



Universidad Central de Venezuela
Facultad de Ciencias
Escuela de Biología
Departamento de Ecología



Trabajo Especial de Grado

Evaluación de las concentraciones de Pb, Cd, Ni, Cr y Cu en *Amphimedon viridis* y *Niphates erecta* en ambientes contrastantes respecto al impacto antrópico

Tutores:

Prof. Ismael Hernandez Valencia

Profa. Estrella Villamizar

Presentado por:

Isabel Urbina Barreto

Octubre 2010

**EVALUACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Pb, Cd, Ni, Cr y Cu EN
Amphimedon viridis Y *Niphates erecta* EN AMBIENTES CONTRASTANTES
RESPECTO AL IMPACTO ANTRÓPICO**

Isabel Urbina Barreto

Trabajo especial de grado presentado
ante la Facultad de Ciencias de la ilustre
Universidad Central de Venezuela como
requisito parcial para optar por el título de
Licenciado en Biología.

Dr. Ismael Hernández-Valencia, Tutor

Fecha

Dra. Estrella Villamizar, Tutora

25 de octubre del 2010

*A mi hermana Ifigenia,
por ser mi mitad, mi complemento,
por ser parte esencial de mi alma, te amo.*

*La vida es como la espuma,
por eso hay que darse como el mar...*



AGRADECIMIENTOS

Antes de empezar me gustaría decir que este trabajo lo he logrado con la ayuda de muchísimas personas, intentaré nombrar a todos.

Primeramente, quisiera agradecer a mis tutores, el Profesor Ismael Hernández Valencia por aceptarme como tesista desde el primer día que llegue a su oficina planteándole todas mis inquietudes y proponiéndole mis intereses e ideas sobre mi trabajo de investigación, sin conocerme, se comprometió conmigo y hasta el final ha estado presente apoyándome y dándome ánimos en todos los momentos que lo necesite, su disciplina, comprensión, exigencia y objetividad fueron y seguirán siendo una gran fuente de enseñanza para mí. La profesora Estrella Villamizar por ser como una madre, escuchar mis ideas y guiarme dentro de ellas, abrirme las puertas y caminos, darme sus opiniones y confiar en mí. Gracias a los dos pude encontrar y elegir mi pasión dentro de las ciencias biológicas, me especialicé por un campo que disfruto y que me interesa muchísimo.

A la profesora María A. Alvaréz, quisiera darle un agradecimiento especial, ya que, sin su apoyo en la parte de la metodología química este proyecto no hubiera sido posible, su perseverancia, paciencia y firmeza lograron que tuviera el empuje y energía necesaria para poder trabajar en un campo que era totalmente nuevo para mí, no puedo dejar de nombrar a sus tesistas Anamelia, María Carolina, Carmen y Carla que me ayudaron y guiaron en todo el trabajo de laboratorio. A la profesora Nancy Hernández y Lenny por apoyarme en las salidas de campo a Puerto la Cruz. A Carlos Rivas, biólogo de la Estación Biológica Dos Mosquises en el P.N. A. de Los Roques por siempre estar a la orden con cualquier ayuda que podría prestarme, por los buceos y por todo el apoyo que me dió desinteresadamente, gracias por todo esa energía.

En el ámbito mas personal quisiera agradecer a mis padres, mi mamá por la compañía e inmenso apoyo en todo momento, siempre pendiente de que mi desarrollo académico sea el mas excelente posible, por enterderme en mis crisis en este largo proceso que es licenciarse y hacerse profesional, por escucharme

todas mis dudas, rabias, desencantos, molestias y felicidades; entenderlas (algunas veces no se ni como), y voltear la página para mostrarme que me quedan muchas cosas más, que lo importante es seguir adelante. A mi papá, por estar siempre a mi lado, por nunca faltar, por su inmenso amor que siempre esta presente, por haber sido mi modelo a seguir para escoger esta carrera; apoyándome con sus conocimientos desde el inicio al final, reconociendo mis triunfos y entendiendo mis fallas. A mis hermanos, Ifigenia que vive dentro de mi alma y nos amamos tanto, como dice ella: isa siempre estamos juntas, ese amor será siempre una razón para seguir; a Jota por ser un ejemplo de tenacidad y fortaleza frente a todas las situaciones que nos presenta vida. A mi ari por que eres mi otra morocha y aprendo tanto de tí, perseverancia, autoexigencia, comprensión, paciencia y buenas energías nos mantendrán conectadas de por vida.

Quiero dar un efusivo agradecimiento a mi tío el Dr. Gustavo Montes por que no dudó en ningún momento y acudió inmediatamente cuando le pedí sus observaciones y comentarios sobre este proyecto; por ser además fuente de inspiración infinita gracias a su firmeza, persistencia y siempre ese buen sentido del humor. A mi tío Freddy por sus consejos y sus opiniones que siempre los tomaré en cuenta, a mi tía María Helena por su cariño y ofrecerme su visión distinta del mundo.

No puedo dejar de nombrar a las personas que me permitieron ver la vida como la veo desde hace unos 4 años, prácticamente volví a nacer; gracias al profe C. Ayesta, por ser mi mentor en una de las adicciones mas placentera de mi vida, todo lo que he visto gracias a tí me ha tranformado enormemente; me lo advertiste al momento que quise empezar a trabajar en el laboratorio, pues sí, aprovecho la ocasión para confirmarte que, felizmente la fotografía me cambio la vida. A Sandi por su interminable generosidad, admirable comprensión y sus acertadas opiniones y visiones de la vida, tu amor de padre ha sido un agradable refugio para mí en muchos momentos. A Pavel por abrirme las ventanas para salir a volar y ver otros mundos través del lente, espero que sigamos haciéndolo.

A Alejandra por su cariño, apoyo incalculable, ayuda y consejos en todo el tiempo que estuve trabajando en el laboratorio.

Finalmente, quiero darle gracias a los grandes amores de mi vida, pues he crecido amando y descubrí que amando se crece. A todos mis amigos por estar siempre en los distintos aspectos de mi vida y en especial a los escaladores por poder compartir con ellos la mayor pasión de mi vida, creanme que sin ustedes no hubiera podido encadenar este paso de mi vida.

Resumen

Evaluación de las concentraciones de Pb, Cd, Ni, Cr y Cu en *Amphimedon viridis* y *Niphates erecta* en ambientes contrastantes respecto al impacto antrópico

Isabel Urbina Barreto
Escuela de Biología, Departamento de Ecología.
Universidad Central de Venezuela
Dr. Ismael Hernández-Valencia, Tutor
Dra. Estrella Villamizar, Tutora

La intensificación de las actividades antrópicas, con el inicio de la Revolución Industrial, produjo impactos notorios sobre los ecosistemas marinos, ya que éstos son sitios primordiales de recepción de efluentes industriales y domésticos, así como asiento de diferentes actividades productivas como pesquería, transporte de bienes y personas, y turismo. Los ecosistemas marinos están sujetos a una gran cantidad de perturbaciones. Actualmente los estudios de impacto ambiental consideran sus análisis desde el nivel molecular hasta ecosistémico, incluyendo la amplia gama de especies que representan diferentes niveles tróficos y hábitats, para dar una visión en conjunto de las presiones que se mantienen sobre estos (Cebrian, y col. 2006).

