{g g}^{-1}$  p.s. para machos y hembras, respectivamente).

*Palabras clave:* bioacumulación, mercurio, *Perna viridis*.

#### Abstract

Mercury levels were determined in green mussels, *Perna viridis*, from two localities of Sucre State (Venezuela): Chacopata and Río Caribe. Specimens were captured in the intertidal zone from February to December 2003. They presented anteroposterior lengths ranging from 18 to 113 mm and were classified, according to their sexual maturity, as juveniles or adults. Mercury was determined by flame atomic absorption spectrophotometry and the method of analysis was validated using certified standards. Seasonal variations were significant at both sites. Highest mercury concentrations in the Chacopata specimens were recorded during February (mean value of  $0.432 \pm 0.472 \mu\text{g g}^{-1}$  d.w.) and in the Río Caribe specimens during April (mean value of  $1.129 \pm 0.763 \mu\text{g g}^{-1}$  d.w.). No relation between mercury levels and sexual maturity was found at Chacopata, but a relation was observed at Río Caribe. Immature organisms showed the highest concentrations ( $0.471 \pm 0.679$  and  $0.688 \pm 0.894 \mu\text{g g}^{-1}$  d.w. for males and females, respectively).

*Key words:* bioaccumulation, mercury, *Perna viridis*.

#### Introduction

Mercury is the most toxic metal and has harmful effects on marine organisms. Once incorporated within the cell it can link to ligands with sulfhydryl groups such as glutathione and metallothioneins (Hultberg *et al.* 2001). These molecules intervene in metal accumulation, metabolism, and depuration processes. Pollutants, including mercury, can induce oxidative stress in cells, generating a large number of free radicals (Livingstone 2001). These radicals can cause cell death if they are not checked by antioxidant mechanisms, primarily by antioxidant enzymes, glutathione, and metallothioneins, which participate in the elimination of reactive species (Regoli and Principato 1995).

#### Introducción

El mercurio es el contaminante más tóxico de los metales, con efectos nocivos en los organismos marinos. Una vez incorporado en la célula puede enlazarse a ligandos con grupos sulfidrilos tales como glutatión y metalotioninas (Hultberg *et al.* 2001). Estas moléculas intervienen en los procesos de acumulación, metabolización y depuración de los metales. Los contaminantes, incluido el mercurio, pueden inducir estrés oxidativo en las células, generando gran cantidad de radicales libres (Livingstone 2001). Estos radicales pueden producir la muerte celular si no son contrarrestados por mecanismos antioxidantes, entre los que se encuentran principalmente las enzimas antioxidantes, el glutatión y las metalotioninas que participan

The high toxicity of mercury makes it an environmental problem and, as a result of biomagnification, significant effects have been observed in human populations (Carrasquero-Durán 2006). Mercury enters marine ecosystems through rivers and rainfall, where it dissolves and associates with small particles suspended in the water column (Martínez *et al.* 2006) that are ingested by filter-feeding organisms, particularly bivalves.

Mercury contamination is a serious problem in Venezuela. The Orinoco and Caroní rivers have high levels of mercury originated from gold extraction, resulting in increased levels of this metal in fish (Laya 1992). These rivers discharge into the Caribbean Sea and this metal is likely being transported along the coasts of Sucre State by the prevailing marine currents in the area, as has already been suggested in other studies (Rojas *et al.* 2002). Mercury, however, can also be transported by rainfall runoff, which plays a major role in the deposition of this metal (García-Sánchez *et al.* 2006).

Metal accumulation is modulated by numerous abiotic and biotic factors determining the input rate of the metals found in the environment. The reproductive state and size of organisms are perhaps the most relevant aspects during bioaccumulation (Strong and Luoma 1981, Ahn *et al.* 2001) and determine the concentration of metals in soft tissues.

Venezuela's main area for the production and commercialization of bivalves is located in the eastern part of the country. This region has been subjected to scant anthropogenic activity and was considered to be only slightly affected by heavy metal contamination. However, in a biomonitoring survey conducted in 1999 of two bivalves of the region, mercury levels of  $0.02 \pm 0.00 \mu\text{g g}^{-1}$  dry weight (d.w.) were found in *Perna viridis* from the localities of Chacopata and Río Caribe, and of  $0.05 \pm 0.00 \mu\text{g g}^{-1}$  dry weight in *Crassostrea virginica* (Rojas *et al.* 2002). Evaluating mercury levels four years after this survey was thus deemed appropriate.

Mytilids can accumulate high levels of heavy metals and other types of pollutants. Since they are sedentary filter-feeders and have a wide distribution they are considered good biomonitors of polluted environments (Avelar *et al.* 2000, Gutiérrez-Galindo and Muñoz-Barboza 2001, Rojas *et al.* 2002, González-Quijano *et al.* 2006, Laffon *et al.* 2006, Soriano-Sanz *et al.* 2006). The green mussel, *P. viridis*, is a bivalve from the eastern coasts of India that invaded the Gulf of Paria, Trinidad, in mid 1990 (Agard *et al.* 1992) and then expanded to the Venezuelan coasts (Rylander *et al.* 1996). In some areas this species has succeeded in displacing the brown mullet *Perna perna*, which is native from tropical and subtropical regions of the Atlantic Ocean but colonized the Venezuelan coasts and was reported here for the first time in 1967 (Beaperthy 1967). Due to the bioaccumulation of heavy metals in the tissue of some molluscs, this study aims to determine the monthly variation of mercury and its relation to sexual maturity and size of *P. viridis* from two sites in Sucre State: Chacopata and Río Caribe.

en la eliminación de especies reactivas (Regoli y Principato 1995).

Debido a la gran toxicidad del mercurio, éste ha generado efectos significativos en poblaciones humanas a través de la biomagnificación, por lo que representa un problema ambiental (Carrasquero-Durán 2006). Este elemento entra en los ecosistemas marinos derivado de las precipitaciones y a través de los ríos, donde se disuelve y asocia a partículas pequeñas en la columna de agua (Martínez *et al.* 2006), con lo que pasa a estar disponible en el alimento en suspensión para los organismos filtradores, particularmente para los bivalvos.

En Venezuela existen serios problemas de contaminación mercurial, con elevados niveles en los ríos Orinoco y Caroní derivados de la extracción del oro, lo que ha incrementado los niveles de este metal en peces (Laya 1992). Estos ríos descargan sus aguas en el Mar Caribe y es posible que este metal este se desplace a lo largo de las costas del Estado Sucre debido a las corrientes marinas que prevalecen en la zona (Rojas *et al.* 2002). No obstante, el mercurio puede también provenir de las precipitaciones y escorrentía pluviales, que tienen gran influencia en la depositación de este metal (García-Sánchez *et al.* 2006).

La acumulación de metales está modulada por una gran cantidad de factores abióticos y bióticos que determinan la tasa de incorporación de los metales presentes en el ambiente. La condición reproductiva y la talla de los organismos quizás son los aspectos más relevantes para la bioacumulación (Strong y Luoma 1981, Ahn *et al.* 2001) y determinan la concentración de metales en los tejidos blandos.

La región oriental de Venezuela se caracteriza por ser la principal zona de producción y comercialización de bivalvos. Esta región ha tenido escasa actividad antropogénica, por lo que se consideraba un área poco impactada por la contaminación de metales pesados. Sin embargo, durante 1999 se realizó un biomonitoreo de metales en dos bivalvos de la zona y se encontró que *Perna viridis* proveniente de las localidades de Chacopata y Río Caribe presentaba una concentración de mercurio de  $0.02 \pm 0.00 \mu\text{g g}^{-1}$  de peso seco (p.s.), mientras que *Crassostrea virginica* presentaba  $0.05 \pm 0.00 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco (Rojas *et al.* 2002). Por lo anterior, se planteó evaluar el contenido de mercurio cuatro años después de ese biomonitoreo.

Los mitílidos tienen una gran capacidad de acumular metales pesados y otros tipos de contaminantes. Por ser organismos sedentarios, filtradores y de amplia distribución, se han considerado buenos biomonitores de ambientes contaminados (Avelar *et al.* 2000, Gutiérrez-Galindo y Muñoz-Barboza 2001, Rojas *et al.* 2002, González-Quijano *et al.* 2006, Laffon *et al.* 2006, Soriano-Sanz *et al.* 2006). El mejillón verde, *P. viridis*, es una especie de bivalvo originaria de las costas orientales de la India que invadió el Golfo de Paria, Trinidad, a mediados de 1990 (Agard *et al.* 1992) y a partir de allí se extendió a las costas venezolanas (Rylander *et al.* 1996). Esta especie en algunas áreas ha llegado a desplazar al mejillón marrón *Perna perna*, nativo de las regiones tropicales y subtropicales del océano Atlántico, pero que colonizó las costas venezolanas y fue

## Material and methods

### Collection and selection of organisms

Specimens of *P. viridis* were collected between February and December 2003 from the intertidal zone at Chacopata (63°45'33" W, 10°36'40" N) and Río Caribe (63°06'00" W, 10°41'03" N; fig. 1), and transported in isothermic containers to the laboratory for analysis.

A total of 325 specimens were analyzed, 165 from Chacopata and 160 from Río Caribe. Fifteen organisms were analyzed monthly, except in April when only ten organisms from Chacopata were evaluated. The biometric characteristics (length, width, and height) of each specimen were measured with a vernier caliper. Soft tissue mass was removed from the shell and the reproductive stages were determined according to the macroscopic scale of sexual maturity for *P. viridis* (Narasimhan 1980). Specimens were classified as juveniles (immature males and females with a mean size of  $28 \pm 10$  mm) and adults (mature males and females with a mean size of  $79 \pm 14$  mm). Organisms in regression stage were not considered for the analysis.

### Determination of mercury in the tissues of *Perna viridis*

For the detection and quantification of mercury, each organism was placed in an oven for 48 h at 60°C to determine the dry weight. Subsequently, 5 mL of concentrated HNO<sub>3</sub> were added to the dehydrated organism. A funnel was placed on top of the Erlenmeyer flask to impede the loss of sample, which was left to digest overnight at room temperature. The sample was then digested in a heating block at 60°C for 1 h, after which the temperature was progressively increased to 100°C and maintained for 3 h, and then 2.5 mL of concentrated

reportado por primera vez en 1967 (Beaperthuy 1967). Debido a la bioacumulación de metales pesados en el tejido de algunos moluscos, el objetivo de este estudio fue determinar la variación mensual de mercurio y su relación con la madurez sexual y la talla en *P. viridis* provenientes de dos áreas del Estado Sucre: Chacopata y Río Caribe.

## Materiales y métodos

### Captura y selección de organismos

Los ejemplares de *P. viridis* fueron recolectados entre febrero y diciembre de 2003 en las zonas intermareales de Chacopata (63°45'33" W, 10°36'40" N) y Río Caribe (63°06'00" W, 10°41'03" N; fig. 1), y fueron transportados en contenedores isotérmicos hasta el Laboratorio de Ecofisiología del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente para su posterior análisis.

Se analizaron 325 ejemplares, 165 de Chacopata y 160 de Río Caribe. Mensualmente se analizaron 15 organismos, con excepción de abril en Chacopata que se analizaron sólo 10 organismos. A cada ejemplar se le tomaron características biométricas (largo, ancho y alto) utilizando un vernier. La masa del tejido blando fue extraída de la concha y se evaluaron los estadios reproductivos según la escala macroscópica de maduración sexual para *P. viridis* (Narasimhan 1980). Los ejemplares se clasificaron en juveniles (machos y hembras inmaduros con tallas medias de  $28 \pm 10$  mm) y adultos (machos y hembras maduros con tallas medias de  $79 \pm 14$  mm). Los organismos que estaban en la fase de regresión no fueron considerados para los análisis.