Los metales pesados son elementos que se encuentran entre los contaminantes más frecuentes resultantes de las actividades antrópicas; sin embargo, la determinación e interpretación del comportamiento de estos elementos en el medio marino es compleja, debido a la naturaleza y características del medio. En todo caso, la calidad química de las aguas, sedimentos y de la biota marina pueden ser reflejo de la contaminación a la cual ha estado sometida un área específica.

Esta investigación llevó a cabo una evaluación comparativa de las concentraciones de metales pesados en dos especies de esponjas marinas en diferentes localidades de la costa venezolana, con el objetivo de evaluar su posible capacidad para reflejar las condiciones del entorno marino en cuanto a la contaminación con estos elementos. La selección de esponjas se debe a que son organismos sésiles, exclusivamente filtradores y desarrollan su ciclo de vida

en un mismo lugar. Estos rasgos los hacen potencialmente útiles como biomonitores, bioindicadores o “vigilantes” biológicos. Para ello se determinaron las concentraciones de Pb, Cd, Ni, Cr y Cu en las esponjas marinas, *Amphimedon viridis* y *Niphates erecta* y en los sedimentos de dos ambientes arrecifales contrastantes respecto a su impacto antrópico, uno ubicado en el Parque Nacional Archipiélago de Los Roques específicamente en la zona de Dos Mosquises, sin ninguna influencia de industrias pesadas, aunque sí del tránsito turístico de embarcaciones y otro en la Bahía de Bergantín, estado Anzoátegui, ubicada frente a una refinería petrolera, con un tránsito pesado de buques y recepción de descargas domésticas e industriales. Las esponjas fueron procesadas a través de una digestión ácida en horno microondas, en tanto que para los sedimentos se llevó a cabo un protocolo de extracción secuencial BCR-701 que incluyó hasta sus etapas 1 y 2 (total de metales biodisponibles). Las concentraciones totales de los elementos traza en ambos tipos de muestras se determinaron por Espectrometría de Absorción Atómica Electrotérmica (ETAAS) y adicionalmente se hizo la determinación de materia orgánica total (MOT) y granulometría de los sedimentos.

A través de los análisis estadísticos, se determinó que existen interacciones significativas para las concentraciones de níquel (Ni), cromo (Cr) y cobre (Cu) entre las dos especies y las dos localidades, siendo los niveles promedio de la concentración de níquel para *Niphates erecta* significativamente mayores en el P. N. A. Los Roques, en comparación a las concentraciones de cromo (Cr) que presentaron diferencias significativas para las dos localidades, siendo las concentraciones de ambas especies mayores en Bahía de Bergantín que en el P. N. A. Los Roques. La concentración de cobre (Cu) fue significativamente mayor para la especie *N. erecta* en la Bahía de Bergantín respecto a la media de la misma especie en el P. N. A. Los Roques y las concentraciones de *A. viridis* en ambas localidades estudiadas. Las concentraciones de plomo (Pb) y cadmio (Cd) se analizaron por pruebas unifactoriales dando diferencias significativas entre los valores promedio de localidades (el Pb resultó mayor en la Bahía de Bergantín y el cadmio en el P. N. A. de Los Roques), mas no entre las especies.

Por otro lado, se determinaron las concentraciones en los sedimentos para las dos primeras etapas de la extracción secuencial y se encontró que las mismas fueron significativamente mayores para el Pb, Cr y Cu en el P. N. A. Los Roques que para la Bahía de Bergantín, pero no se observaron diferencias significativas entre las dos localidades para el Cd y el Ni.

Las concentraciones de cobre y níquel son las más altas entre los metales analizados en los sedimentos de ambas localidades y estos son también los metales más acumulados por ambas especies de poríferos; sin embargo no hay una estricta proporcionalidad entre éstas. Las inconsistencias de los contenidos de metales pesados entre las esponjas y los sedimentos, la podemos atribuir principalmente a las diferencias en las características mineralógicas de los sedimentos de cada zona de estudio (mayoritariamente carbonatos para P. N. A. de Los Roques en contraste con mayoritariamente terrígenos alumino-silicatos para la Bahía de Bergantín), así como también a las diferencias en la hidrodinámica de los sitios.

Como conclusiones de este trabajo podemos decir que existe bioacumulación de los metales pesados en ambas especies de esponjas, *N. erecta* y *A. viridis*., *Niphates erecta* en general fue la especie que acumuló más metales pesados (Pb= 0,55-2,6 μ g g⁻¹; Ni= 3,3-23 μ g g⁻¹; Cu= 11-19 μ g g⁻¹) comparada con *A. viridis* (Cd= 0,79-2,31 μ g g⁻¹ Cr= 0,33-2,8 μ g g⁻¹; Cu=10,4-10,6 μ g g⁻¹). El metal que fue bioacumulado en mayor concentración para las dos especies de esponjas en ambas localidades fue el cobre (Cu), lo que sugiere que pueden existir en estos organismos mecanismos específicos de incorporación y retención de este elemento.

Palabras claves: Esponjas, metales pesados, contaminación, bioacumuladores.

Summary

The intensification of anthropic activities, particularly since the beginning of the Industrial Revolution, has led to notorious impacts in many marine ecosystems, as these are the final receptors of most industrial and domestic waste, as well as the sites of many productive activities, among them fisheries, transport of goods and people, and tourism. Currently, studies of environmental impact include analyses from the molecular level to the whole ecosystem, including the wide spectrum of living species corresponding to the different habitats and trophic levels, to give an integrated vision of the set of pressures being exerted on the systems (Cebrian, *et al.* 2006).

Heavy metals are among the most common contaminants resulting from anthropic activities. However, the analysis of the behavior of these elements in marine ecosystems is complex due to the special characteristics of these environments. In any case, it is expected that the chemical quality of the waters, sediments and marine biota of a given area could reflect the contaminant pressures it had been subjected to.

In this work we carried out a comparative evaluation of the concentration of heavy metals in two species of marine sponges at two different locations of the Venezuelan coast, in order to analyze their potential capacity to reflect the contamination of their environments by these elements. The selection of these species of sponges was due to the fact that both of them are sessile, feed exclusively by filtration and develop their full life cycle in a given site. Such characteristics make them potentially useful as biomonitors, bioindicators or biological "vigilants". To evaluate this hypothesis the concentrations of Pb, Cd, Ni, Cr y Cu were evaluated in the marine sponges *Amphimedon viridis* and *Niphates erecta* and sediments in two contrasting coral reef environments, the National Park Los Roques archipelago (particularly in the Dos Mosquices area) without the impact from heavy industries, and Bergantín Bay, Anzoátegui state, located in front of an oil refinery with heavy traffic of ships, as well as domestic and industrial discharges. The sponges were processed by acid digestion in a

microwave oven while for the sediments a protocol of sequential extraction (BCR-701, stages 1 and 2) was used, leading to total bioavailable metals. The total concentrations of the trace metals in both types of samples were determined using Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy (ETAAS); additionally, the content of total organic matter of the samples was determined and granulometric analysis of the sediments was carried out.