### Determinación de mercurio en los tejidos de *Perna viridis*

Para la detección y cuantificación del mercurio, se determinó el peso seco de cada organismo después de haberse secado en una estufa a 60°C durante 48 h. Posteriormente, al organismo previamente deshidratado se agregaron 5 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado, se colocó en un matraz Erlenmeyer con un embudo en la parte superior para impedir la pérdida de muestra y se dejó en digestión durante una noche a temperatura ambiente. Posteriormente, la muestra se digirió en un bloque de calentamiento a 60°C durante 1 h; luego, la temperatura se aumentó progresivamente hasta mantenerla en 100°C durante 3 h. Después de la digestión, se adicionaron a la muestra 2.5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y 1 mL de HCl concentrado y se digirió durante 3 h más. Después de la digestión, la muestra se enfrió y se filtró a través de un papel filtro Whatman N° 42. Una vez filtrada, se añadieron algunas gotas de KMnO<sub>4</sub> al 5% m/v libre de mercurio hasta que se observó una coloración rosada permanente. El exceso de KMnO<sub>4</sub> se tituló con clorhidrato de hidroxilamina al 5% m/v (Rojas *et al.* 2002). Las muestras se aforaron a 25 mL y se guardaron en refrigeración (4°C) hasta que se analizaron por espectroscopía de absorción atómica por vapor frío (Perkin Elmer 3110) acoplado a un sistema

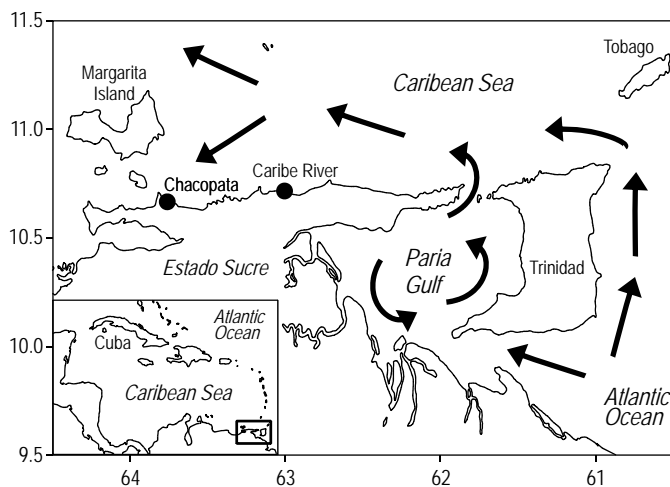


Figure 1. Geographic location of the two collecting sites of *Perna viridis* specimens in Sucre State (Venezuela).

Figura 1. Ubicación geográfica de las zonas de captura de ejemplares de *Perna viridis* en el Estado Sucre (Venezuela).

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and 1 mL of concentrated HCl were added and the sample was allowed to digest 3 h more. After digestion, the sample was cooled and filtered through a Whatman N° 42 paper filter. A few drops of mercury-free 5% m/v KMnO<sub>4</sub> were added until a permanent pink colouration was observed. The excess KMnO<sub>4</sub> was titrated with 5% m/v hydroxylamine chlorhydrate (Rojas *et al.* 2002). Samples of 25 mL were measured and refrigerated (4°C) until analyzed using a cold-vapour atomic absorption spectrophotometer (Perkin Elmer 3110) equipped with a mercury/hydride system (Perkin Elmer MHS-10). The samples were analyzed at a wavelength of 253.7 nm and the results expressed as µg g<sup>-1</sup> d.w. The method was validated by the analysis of DORM-2 (dogfish muscle) certified reference material produced by the National Research Council of Canada. With the method employed, 97.4% ± 3.4% of the mercury was recovered from the reference material.

### Statistical analyses

Mercury levels in the tissues of *P. viridis* were processed by simple analysis of variance to determine the significant differences among sampling months for each site surveyed. The relation between mussel size and mercury concentration was analyzed by simple linear regression. A nonparametric Kruskal-Wallis test, at 95% confidence level, was applied to the results obtained for mercury concentration in relation to sexual maturity. All analyses were carried out using the Statgraphic Plus version 4 software.

## Results

### Mercury levels in the soft tissues of *Perna viridis*

Mercury levels in the soft tissues of the Chacopata mussels were significantly different during the sampling months ( $F_s = 1.65$ ,  $P < 0.05$ ). In April and May and from July to October 2003 the concentrations ranged from 0.084 to 0.099 µg g<sup>-1</sup> d.w., while the maximum mean value of 0.432 µg g<sup>-1</sup> d.w. was recorded in February (fig. 2). Significant monthly differences were also observed in the concentrations of this metal in the Río Caribe mussels ( $F_s = 3.41$ ,  $P < 0.001$ ). Mercury concentrations in May, July, September, and October were lower than 0.100 µg g<sup>-1</sup> d.w., while the maximum values of 0.838 and 1.129 µg g<sup>-1</sup> d.w. were obtained in April and December, respectively (fig. 2).

### Relationship between size and mercury

No relation was found between mussel size and mercury concentration at Chacopata ( $F_s = 2.29$ ,  $P > 0.05$ ); however, a relation was found at Río Caribe ( $F_s = 15.74$ ,  $P < 0.001$ ) (fig. 3), where organisms less than 80 mm in length showed concentrations of up to 3 µg g<sup>-1</sup> d.w., while the levels in those between 80 and 120 mm in length did not exceed 1 µg g<sup>-1</sup> d.w.

mercurio-hidruro (Perkin Elmer MHS-10). Las muestras se analizaron a una longitud de onda de 253.7 nm y los resultados se expresaron como µg g<sup>-1</sup> p.s. Los análisis fueron validados con material de referencia certificados de músculo de peces (DORM-2) provenientes del Consejo Nacional de Investigaciones de Canadá. Con el método utilizado se obtuvo una recuperación de 97.4% ± 3.4% del mercurio del material de referencia.

### Análisis estadísticos

Las concentraciones de mercurio en los tejidos de *P. viridis* se procesaron mediante un análisis de varianza sencillo para determinar diferencias significativas entre los meses de muestreo para cada una de las zonas estudiadas. La relación entre la talla de los organismos y las concentraciones de mercurio se analizó mediante una regresión lineal simple. Los resultados obtenidos de la concentración de mercurio con relación a la madurez sexual fueron sometidos a una prueba de Kruskal-Wallis no paramétrica, a un nivel de confianza de 95%. Todos los análisis fueron realizadas con el programa estadístico Statgraphic Plus versión 4.

## Resultados

### Concentración de mercurio en el tejido blando de *Perna viridis*

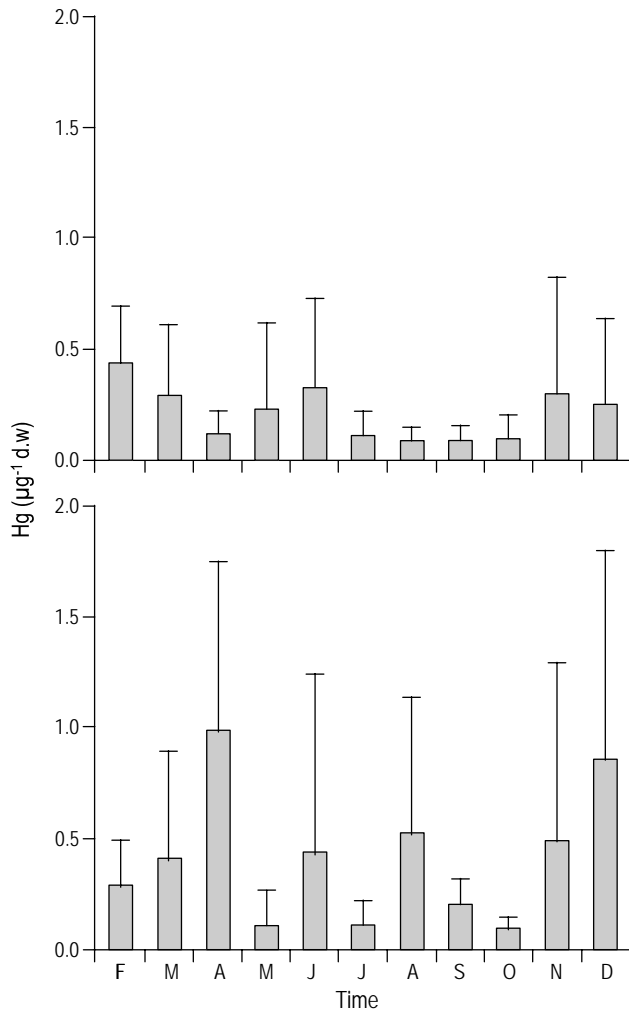
Las concentraciones de mercurio en los tejidos blandos de los mejillones procedentes de Chacopata fueron significativamente diferentes entre los meses de muestreo ( $F_s = 1.65$ ,  $P < 0.05$ ). En abril-mayo y en el periodo entre julio y octubre de 2003 las concentraciones fluctuaron entre 0.084 y 0.099 µg g<sup>-1</sup> p.s., y la máxima se presentó en febrero con un promedio de 0.432 µg g<sup>-1</sup> p.s. (fig. 2). En Río Caribe también se evidenciaron diferencias mensuales significativas en el contenido del metal ( $F_s = 3.41$ ,  $P < 0.001$ ). Durante mayo, julio, septiembre y octubre las concentraciones de mercurio fueron inferiores a 0.100 µg g<sup>-1</sup> p.s., mientras que los valores máximos se obtuvieron para abril y diciembre (0.838 y 1.129 µg g<sup>-1</sup> p.s., respectivamente; fig. 2).

### Relaciones entre talla y mercurio

No se evidenció relación entre la talla de los mejillones y su contenido de mercurio en la localidad de Chacopata ( $F_s = 2.29$ ,  $P > 0.05$ ), pero en Río Caribe sí ( $F_s = 15.74$ ,  $P < 0.001$ ) (fig. 3). En esta última localidad, organismos con tallas inferiores a 80 mm presentaron concentraciones hasta 3 µg g<sup>-1</sup> p.s., mientras que los de tallas superiores y hasta 120 mm no superaron la concentración de 1 µg g<sup>-1</sup> p.s.

### Contenido de mercurio y madurez reproductiva

El análisis de mercurio con relación al estado de madurez de los mejillones demostró que no existen diferencias en el



**Figure 2.** Mercury concentrations ( $\mu\text{g g}^{-1}$  d.w.) in the soft tissues of *Perna viridis* mussels from Chacopata (a) and Río Caribe (b), Sucre State, from February to December 2003.

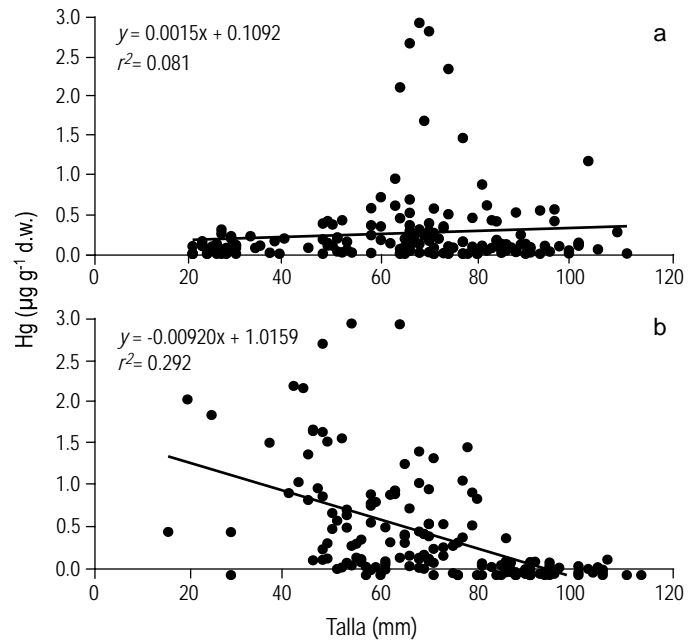
**Figura 2.** Concentraciones de mercurio ( $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s.) en los tejidos blandos de los mejillones *Perna viridis* de las localidades de Chacopata (a) y Río Caribe (b), Estado Sucre, de febrero a diciembre de 2003.

#### Mercury concentration and reproductive maturity

The analysis of mercury in relation to the maturity stage of the mussels showed that there were no differences in the metal levels between mature or immature females and males from Chacopata, while the immature organisms from Río Caribe had the highest concentrations (table 1).

#### Discussion

Our findings reveal the presence and increased levels of mercury in the soft tissues of the green mussel *P. viridis* from the Araya (Chacopata) and Paria (Río Caribe) peninsulas relative to the measurements made in 1999 (Rojas *et al.* 2002); hence, in the region where mussels had been considered to be free of mercury, there has been an increase in the bioaccumulation of this metal in *P. viridis*.



**Figure 3.** Linear relationship between size (mm) and mercury concentration ( $\mu\text{g g}^{-1}$  d.w.) in the soft tissues of *Perna viridis* mussels from Chacopata (a) and Río Caribe (b), Sucre State.