Statistical analysis of the results indicated that there were significant interactions among the concentrations of Ni, Cr and Cu for the two species in the two locations: the mean concentration of Ni in *Niphates erecta* was significantly higher in National Park Los Roques than at Bergantín Bay and higher than those in *A. viridis* in both locations, while Cr mean levels for both species were higher in Bergantín Bay than in National Park Los Roques. For Cu the mean levels in *Niphates erecta* were significantly higher in Bergantín Bay than in National Park Los Roques and higher than those in *A. viridis* in both locations. The results of the assays for Pb and Cd were analyzed using unifactorial tests, which indicated statistically significant differences between the two locations (Pb higher in Bergantín Bay than in National Park Los Roques, while the converse was true for Cd), but no significant differences were seen among the sponge species.

On the other hand, the levels of heavy metals in sediments were determined following the two-stage sequential extraction method and it was found that the mean values for Pb, Cr y Cu in National Park Los Roques were higher than for Bahía Bergantín Bay, but no significant differences were observed for Cd y el Ni among the two locations.

The levels of Cu and Ni were the highest in the sediments of both locations and also in the two sponges, but there were no quantitative proportionality between the levels in sediments and sponges. This lack of consistency could be attributed to the different mineralogical properties of the sediments of the two locations (mostly carbonates for those of National Park Los Roques in contrast to mostly terrigenous in Bergantín Bay), as well as to differences in the hydrodynamics at the two sites.

In conclusion, it was shown that both sponge species, *N. erecta* and *A. Viridis*, can accumulate significant levels of the heavy metals investigated. In general, *Niphates erecta* displayed higher levels of accumulation (Pb= 0,55-2,6 $\mu\text{g g}^{-1}$; Ni= 3,3-23 $\mu\text{g g}^{-1}$; Cu= 11-19 $\mu\text{g g}^{-1}$) compared with *A. viridis* (Cd= 0,79-2,31 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr= 0,33-2,8 $\mu\text{g g}^{-1}$; Cu=10,4-10,6 $\mu\text{g g}^{-1}$). Cu was the metal accumulated at highest level for both species in both locations, suggesting that these organisms may have specific mechanisms for the uptake and retention of this element.

Key words: sponges, heavy metals, pollution, biomarkers.

INDICE

Página

Introducción.....	2
Antecedentes.....	14
Justificación.....	19
Hipótesis.....	20
Objetivos:	
General	20
Específicos	20
Áreas de estudio	22
Materiales y Métodos.....	26
Métodos de campo.....	26
Diseño muestral.....	29
Métodos de laboratorio.....	30
Equipos utilizados	35
Análisis Estadístico.....	36
Resultados	38
Discusión	54
Conclusiones.	61
Recomendaciones	62
Reflexiones.....	65
Referencias Bibliográficas.....	66
Consulta en Línea	67
Anexos.....	69

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.- Sistemas canaliculares de las esponjas.....	6
Figura 2.- Aumento de la concentración de metales a través del tiempo para llegar al valor de estado estacionario, C_{ss}	11
Figura 3.- Mapa de la ubicación relativa de las áreas de estudio.....	22
Figura 4.- Mapa-imagen del área de muestreo en el Parque Nacional Archipiélago de Los Roques.....	23
Figura 5.- Foto, localidad de estudio, Estación Biológica Dos-Mosquises Parque Nacional Archipiélago de Los Roques.....	24
Figura 6.- Mapa-imagen del área de muestreo en la Bahía de Bergantín.....	25
Figura 7.- Foto, localidad de estudio, Bahía de Bergantín, Puerto La Cruz.....	25
Figura 8.- Esquema de toma de muestras de las especies de esponjas, <i>Amphimedon viridis</i> (Av) y <i>Niphates erecta</i> (Ne), en las distintas localidades de estudio.....	29
Figura 9.- Esquema de toma de muestras de sedimentos.....	29
Figura 10.- Esquema de la composición de muestras de esponjas.....	30
Figura 11.- Esquema de digestión total para la disolución de las muestras de esponjas.	31
Figura 12.- Esquema de extracción secuencial, empleado, basado en el protocolo BCR modificado.	34

INDICE DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1.- Promedio de las concentraciones de Ni, para ambas especies de esponjas (<i>N. erecta</i> y <i>A. viridis</i>) para ambas localidades (P.N. Archipiélago de Los Roques y la Bahía de Bergantín).	49
Gráfico 2.- Promedio de las concentraciones de Cr, para ambas especies de esponjas (<i>N. erecta</i> y <i>A. viridis</i>) para ambas localidades (P.N. Archipiélago de Los Roques y la Bahía de Bergantín).	49
Gráfico 3.- Promedio de las concentraciones de Cu, para ambas especies de esponjas (<i>N. erecta</i> y <i>A. viridis</i>) para ambas localidades (P.N. Archipiélago de Los Roques y la Bahía de Bergantín).	50
Gráfico 4.- Promedio de las concentraciones de Pb, para ambas especies de esponjas (<i>N. erecta</i> y <i>A. viridis</i>).	51
Gráfico 5.- Promedio de las concentraciones de Pb para ambas localidades (P.N. Archipiélago de Los Roques y la Bahía de Bergantín).	51
Gráfico 6.- Promedio de las concentraciones de Cd, para ambas especies de esponjas (<i>N. erecta</i> y <i>A. viridis</i>).	52
Gráfico 7.- Promedio de las concentraciones de Cd para ambas localidades (P.N. Archipiélago de Los Roques y la Bahía de Bergantín).	52

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1.- Metales (Cd, Cu, Cr, Ni, Pb) fuentes y presencia de estos elementos asociadas a actividades antrópicas.	1
Tabla 2.- Resumen características del filo poríferos.	4
Tabla 3.- Tipos de sistemas canaliculares.	6
Tabla 4.- Apertura de las mallas utilizadas para el tamizado de las muestras....	32
Tabla 5.- Parámetros físico-químicos de las localidades de estudio.....	35
Tabla 6.- Tabla resumen con los promedios del peso de las distintas fracciones granulométricas estudiadas para las localidades de estudio.....	36
Tabla 7.- Valores promedios de materia orgánica total para cada localidad.....	36
Tabla 8.- Concentración de metales pesados Pb, Cd, Ni, Cr, Cu en los sedimentos de ambas localidades de estudio. Etapa 1 de la extracción secuencial.	40
Tabla 9.- Concentración de metales pesados Pb, Cd, Ni, Cr, Cu en los sedimentos de ambas localidades de estudio. Etapa 2 de la extracción secuencial.	41
Tabla 10.- Concentración de metales pesados Pb, Cd, Ni, Cr, Cu en los sedimentos de ambas localidades de estudio. Etapa 1 y 2 de la extracción secuencial.	42
Tabla 11.- Comparación de publicaciones de estudios sobre concentraciones de metales pesados en sedimentos de distintas localidades de Venezuela y el mundo.....	43
Tabla 12.- Normativas internacionales para la calidad de las sedimentos (PDVSA 2000)	44
Tabla 13.- Concentraciones promedio de Pb, Cd, Ni, Cr y Cu por especie y localidad de estudio	44
Tabla 14.- Comparación de publicaciones de estudios sobre concentraciones de metales pesados en organismos.	46