**Figura 3.** Relación lineal entre la talla (mm) y la concentración de mercurio ( $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s.) en los tejidos blandos del mejillón verde *Perna viridis* de Chacopata (a) y Río Caribe (b), Estado Sucre.

contenido del metal entre hembras y machos, maduros e inmaduros de Chacopata, mientras que en Río Caribe los organismos inmaduros presentaron las mayores concentraciones (tabla 1).

#### Discusión

Los resultados del presente estudio demuestran la presencia y el incremento de mercurio en los tejidos blandos de mejillones verdes *P. viridis* procedentes de las penínsulas de Araya (Chacopata) y Paria (Río Caribe) con relación a determinaciones realizadas en 1999 (Rojas *et al.* 2002); por tanto, esta región en la que los mejillones se habían considerado libres de mercurio, actualmente ha visto incrementada la bioacumulación de este metal en *P. viridis*.

Los niveles de mercurio en los tejidos blandos de *P. viridis* muestran variaciones mensuales en ambas zonas de muestreo. Particularmente los especímenes de Río Caribe mostraron mayores niveles de este metal en abril, junio, agosto, noviembre y diciembre, mientras que los de Chacopata lo hicieron en febrero, junio, noviembre y diciembre. Esta variación mensual del metal indica que existe una mayor biodisponibilidad de metal durante tales meses. Los principales factores que determinan la depositación de mercurio en las áreas costeras están influenciados por la descarga de los sistemas fluviales, las surgencias desde el océano y las depositaciones atmosféricas. Esto podría explicar la presencia de mercurio en *P. viridis* de la costa norte del Estado Sucre.

**Table 1.** Variations of the mercury levels ( $\mu\text{g g}^{-1}$  d.w.) in the soft tissues of the green mussel, *Perna viridis*, in relation to sexual maturity. FI: immature females, FII: mature females, MI: immature males, and MII: mature males.

**Tabla 1.** Variaciones de las concentraciones de mercurio ( $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s.) en los tejidos blandos de los mejillones verdes *Perna viridis* con relación a la madurez sexual. FI: hembras inmaduras, FII: hembras maduras, MI: machos inmaduros y MII: machos maduros.

Maturity	N	Range	X $\pm$ SD	Kruskal-Wallis
<b>Chacopata</b>				
F1	30	0 1.329	0.175 $\pm$ 0.068	1.81 ns
FII	33	0 2.224	0.178 $\pm$ 0.101	
MI	54	0 0.566	0.121 $\pm$ 0.022	
MII	48	0 2.309	0.287 $\pm$ 0.284	
<b>Río Caribe</b>				
MII	49	0 1.960	0.225 $\pm$ 0.432 <sup>a</sup>	10.75*
FII	43	0 2.165	0.318 $\pm$ 0.473 <sup>a</sup>	
MI	40	0 2.965	0.471 $\pm$ 0.679 <sup>b</sup>	
FI	28	0 2.990	0.688 $\pm$ 0.874 <sup>b</sup>	

ns = not significant; \* =  $P < 0.05$ ; <sup>a</sup> and <sup>b</sup> = *post hoc* LSD,  $P < 0.05$ .

Mercury levels in the soft tissues of *P. viridis* show monthly variations for both sampling sites. Río Caribe specimens showed higher levels of this metal in April, June, August, November, and December, while those from Chacopata showed higher concentrations in February, June, November, and December. This monthly variation indicates a greater bio-availability of mercury during these months. The main factors determining the deposition of this metal in coastal areas are influenced by river runoff, ocean upwelling, and atmospheric deposition. This could explain the presence of mercury in *P. viridis* from the north coast of Sucre State.

The climate of northeastern Venezuela is characterized by two seasons: the rainy season from June to November and the dry season from November/December to May (Castañeda 2006). The mussels collected in February from Chacopata and in April from Río Caribe had the highest mean mercury concentrations (0.432 and 1.129  $\mu\text{g g}^{-1}$  d.w., respectively) recorded during the study period. These months correspond to the region's dry season. Maximum seasonal evaporation values occur during the first months of the year along the eastern coastal margin due to the absence of rainfall (Aparicio-Castro 1994), which begins in June. The results obtained in this study show that the highest mean values of mercury were recorded during the dry season, probably associated with the strong mixing processes caused by the northeasterly winds that govern upwelling (Bakun and Nelson 1991).

The biogeochemical behaviour of certain metals, particularly mercury, is very similar to that of nutrients. Consequently, upwelling waters may be enriched with some metals, constituting the main source of these metals to the coastal areas (Cossa *et al.* 2004, Valdés *et al.* 2006) where marine organisms are found. Some metals are also known to be found in organic matter, lacustrine and oceanic sediments, manganese nodules, and marine phosphorites, and become available to both producer

La región nororiental de Venezuela se caracteriza por presentar dos periodos estacionales: la temporada de lluvia de meses de junio a noviembre, y la de sequía comienza en noviembre/diciembre y termina en mayo (Castañeda 2006). Los mejillones recolectados en febrero en Chacopata y en abril en Río Caribe presentaron las mayores concentraciones medias de mercurio (0.432  $\mu\text{g g}^{-1}$  y 1.129  $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s., respectivamente) en este estudio, lo que ocurrió durante el periodo de sequía para la zona nororiental. Durante los primeros meses del año se presentan los máximos valores estacionales de evaporación para la región oriental del margen costero, debido a la ausencia de las precipitaciones (Aparicio-Castro 1994) que se inician en junio. De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo se puede evidenciar que los valores medios más elevados de este metal se observaron durante el periodo de sequía, asociados posiblemente a los procesos de fuerte mezcla de agua que ocurren por los vientos en dirección noreste que generan la surgencia (Bakun y Nelson 1991).