Tabla 15.- Resultados del análisis de varianza de dos vías, por especies (<i>N. erecta</i> , <i>A. viridis</i>) y localidades (P.N. Archipiélago de Los Roques y Bahía de Bergantín) para los metales Ni, Cr y Cu.	47
Tabla 16.- Concentraciones de metales pesados (Pb, Cd, Ni, Cr, Cu) en las esponjas y los sedimentos en las dos localidades de estudio	53
Tabla 17.- Límites de detección de la técnica analítica empleada.	69
Tabla 18.- ANOVA de dos factores con réplicas, para níquel (Ni) ($\alpha=0,05$).....	69
Tabla 19.- Prueba Post – hoc, Test Tukey para níquel	70
Tabla 20.- ANOVA de dos factores con réplicas para cromo (Cr), ($\alpha=0,05$).....	70
Tabla 21.- Prueba Post-hoc (Test Tukey) para cromo.	70
Tabla 22.- ANOVA de dos factores con réplicas para cobre (Cu), ($\alpha=0,05$).....	71
Tabla 23.- Prueba Post-hoc (Test Tukey) para cobre.	71
Tabla 24.- Estadística no paramétrica, prueba Kruskal-Wallis análisis unifactorial, para plomo por especies.	72
Tabla 25.- Estadística no paramétrica, prueba Kruskal-Wallis análisis unifactorial, para plomo, por localidad	72
Tabla 26.- Estadística no paramétrica, prueba Kruskal-Wallis análisis unifactorial, para cadmio, por especies	73
Tabla 27.- Estadística no paramétrica, prueba Kruskal-Wallis análisis unifactorial, para cadmio, por localidad.	73
Tabla 28.- Análisis de varianza de una vía, para cada una de las concentraciones de Pb, Cd, Ni, Cr, Cu en los sedimentos de ambas localidades de estudio, etapa 1	74

Tabla **29**.- Análisis de varianza de una vía, para cada una de las concentraciones de Pb, Cd, Ni, Cr, Cu en los sedimentos de ambas localidades de estudio, etapa 276

Tabla **30**.- Análisis de varianza de una vía, para cada una de las las concentraciones de Pb, Cd, Ni, Cr, Cu en los sedimentos de ambas localidades de estudio, sumatoria etapa 1 y 2.....78

Tabla **31**.- Prueba *t*, para cada una de las fracciones granulométricas.80

Tabla **32**.- Análisis de varianza de un factor para determinar diferencias significativas entre las medias de la materia orgánica total (MOT).84

INTRODUCCIÓN

El estudio de metales pesados en cuerpos de agua, sedimentos y organismos, es importante para establecer sus niveles naturales, variabilidad y origen, principalmente en las áreas más sensibles a la contaminación. El desarrollo industrial ha tenido su asiento, en un porcentaje bastante significativo, en las riberas de ríos, estuarios y bahías, descargando allí los efluentes de desecho que contienen grandes cantidades de sustancias nocivas, las cuales son usualmente dispersadas y transformadas en el mar. Entre estas sustancias, los metales pesados constituyen un caso especial, ya que no se degradan y, una vez depositados, permanecen en el medio ambiente marino sin sufrir prácticamente ningún cambio cualitativo (Martínez y col. 2002).

Los metales pesados (comúnmente llamados así en estudios de contaminación ambiental) o metales traza, son elementos químicos cuya densidad es por lo menos cinco veces mayor que el agua. Algunos metales son indispensables en pequeñas concentraciones para procesos biológicos muy específicos, pero al tener concentraciones mayores a las necesarias producen toxicidad en el organismo. Muchos de estos metales son utilizados en los procesos industriales (Tabla 1) y de servicios, entre los más importantes se encuentran: arsénico (As), cromo (Cr), hierro (Fe), níquel (Ni), cobre (Cu), cadmio (Cd), plomo (Pb), mercurio (Hg), estaño (Sn) y cobalto (Co).

Tabla 1.- Metales pesados (Cd, Cu, Cr, Ni, Pb): Fuentes y presencia de estos elementos asociadas a actividades antrópicas. (OPS 1987)

Metal	Fuentes
Cadmio (Cd)	Descargas de desechos industriales, lixiviación de áreas de relleno, suelos donde se han agregado lodos cloacales, fertilizantes a base de fosfatos, fabricación de aleaciones y soldaduras, revestimientos metálicos, como pigmentos, como estabilizador en los materiales plásticos y en baterías.
Cobre (Cu)	Asociado a industrias textiles y de cerámicas, fertilizantes de base inorgánica y para la fabricación de pigmentos, cables y antinsecrústicos agregados en los cascos de los barcos.

Cromo (Cr)	Emisiones industriales, lodos cloacales, aleaciones, galvanizados, agentes oxidantes, como inhibidor de corrosión, fabricación de pigmentos, industrias textiles, de cerámica, de vidrios y fotográfica.
Níquel (Ni)	Descargas industriales, aleaciones revestimiento y laminación de metales, para catalizadores, en baterías y ciertos fungicidas. Los productos y derivados de los hidrocarburos venezolanos se caracterizan por tener alta presencia de este metal.
Plomo (Pb)	Trabajos de minería, fundición y empleo de productos elaborados con plomo. Gasolinas, fabricación de acumuladores ácidos, soldaduras, pigmentos, municiones, calafateo y revestimientos de cables. Material de techado y tuberías.

La contaminación por metales pesados en el ámbito marino ha sido rara vez evaluada mediante el análisis de la concentración de metales en la columna de agua debido a las limitaciones metodológicas para la detección de metales en las bajas concentraciones en las que suelen estar presentes en agua de mar. En contraste, los estudios sobre la contaminación de metales en los sedimentos son más fáciles de realizar y permiten obtener información de cierto período de los contaminantes en el medio. En los sedimentos se acumulan los metales contaminantes, y por lo tanto las concentraciones de metales se pueden medir con mayor precisión (Cebrian y col. 2007).

El análisis de sedimentos tiene algunos inconvenientes, ya que la cantidad de metales que se encuentran en gran medida depende de las características del sedimento (Rainbow 1995). Muchas esponjas son capaces de acumular trazas de metales y siendo muy tolerantes a estos contaminantes (Bowen y Sutton 1951).