Ciertos metales, y en particular el mercurio, muestran un comportamiento biogeoquímico muy similar al de los nutrientes. Esta característica hace que las aguas de surgencia se encuentren enriquecidas con algunos metales y constituyan la principal fuente de estos metales a las zonas costeras (Cossa *et al.* 2004, Valdés *et al.* 2006) donde se encuentran los organismos marinos. Se sabe además que algunos metales se concentran en la materia orgánica, sedimentos lacustres y oceánicos, nódulos de manganeso y fosforitas marinas, estando entonces biodisponibles tanto para los organismos productores como los consumidores una vez llegada la época de surgencia (Gutiérrez-Galindo *et al.* 1999, Muñoz-Barbosa *et al.* 2000, Fernández *et al.* 2006, Martín-Díaz *et al.* 2006, Martínez *et al.* 2006, Prego *et al.* 2006, Gutiérrez-Galindo *et al.* 2007). Adefemi *et al.* (2007) señalan que el alto contenido de algunos metales en las zonas costeras está asociado con los procesos de

and consumer organisms once the upwelling season begins (Gutiérrez-Galindo *et al.* 1999, Muñoz-Barbosa *et al.* 2000, Fernández *et al.* 2006, Martín-Díaz *et al.* 2006, Martínez *et al.* 2006, Prego *et al.* 2006, Gutiérrez-Galindo *et al.* 2007). Adefemi *et al.* (2007) report that the high content of some metals in coastal areas is associated with the upwelling generated by increased marine currents, causing sediment particle removal to the water column.

On the other hand, high mercury levels were also found during the rainy season, especially in June for both sites and in August for Río Caribe. Rainfall in the eastern region begins in June and these mercury levels may be associated with discharges from the Orinoco River. As already mentioned, waters from the Orinoco and Caroní rivers contain high levels of mercury due to auriferous mining activity. This metal is transported by marine currents from the river delta to the eastern coasts of Venezuela, with a consequent increase in mercury levels during the rainy season as a result of the increased river runoff (Laya 1992, Rojas *et al.* 2002). This has contributed to mercury enrichment in the study area, particularly in the locality of Río Caribe that is closer to the Orinoco River delta. The predominant marine currents in the eastern region of Venezuela (where the Orinoco River discharges) flow towards the Gulf of Paria and then to the north coast of Sucre State (Bonilla *et al.* 1993, Gopaul and Wolf 1996), where the two sampling sites are located. These currents can transport or transfer mercury associated with fine particles (Luoma 1990), enriching the coasts of Sucre State with this metal.

Though there are no records of atmospheric mercury transport for the study area, it is important to mention that this could also be influencing the increase of this metal at the sampling sites. The air mass could be moving atmospheric mercury from the Orinoco region, where the deposition rates for this metal in particular are high, ranging from 9.1 to 239.2  $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$  in the areas contaminated by gold exploitation. These values are five-fold higher than those reported elsewhere (1–69  $\text{ng m}^{-2} \text{h}^{-1}$ , García-Sánchez *et al.* 2006).

The fact that the specimens from Río Caribe had higher values of mercury than those from Chacopata may suggest the existence of an east-west mercury gradient associated with mercury deposition by marine currents that favour the transport of Orinoco River waters towards the north coast of Sucre State (Bonilla *et al.* 1993).

In the case of the Río Caribe specimens, the mercury levels and mussel size were inversely related, the metal concentrating primarily in small-sized organisms. Other studies have also found an inverse relationship between size and mercury concentrations in fish (Toledo *et al.* 2000, Cecilio *et al.* 2006). This has been attributed to the phenomenon known as “biological dilution”, in that tissue growth is faster than metal intake (Geffard *et al.* 2002). Some studies have shown a negative relationship between mercury accumulation and size (age) of the organisms (Wang and Wong 2003). However, Besada *et al.* (2006) found that in three tuna species (*Thunnus alalunga*, *T. albacares*, and *T. obesus*) the concentrations of mercury

surgencia que pueden ser el resultado del incremento de las corrientes marinas provocando una remoción de partículas del sedimento hacia la columna de agua.

Por otro lado, se pudo evidenciar que durante la época de lluvias en la región oriental también se encontraron elevados niveles de mercurio, particularmente en junio, para ambas zonas, y en agosto para Río Caribe. Durante junio se inician las lluvias en la región oriental y es posible que los altos niveles de mercurio estén asociados a las descargas fluviales provenientes del delta del Orinoco. Se ha señalado la gran influencia que tienen las aguas provenientes del Orinoco y el Caroní en las costas orientales de Venezuela. Las corrientes marinas movilizan, desde el delta del Orinoco, el mercurio proveniente de la explotación aurífera río arriba, con el consecuente incremento asociado a las descargas de este río en la época de lluvias (Laya 1992, Rojas *et al.* 2002). Esto ha podido contribuir al enriquecimiento de mercurio en las zonas de estudio, particularmente la zona de Río Caribe que está más cerca del delta del Orinoco. En este sentido, las corrientes marinas que predominan en la región oriental de Venezuela, donde descarga el Río Orinoco, se dirigen hacia el Golfo de Paria y luego a la costa norte del Estado Sucre (Bonilla *et al.* 1993, Gopaul y Wolf 1996) donde se encuentran los dos sitios muestreados en el presente trabajo. Estas corrientes permiten el transporte o transferencia de mercurio asociado a las partículas finas (Luoma 1990), enriqueciendo con este metal las costas del Estado Sucre.

Aunque no se tienen registros sobre el flujo atmosférico de mercurio en la zona de estudio, es importante señalar que éste también pudiera estar influyendo en el incremento del metal en las áreas de muestreo. Las masas de aire pudieran estar movilizándolo el mercurio atmosférico desde la región del Orinoco, donde este metal es particularmente abundante, con tasas de depósito entre 9.1–239.2  $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$  en las áreas contaminadas por la explotación de oro. Estos valores son cinco veces mayores que los rangos reportados a nivel mundial (1–69  $\text{ng m}^{-2} \text{h}^{-1}$ , García-Sánchez *et al.* 2006).

Los mayores niveles de mercurio encontrados en los ejemplares capturados en Río Caribe en comparación con los de Chacopata pudiera sugerir la existencia de un gradiente de mercurio en dirección este-oeste asociado a la depositación de mercurio en función de las corrientes marinas que favorecen el desplazamiento de las aguas fluviales del Orinoco hacia la costa norte del Estado Sucre (Bonilla *et al.* 1993).