Los invertebrados marinos se encuentran rodeados de una solución de metales disueltos en concentraciones que van de nanogramos por litro en el océano abierto (*p.ej.* Ag, Hg) a microgramos por litro en zonas costeras (*p.ej.* Cu, Zn). A pesar de las concentraciones bajas de los metales en el medio ambiente, los organismos marinos toman y acumulan metales pesados en sus tejidos blandos en concentraciones de órdenes de magnitud superiores a los niveles presentes considerados en el medio que los rodea (Rainbow y col. 1990).

Las esponjas marinas pertenecen al phylum de los Poríferos (L, porus, poro, +fero, llevar). (Hickman 1994). Este phylum es relativamente pequeño, estando compuesto entre 5000 y 5500 especies descritas y un número desconocido, ciertamente grande de animales no descritos, (Simpson 1984). La Tabla 2 resume las características más importantes del phylum.

Tabla 2.- Resumen características del filo poríferos (Hickman 1994)

<ul style="list-style-type: none"> • Pluricelulares; cuerpo formado por una agregación laxa de células de origen mezenquimático.
<ul style="list-style-type: none"> • Cuerpo perforado por poros (ostíolos), con canales y cámaras que sirven para el paso de agua.
<ul style="list-style-type: none"> • Todos acuáticos, la mayoría marinos.
<ul style="list-style-type: none"> • Con simetría radiada o sin simetría.
<ul style="list-style-type: none"> • Epidermis de células aplanadas, pinacocitos; gran parte de las cavidades internas tapizadas por células flageladas con embudo o collar (coanocitos), que provocan las corrientes de agua; una matriz proteica, gelatinosa, llamada mesohilo, contiene amebocitos de varios tipos y elementos esqueléticos.
<ul style="list-style-type: none"> • Esqueletos de espículas cristalizadas, calcáreas o silíceas, o bien proteico (espongina), o combinación de espículas silíceas y espongina.
<ul style="list-style-type: none"> • No tienen órganos ni tejidos verdaderos; la digestión es intracelular; excreción y respiración por simple difusión.
<ul style="list-style-type: none"> • Aparentemente las reacciones a los estímulos son locales e independientes; probablemente carecen de sistema nervioso.
<ul style="list-style-type: none"> • Todos los adultos son sésiles y viven fijos al sustrato.
<ul style="list-style-type: none"> • La reproducción asexual es por gemación o bien por gémulas, y también hay reproducción sexual mediante óvulos y espermatozoides; las larvas, ciliadas, nadan libremente.

Los cuerpos de las esponjas tienen muchísimos poros finos y canales que representan un sistema acuífero filtrador. Las esponjas dependen de las corrientes de agua que son transportadas a través del sistema canalicular que le es propio y que les proporcionan alimento, oxígeno, nutrientes, células reproductivas y que a la vez acarrea desechos fuera del cuerpo. Sus cuerpos están formados por capas celulares (una interna y otra externa) y por células englobadas en una matriz gelatinosa la cual también contiene elementos esqueléticos. El esqueleto está conformado por diminutas espículas de carbonato de calcio o sílice, o por unas fibras de una sustancia proteica llamada espongina, las cuales conforman retículos esqueléticos (Hickman 1994).

La aparente simplicidad en la estructura celular de las esponjas ha generado mucho interés sobre este phylum de metazoos primitivos. Estos organismos no tienen tejido celular diferenciado; sin embargo, se distinguen gran variedad morfológica y funcional de células, como las secretoras de espículas (esclerocitos) y las secretoras de colágeno (esponjocitos) entre otros (Simpson 1984).

La estructura de las esponjas se subdivide en 2 regiones: el ectosoma y el coanosoma. La primera es la región externa que recubre la esponja. Tiene gran riqueza de colágeno y diversos tipos celulares y es atravesada por canales que comunican con el coanosoma. El coanosoma es la zona interna de la esponja, donde encontramos el entramado de cámaras de coanocitos y canales de comunicación que forman el sistema acuífero propio de esta región, (García y col. 2008).

Las esponjas se encuentran cubiertas de pequeñas aperturas o poros llamados ostiolas, que permiten la entrada de agua y unos orificios un poco más grandes que permiten la salida de agua denominados ósculos, estos organismos presentan tres tipos de sistemas caniculares (Figura 1). En la Tabla 3 se describe el funcionamiento de cada uno de estos sistemas: asconoide, siconoide o leuconoide.

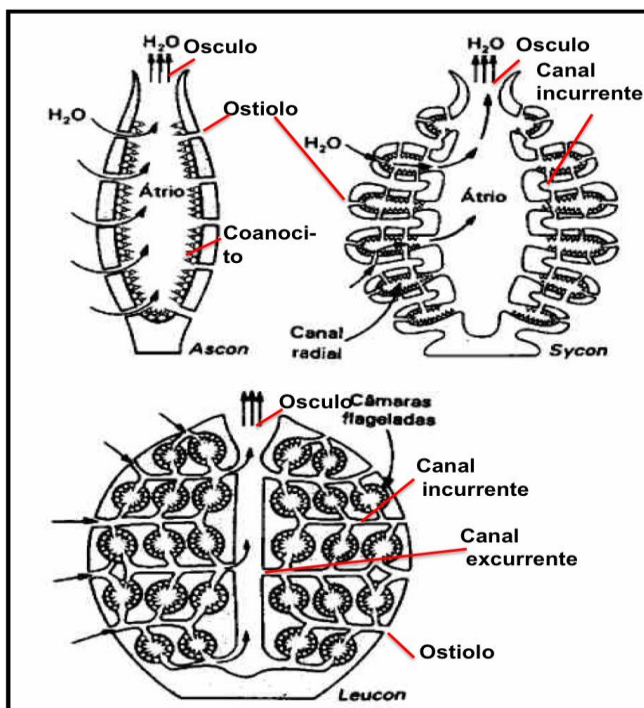


Figura 1.- Sistemas caniculares de las esponjas. Tomado y

modificado de la página Web <http://www.colegiosaofrancisco.com.br/alfa/filo-porifera/imagens/filo-porifera.jpg>

Tabla 3.- Tipos de sistemas canaliculares. Tomado de Simpson (1984)

Tipo	Descripción	Distribución en el Phylum
Asconoide	Ostíolos abiertos directamente a una capa continua de coanocitos con una capa simple que conduce al atrio que se abre hasta el ósculo	Algunas Calcáreas
Siconoide	Ostíolos abiertos directamente a las cámaras de coanocitos que se abren a través de los apópilos en un atrio único que se abre a través de un ósculo. Ó Ostíolos terminan en un pequeño o corto canal incurrente que se une a los prosópilos en las cámaras de coanocitos que se abren a través de los apópilos a un único atrio que se abre a través del ósculo.	Algunas Calcáreas
Leuconoide	Los ostíolos llevan a los vestíbulos que comunican a través de los canales incurrentes a los prosópilos que dirigen a las cámaras de coanocitos que se abren por los apópilos luego por los canales excurrentes abren al atrio y comunican con el ósculo.	La mayoría de las especies
Leuconoide compuesto	Como un leuconoide exceptuando por que los ósculos abren a una espaciosa cavidad excurrente, el atrio secundario tiene un único y largo ósculo secundario.	Algunas Demospongias

La zona externa de estos organismos se encuentra tapizada por los pinacocitos o células de pinacodermo aunque en algunas partes internas también pueden ser halladas. Estas células son aplanadas y finas, y algunas de ellas pueden convertirse en miocitos (contráctiles), generalmente están dispuestos en círculos en torno a los ósculos o poros que pueden intervenir en la regulación de la entrada de corrientes de agua. Los canales que comunican estas dos zonas están algunas veces tapizados con células flageladas llamadas coanocitos (canales flagelados) los cuales también tapizan las cámaras internas, su función

es mantener una corriente de agua circulante a través de los canales, también atrapan partículas de alimentos que son transportadas en el agua. Otro tipo celular que encontramos en las esponjas son los arqueocitos, los cuales cumplen diferentes funciones celulares y se encuentran en movimiento dentro de la mesoglea, algunas de éstas son la segregación de colágeno (lofocitos y colenocitos) y pueden fagocitar partículas en el pinacodermo. Todas las células de las esponjas se encuentran dispuestas en una unión laxa dentro de una matriz gelatinosa llamada mesoglea, mesohilo o mesénquima, que se considera <<tejido conectivo>> de las esponjas (Hickman 1994).

El tamaño de las esponjas varía de unos pocos milímetros en las más pequeñas hasta una masa que pueden llegar a alcanzar dos o más metros de diámetro en las especies más grandes. Algunas, incluidas las más simples y primitivas, tienen simetría radiada, pero muchas son de formas irregulares. Algunas se alzan erguidas sobre el fondo, otras son ramificadas o lobuladas y otras son deprimidas e incluso incrustantes. El modo de crecimiento depende a menudo del tipo de sustrato, la dirección y velocidad de las corrientes de agua, y la posibilidad de espacio disponible, con lo cual las especies de esponjas pueden presentar aspectos marcadamente diferentes bajo diversas condiciones del ambiente (Hickman 1994).

Los ciclos de vida de las esponjas son muy variables, pudiendo existir especies de ciclos muy largos, así como especies efímeras, que aparecen y desaparecen dependiendo de ciertas condiciones.

Se ha demostrado que las esponjas tienen algunas características para ser buenos bioindicadores. Por la simplificación de sus componentes, han sido propuestas como especies resistentes e indicadoras (Cebrian y Pérez 2006).

Toda la actividad vital de la esponja depende de la corriente de agua que fluye a través de su cuerpo. Una esponja bombea una cantidad muy alta (hasta de 1L de agua por cc sec.) de agua (Hickman 1994).

Las esponjas pueden absorber partículas de $2\mu\text{m}$ o siendo las principales consumidoras de material orgánico disuelto y fitoplancton. Las tasas de filtración por ósculo pueden variar de 0,2 a 3cm/ s, con mediciones instantáneas de hasta

25cm /s. Aunque la variabilidad es grande, los ósculos se mantienen de forma individual con una velocidad de cm/ s. El volumen de los flujos de agua varía en intervalos de 0,01 hasta 0,60 cm³ /s. Los flujos por individuo indican que las esponjas procesan su volumen entre 17 y 24s, comparable con los valores obtenidos por otras especies marinas (Savarese y col. 1997). Los valores máximos de filtración registrados alcanzan hasta 24 toneladas de agua diaria en una esponja de 1 kilogramo.

Los invertebrados sedentarios que mantienen hábitos alimentarios suspensívoros con grandes áreas permeables, se encuentran sometidos a altas tasas de incorporación de metales que no pueden ser igualadas a las tasas de excreción. Sin embargo los sistemas de regulación, incorporación y excreción de sustancias pueden variar dependiendo del tipo de sustancias contenidas en el medio y de la biología del animal. Ciertamente los invertebrados marinos son capaces de regular las concentraciones de ciertos metales en su cuerpo a niveles aproximadamente constantes o a un amplio intervalo de biodisposición de metales en el ambiente. Esto ha sido probado a través de estudios *in situ* (Olense y Weeks 1994), o por análisis comparativos de las concentraciones de metales en una amplia variedad de sitios para los que se conocía (o sospechaba) diferencias en la biodisponibilidad de metales. Algunos crustáceos decápodos, por ejemplo, regulan las concentraciones en su cuerpo de metales esenciales como el zinc y el cobre (Rainbow y col. 1990).

Con relación a este aspecto, Baird (2000) indica que el grado en que una sustancia se acumula en un ser vivo o en cualquier otro organismo depende de la tasa, R, con la que se incorpora de la fuente, por ejemplo, los suministros de comida; y el (los) mecanismo(s) por el que se elimina sería las formas de pérdida de ésta. Por lo general, la tasa de eliminación mantiene una relación sencilla con la concentración de la sustancia en el organismo, C, es decir, la velocidad de eliminación es directamente proporcional a la C, (esto se conoce como una relación de primer orden, ya que la potencia a la que la variable independiente esta planteada es la unidad.) Si la constante de velocidad para el proceso se define como K, la tasa de eliminación es KC.

Tasa de incorporación = R

Tasa de eliminación = KC

Si inicialmente no existe presencia del elemento en el organismo, es decir, si $C = 0$, al principio la tasa de la eliminación es cero y la concentración se debe solo a la ingestión, como se muestra cerca del origen en la figura 2. Sin embargo, como C aumenta, la velocidad de eliminación también se eleva, y con el tiempo coincide con la velocidad de incorporación si R es una constante. Una vez que esta igualdad se logra, C no varía y a partir de entonces se estaría en un estado estacionario. Entonces, en condiciones de estado estacionario:

Tasa de eliminación = Tasa de incorporación

$$KC = R$$

De allí se deduce que el valor del estado estacionario, C_{ss} , para la concentración en el organismo es:

$$C_{ss} = R/K$$

A menudo, la velocidad de eliminación se discute en términos del período de vida media, $t_{0.5}$; que es el tiempo requerido para eliminar en promedio la mitad de la sustancia en el organismo. Para una cinética de primer orden $t_{0.5} = \ln 2/K$ y de allí tendríamos que $C_{ss} = R \cdot t_{0.5} / \ln 2$, lo que indica que cuanto mayor sea el tiempo de vida medio mayor es el nivel de acumulación del compuesto en estado estacionario.