En los ejemplares provenientes de Río Caribe las concentraciones de mercurio y la talla estuvieron relacionadas inversamente, el metal se concentró principalmente en organismos de talla pequeña. Esto coincide con los resultados obtenidos con peces, en los que se ha encontrado una relación inversa entre el tamaño y las concentraciones de mercurio (Toledo *et al.* 2000, Cecilio *et al.* 2006). En este sentido se ha señalado el fenómeno llamado “dilución biológica”, en el que el crecimiento del tejido es más rápido que la incorporación del metal (Geffard *et al.* 2002). Algunos estudios sobre la cinética de acumulación del mercurio y su relación con la talla de los organismos han mostrado una relación negativa de la acumulación

increased with the length of the fish, so it is possible that these species biomagnify this metal in their tissues. At Chacopata, however, no relationship was found between mercury levels and organism size, probably because the metal levels were significantly lower at this site.

These findings indicate that mercury intake not only depends on the reproductive stages, but also on many other factors that determine the concentration of this metal in tissues. The levels of mercury in soft tissues depends on the metabolic activity characteristic of each developmental stage of the organisms and the induction of specific mechanisms to counteract its toxic effect and depuration. It is possible that the mercury levels detected in *P. viridis* from Chacopata are not sufficiently high to indicate some type of association with the size or sex, as was determined for Río Caribe, where the concentrations of this metal were practically double those recorded for Chacopata.

The mercury concentrations found in this study were higher than those previously reported for the sampling sites (Rojas *et al.* 2002). They were also 9% and 3% higher than the maximum levels permitted (1 mg kg<sup>-1</sup> d.w.) for human consumption by the World Health Organization at Río Caribe and Chacopata, respectively.

English translation by Christine Harris.

## References

- Adefemi OS, Olaofe O, Asaolu SS. 2007. Seasonal variation in heavy metal distribution in the sediment of major dams in Ekiti-State. Pak. J. Nutr. 6: 705–707.
- Agard JB, Kishore R, Bayne B. 1992. *Perna viridis* (Linnaeus, 1758): First record of the indo-pacific green mussel (Mollusca: Bivalvia) in the Caribbean. Carib. Mar. Stud. 3: 59–60.
- Ahn I, Kang J, Kim K. 2001. The effect of the body size on metal accumulation in the bivalve *Laternula elliptica*. Antarct. Sci. 13: 355–362.
- Aparicio-Castro R. 1994. Revisión de las características oceanográficas de la plataforma nororiental de Venezuela. In: La Sardina (*Sardinella aurita*), su Medio Ambiente y Explotación en el Oriente de Venezuela. IRD Edition, Francia, pp. 171–206.
- Avelar W, Mantelatto E, Tomazelli A, Silva D, Shuhama T, Lopes J. 2000. The marine mussel *Perna perna* (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae) as an indicator of contamination by heavy metals in Ubatuba Bay, Sao Paulo, Brazil. Water, Air, Soil Pollut. 118: 65–72.
- Bakun A, Nelson CS. 1991. The seasonal cycle of wind-stress curl in subtropical eastern boundary current regions. J. Phys. Oceanogr. 21: 1815–1834.
- Beapherthuy I. 1967. Los Mitílidos de Venezuela (Mollusca: Bivalvia). Bol. Inst. Oceanogr. 6: 7–115.
- Besada V, González JJ, Schultze F. 2006. Mercury, cadmium, lead, arsenic, copper and zinc concentrations in albacore, yellowfin tuna and bigeye tuna from the Atlantic Ocean. Cienc. Mar. 32: 439–445.
- Bonilla RJ, Senior W, Bugden J, Zafiriou O, Jones R. 1993. Seasonal distribution of nutrients and primary productivity on the eastern continental shelf of Venezuela as influenced by the Orinoco River. J. Geophys. Res. 98: 2245–2259.
- de mercurio con respecto al tamaño (edad) de los organismos (Wang y Wong 2003). Sin embargo, Besada *et al.* (2006) encontraron que, en tres especies de atún (*Thunnus alalunga*, *T. albacares* y *T. obesus*), las concentraciones de mercurio aumentaron con la longitud de los peces, por lo que es posible que estas especies biomagnifiquen el mercurio en sus tejidos. Por el contrario, para Chacopata no se encontró relación entre los niveles de mercurio y la talla de los organismos, posiblemente debido a que los niveles del metal fueron significativamente menores en esa zona.
- Estos resultados señalan que la incorporación de mercurio no sólo depende de los estadios reproductivos, sino que existen muchos otros factores que están determinando la concentración de mercurio en los tejidos. La concentración de metal en el tejido blando depende de la actividad metabólica característica de cada estadio de desarrollo de los organismos y la inducción de mecanismos específicos para contrarrestar el efecto tóxico del metal y su depuración. Es posible que los niveles de mercurio detectados en *P. viridis* de Chacopata no sean lo suficientemente altos como para evidenciar algún tipo de asociación con la talla o el sexo, como fue determinado para Río Caribe donde se presentaron niveles de mercurio que prácticamente duplicaron los obtenidos en Chacopata.
- Las concentraciones de mercurio encontradas en la presente investigación son mayores a las señaladas previamente para las áreas de muestreo (Rojas *et al.* 2002). En las localidades de Río Caribe y Chacopata, tales concentraciones también resultaron 9% y 3% respectivamente, por encima de los niveles máximos permitidos (1 mg kg<sup>-1</sup> p.s.) por la Organización Mundial de la Salud (WHO) para el consumo humano.
- Carrasquero-Durán A. 2006. Mercury contamination of workers of gold processing centers at El Callao, Venezuela. J. Argent. Chem. Soc. 94: 91–100.
- Castañeda J. 2006. Hidrografía y aspectos dinámicos de la plataforma norte de la Península de Paria, durante 2005. Trabajo de investigación para ascender a Profesor Asociado. Universidad de Oriente, Venezuela, 58 pp.
- Cecilio P, Raimundo J, Canario J, Vale C, Sequeira M. 2006. Relationships between total and organic mercury concentrations in tissues and length of common dolphins (*Delphinus delphis*) from the Portuguese coast. Cienc. Mar. 32: 379–387.
- Cossa D, Cotte-Krief MH, Masin RP, Breteau-Sanjuan J. 2004. Total mercury in the water column near the shelf edge of the European continental margin. Mar. Chem. 90: 21–29.
- Fernández N, Cesar A, González M, DelValls A. 2006. Level of contamination in sediments affected by the *Prestige* oil spill and impact on the embryo development of the sea urchin. Cienc. Mar. 32: 421–427.
- García-Sánchez A, Contreras F, Adams M, Santos F. 2006. Atmospheric mercury emissions from polluted gold mining areas (Venezuela). Environ. Geochem. Health 28(6): 529–540.
- Geffard A, Amiard JC, Amiard-Triquet C. 2002. Use of metallothionein in gills from oysters (*Crassostrea gigas*) as a biomarker: Seasonal and inter-site fluctuations. Biomarkers 7: 123–137.
- González-Quijano A, García A, Fumega J, González JJ. 2006. Temporal variation of PCB concentrations in mussel tissue in two areas of Santander Bay (Spain). Cienc. Mar. 32: 465–469.



- Gopaul NH, Wolf J. 1996. A numerical model of tidal and wind-driven circulation in the Gulf of Paria. *Caribb. Mar. Stud.* 5: 23–40.
- Gutiérrez-Galindo E, Muñoz-Barbosa A. 2001. Short-term temporal variability of Ag, Cd and Cu in *Mytilus californianus* and the effectiveness of this organism as a bioindicator. *Cienc. Mar.* 27: 269–288.
- Gutiérrez-Galindo EA, Villaescusa-Celaya JA, Arreola-Chimal A. 1999. Bioaccumulation of metals in mussels from four sites of the coastal region of Baja California. *Cienc. Mar.* 25: 557–578.
- Gutiérrez-Galindo EA, Casas-Beltrán DA, Muñoz-Barbosa A, Macías-Zamora JV, Segovia-Zavala JA, Orozco-Borbón MV, Daessle LW. 2007. Spatial distribution and enrichment of mercury in surface sediments off the northwest coast of Baja California, Mexico. *Cienc. Mar.* 33: 473–482.
- Hultberg B, Andersson A, Isaksson A. 2001. Interaction of metals and thiols in cell damage and glutathione distribution: Potentiation of mercury toxicity for dithiothreitol. *Toxicology.* 156: 93–100.
- Laffon B, Aldao I, Pérez-Cadahia B, Pasaro E, Méndez J. 2006. First step in the evaluation of the effects of *Prestige* oil on the shore environment: Availability, bioaccumulation and DNA damage. *Cienc. Mar.* 32: 389–399.
- Laya W. 1992. Determinación de contenido mercurial en tejidos de peces, sedimentos y agua del bajo Caroní y zona de confluencia con el río Orinoco, estado Bolívar, Venezuela. B.Sc. dissertation, Universidad de Oriente, Venezuela, 42 pp.
- Livingstone DR. 2001. Contaminant stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar. Pollut. Bull.* 42: 656–666.
- Lodeiros C, Marín B, Prieto A. 1999. Catálogos de Moluscos Marinos de las Costas Nororientales de Venezuela: Clase Bivalvia. Edición APUDONS.
- Luoma S. 1990. Processes affecting metal concentrations in estuarine and coastal marine sediments. In: Furness R, Rainbow P (eds.), *Heavy Metals in the Marine Environment*. CRC Press, Florida, pp 51–66.
- Martín-Díaz ML, Riba I, Casado-Martínez MC, DelValls A. 2006. Bioavailability of metals in sediments from Spanish estuaries using *Carcinus maenas*. *Cienc. Mar.* 32: 412–420.
- Martínez G, Senior W, Márquez A. 2006. Heavy metal speciation in the surface water dissolved fraction of the low watershed and plume of the Manzanares River, Sucre State, Venezuela. *Cienc. Mar.* 32: 229–237.
- Muñoz-Barbosa A, Gutiérrez-Galindo EA, Flores-Muñoz G. 2000. *Mytilus californianus* as indicator of heavy metals on the north-west coast of Baja California, Mexico. *Mar. Environ. Res.* 49: 123–144.
- Narasimhan K. 1980. Fishery and biology of the green mussel *Perna viridis* (Linnaeus). In: *Mussel Farming: Progress and Prospects*. Bull. Cent. Mar. Fish. Res. Inst. 29: 10–17.
- Prego R, Cobelo-García A, Marmolejo-Rodríguez J, Santos-Echeandía J. 2006. Trace elements in the *Prestige* fuel-oil spill: Levels and influence on Laxe Ria sediments (NW Iberian Peninsula). *Cienc. Mar.* 32: 179–186.
- Regoli F, Principato G. 1995. Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to metal under field and laboratory conditions: Implications for the use of biochemical biomarker. *Aquat. Toxicol.* 31: 143–164.
- Rojas de AL, Chang I, Agard J, Bekele I, Hubbard R. 2002. Heavy metal in green mussel (*Perna viridis*) and oyster (*Crassostrea sp.*) from Trinidad and Venezuela. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 42: 410–415.
- Rylander K, Pérez J, Gómez J. 1996. Status of the green mussel *Perna viridis* (Linnaeus 1958) (Mollusca: Mytilidae) in north-eastern Venezuela. *Caribb. Mar. Stud.* 5: 86–87.
- Soriano-Sanz JA, Franco-Hernández A, Viñas-Diéguez L, Cambeiro-Cambeiro B, González-Fernández JJ. 2006. Preliminary data on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in wild mussels from the Cantabrian coast (N Spain) following the *Prestige* oil spill. *Cienc. Mar.* 32: 457–463.
- Strong C, Luoma S. 1981. Variations in the correlation of body size with concentrations of Cu and Ag in the bivalve *Macoma balthica*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 1059–1064.
- Toledo J, Lemus M, Chung KS. 2000. Contenido de cobre, cadmio y plomo en el pez estuarino *Cyprinodon dearborni* (Pisces: Cyprinodontidae), sedimentos superficiales y agua de las lagunas Chacopata y los Patos, Edo. Sucre, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 225–231.
- Valdés J, Román D, Dávila P, Ortlieb L, Guíñez M. 2006. Variabilidad estacional de cadmio en un sistema de surgencia costera del norte de Chile (Bahía Mejillones del Sur, 23° S). *Rev. Chil. Hist. Nat.* 79: 517–535.
- Wang W, Wong R. 2003. Bioaccumulation kinetics and exposure pathways of inorganic mercury and methylmercury in a marine fish, the sweetlips *Plectorhinchus gibbosus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 260: 257–268.

*Recibido en febrero de 2008;  
aceptado en diciembre de 2008.*