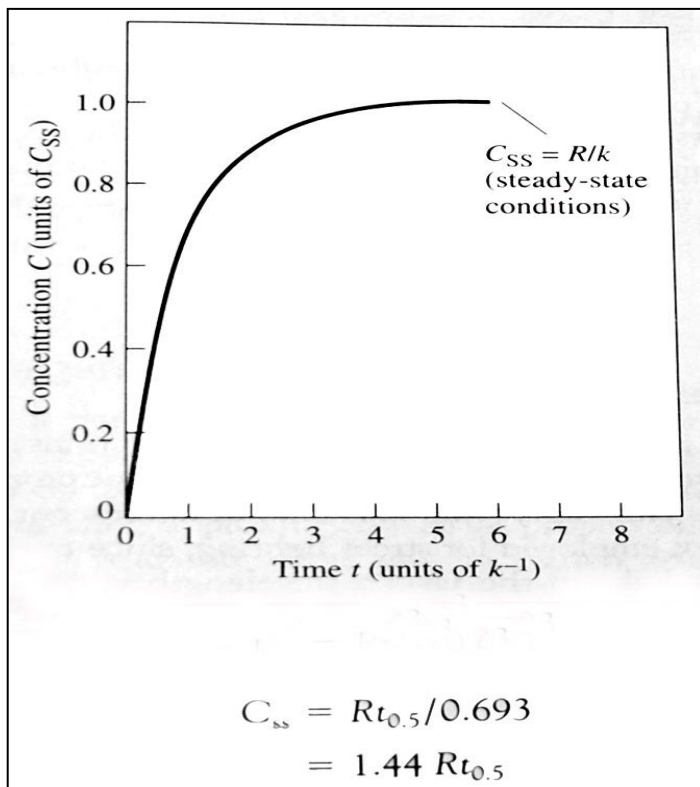


Figura 2.- Aumento de la concentración de metales a través del tiempo para llegar al valor de estado estacionario, C_{ss} . Tomado de, Baird (2000).

La elección de un conjunto de biomonitores debe considerar las posibles fuentes de metales para la biota. Por ejemplo, las algas que no están en contacto con los sedimentos, solo incorporan los metales que se encuentran disueltos. Los organismos suspensívoros toman los metales directamente del agua marina y de las partículas suspendidas colectadas durante la alimentación. Las ostras, cirripedios y los mejillones son todos candidatos a biomonitores debido a su alimentación suspensiva.

Los factores necesarios que deben ser considerados para la escogencia y uso de organismos marinos como biomonitores de contaminación por metales pesados, son: 1) Una identificación taxonómica certera, 2) Tener conocimiento de la biología de las especies que se escoge como biomonitoras, incluyendo los tipos de alimentación y ciclo de vida característicos, así como los patrones de acumulación del metal, y 3) Un enfoque comparativo con varios biomonitores escogidos para cubrir las fuentes de la biodisponibilidad del metal en el lugar (Rainbow 1995).

Adicionalmente, los programas de biomonitoreo preferiblemente deben analizar las diferencias usando datos de las especies individuales. No obstante, es

posible y pueden ser necesarias las comparaciones interespecíficas (Rainbow 1995).

En el desarrollo de la línea de investigación sobre evaluación ambiental a través de organismos, existen diferentes términos que se utilizan para categorizar o describir ciertas funciones de los organismos dentro del ambiente, éstas dependerán de sus características biológicas, entre ellos:

Bioindicadores: son organismos que pueden reflejar condiciones ambientales específicas, por lo general, son organismos que se presentan o desaparecen bajo ciertas condiciones, son utilizados para determinar estado de salud de un ambiente.

Biomonitores: se definen como organismos que pueden dar información cuantitativa del ambiente en el que se desarrollan. Indican presencia, cantidad e intensidad de exposición.

Bioacumuladores: organismos que pueden acumular sustancias exógenas en su cuerpo, esto puede deberse a mecanismos de bioemulación de moléculas o incapacidad de excreción de los organismos.

Como es de esperarse, estos términos no son excluyentes entre sí, por lo contrario existen características de cada uno de estos que pueden estar presente para las tres definiciones.

En este trabajo nos planteamos como objetivo principal determinar las concentraciones de Ni, Cu, Cd, Cr, y Pb en dos especies de esponjas marinas (*A. viridis*, *N. erecta*) y sedimentos de dos localidades (P. N. Archipiélago de Los Roques y la Bahía de Bergantín) que presentan condiciones contrastantes de impacto antrópico (principalmente petrolero y otras industrias), para analizar la potencialidad de estos organismos para reflejar las condiciones medio ambientales (biomonitores o bioacumuladores). Este interés se debe a la gran abundancia y diversidad de estos organismos en el medio marino su condición sésil y la ausencia de estudios e investigaciones en Venezuela de contaminación ambiental utilizando estos organismos como posibles biomonitores de metales pesados, específicamente en el entorno marino.

Los criterios considerados para seleccionar las especies de esponjas fueron: que fuesen especies abundantes y de amplia distribución en los ambientes arrecifales marinos y para la comparación de las posibles diferencias en las concentraciones de los metales de estudio. Considerando tales requisitos se llevó a cabo un muestreo piloto en una de las áreas de estudio del proyecto, Parque Nacional Archipiélago de Los Roques, específicamente en el arrecife de Madrisquí, el cual presenta una diversidad y densidad de esponjas muy elevada, de 4 esponjas/m² (Villamizar y col. 2008) a partir del muestreo piloto se pudo apreciar la diversidad, abundancia, distribución y reconocer las características morfológicas principales de las posibles especies a estudiar. De manera complementaria fueron tomados en cuenta y evaluados los resultados obtenidos durante el método de laboratorio (materia electiva de la licenciatura) desarrollado en el semestre I-2009, en el que se caracterizó y describió un protocolo de extracción ácida para el procesamiento de cuatro especies de esponjas.

Con relación a las áreas de estudios, éstas fueron seleccionadas a través de los estudios y análisis del impacto antrópico en ambas localidades, apoyándonos en estudios de calidad de sedimentos desarrollado por Martínez y col. (2002) en la Bahía de Bergantín que indican altos niveles de perturbación relacionada directamente con el desarrollo industrial y petrolero de la zona. Por su parte, El Parque Nacional Archipiélago de Los Roques fue tomado como sitio razonablemente prístino. En razón a estar sujeto a su reglamentación de Área Bajo Régimen de Administración Especial (ABRAE), en este parque nacional no se permite el establecimiento de industrias de ningún tipo y el uso turístico-recreacional limitado. Si embargo, es necesario el desarrollo de estudios que puedan evaluar e indicar los posibles niveles de contaminación y afectación de origen antrópico en las distintas zonas del parque.

ANTECEDENTES

A continuación, se señalan algunos aspectos generales sobre el abordaje de investigaciones relativas al uso de organismos como posibles bioindicadores y/o biomonitores. En este sentido, Rainbow y col. (1990) plantean que es importante demostrar y determinar las diferentes estrategias adoptadas por los invertebrados marinos para la acumulación de metales y la importancia de establecer cuándo las concentraciones observadas en un organismo pueden catalogarse como altas, bajas o con pequeña significación. Los autores también discuten y concluyen a través de los resultados que las estrategias de acumulación de metales pesados presentan variaciones intra-específicas e inter-específicas, e indican que la incorporación de metales traza y las tasas de pérdidas de éstos también se ven afectadas por los hábitos de los invertebrados. Subrayan que el conocimiento de la estrategia de acumulación de un metal traza en particular, es un requisito previo para la comprensión de la importancia de una concentración de metales observando particularmente los invertebrados marinos, especialmente desde el aspecto de biomonitores o “vigilantes biológicos”.

Rainbow y Phillips (1993) llevaron a cabo un estudio comparativo a nivel espacial y temporal de los patrones de acumulación de metales traza en biomonitores capaces de proveer trazas de acumulación comparativas en el ecosistema acuático. El conjunto de biomonitores utilizados fueron algas macrófitas que responden a una sola fuente de metal disuelto, organismos suspensívoros que consumen partículas de cierto rango de tamaño que responden a fuentes de metal en fase de suspensión y fase disuelta y/o organismos detritívoros como macroalgas y hierbas marinas, mejillones, bivalvos tellinid, poliquetos y crustáceos. Los investigadores concluyeron que: a) otras especies y taxa deben ser consideradas para el uso regional, nacional e internacional de programas de monitoreo y b) se necesitan futuros trabajos sobre varias especies y su potencial como biomonitores y esto incluye la producción de una taxonomía simple con claves que sirvan para la correcta

identificación de las especies; y adicionalmente son necesarios estudios sobre la cinética de la bioacumulación de metales.

Rainbow (1995), estudió los biomonitores de metales pesados que pueden encontrarse en el medio ambiente marino. El trabajo resume brevemente una serie de factores que se deben considerar para escoger o usar un organismo marino como biomonitor. Se puede concluir a través de la compilación de las información publicada que el conocimiento de la biología en particular de las especies es un requisito esencial para escoger cualquier organismo como biomonitor. La necesidad de comprender la cinética de la acumulación del metal en estas especies y otras características no menos importantes, como los métodos de alimentación, producción de las vías respiratorias, tiempo y edad de el reclutamiento de la población adulta, y finalmente la correcta identificación es vital no sólo para los programas de biomonitoreo si no también para la comparación entre estudios en diferentes partes del mundo.

Entre los estudios más específicos, en cuanto a elementos y localidades se refiere, encontramos el de Palanques y Díaz (1990) que estudiaron la contaminación de metales pesados en los sedimentos superficiales de la plataforma continental de Barcelona, España (Mediterráneo Nor-occidental). Los metales estudiados fueron cobre, cromo, cadmio, níquel, hierro y manganeso. Los autores consiguen que la contaminación de los cinco primeros metales nombrados es mayor en las desembocaduras de dos ríos (Besós y de la antigua riera de Bogatell) y en la desembocadura del emisario submarino de la planta depuradora Barcelona-Besós.

Olense y Weeks (1994) realizaron un estudio sobre la acumulación de Cd en la esponja marina *Halichodria panicea* Pallas, específicamente los efectos en su tasa de filtración y la relevancia como biomonitor ambiental. Los autores confirmaron que la esponja es capaz de acumular Cd del agua de mar en proporción directa a la concentración de Cd en el ambiente. Destacan que las altas concentraciones de metales pesados reducen la capacidad de bombeo de la esponja que puede ocasionar su muerte produciendo una subestimación del grado de contaminación ambiental.

Cebrian y col. (2003) llevaron a cabo un estudio sobre efectos subletales de la acumulación de metales pesados cobre (Cu), vanadio (V), plomo (Pb), detectados en los tejidos de las esponjas y las respuestas biológicas en la esponja marina *Crambe crambe*. Los aspectos evaluados fueron crecimiento, reproducción, morfología y supervivencia de individuos adultos. Para ello se utilizaron individuos nativos del sitio contaminado, individuos adultos de sitios control e individuos trasladados de sitios de control a sitios contaminados. En la investigación se controló y procuró que las variables ambientales (físico-químicas) entre un lugar y otro fueran lo más semejantes entre ellas (las diferencias puntuales fueron las partículas de materia orgánica, silicatos, nitratos y el movimiento del agua). Los resultados de las concentraciones de metales indican que la concentración de los metales tendió a ser mayor en los individuos nativos en los sitios de contaminación o las trasplantadas. Concluyen que *Crambe crambe* es un indicador confiable de la contaminación por metales, gracias a la capacidad de acumular el cobre, el plomo y vanadio en grandes cantidades. Los efectos subletales sobre la biología de la esponja los atribuyen principalmente al movimiento de agua, el contenido de cobre y el contenido de materia orgánica en el sedimento. El ambiente contaminado, el crecimiento, fecundidad y supervivencia de la esponja fueron inhibidos mientras que fueron promovidas irregularidades de fisión en la esponja.

Cebrian y col. (2007) proponen y desarrollan un estudio comparativo sobre la bioacumulación de metales, cobre (Cu) y plomo (Pb) por cuatro especies de esponjas marinas de amplia de distribución para seleccionar las especies más adecuadas para el seguimiento del metal. El estudio se desarrolla en una primera fase en tres estaciones con diferentes niveles de contaminación de la costa norte de Cataluña; y en una segunda fase dieciséis estaciones de muestreo fueron seleccionadas a lo largo del mar Mediterráneo en la costa norte de Barcelona-España con el fin de tener representada una heterogeneidad de hábitats y diferentes grados de impacto antropogénico. Los resultados sugieren que el modo de incorporación varía en función del metal traza considerado. Los investigadores determinan que la acumulación de cobre sugiere una estrategia

de acumulación en tres de las cuatro especies y que la concentración de plomo parece estar regulada en la mayoría de las esponjas. Una sola especie (*Cambre cambre*) fue la única que bioacumuló cobre y plomo en función de la disponibilidad del metal en el medio ambiente. Esto permitió que los investigadores examinaran la eficacia de esta especie como bioindicador en grandes escalas tanto espaciales como temporales, comparando la acumulación de metales en esta especie y en los sedimentos, proporcionando esta especie información precisa sobre los niveles de metales y reflejando las fluctuaciones estacionales de los metales biodisponibles, lo cual sería imposible de evaluar por medio de un estudio de sedimentos.

En Venezuela se han realizado varios estudios sobre la concentración de metales pesados en los sedimentos de las costas venezolanas, especialmente en áreas asociadas a instalaciones petroleras y otras localidades del oriente venezolano. Sin embargo, no ha habido ninguno que contemple el uso de esponjas como bioindicadores de contaminación por metales trazas.

Destaca el trabajo de Martínez y col. (2002), quienes estudiaron la especiación (biodisponibles, los asociados a la materia orgánica y los refractarios) de distintos metales (Cd, Zn, Cr y Pb) en núcleos de sedimentos de la Bahía de Bergantín. Estos investigadores concluyeron que se presenta un enriquecimiento de Cd, Zn, Cr, Pb (en escala $Pb > Cd > Zn > Cr$) entre el fondo y la superficie de los núcleos de sedimentos, lo cual atribuyen a las actividades antropogénicas que se desarrollan en la región y que se han incrementado en el tiempo. Estos metales fueron encontrados en una alta proporción adsorbidos en la superficie de las partículas de sedimento o como carbonatos y oxihidróxidos de Mn reactivos. Los autores indican que estos pueden ser asimilados muy fácilmente por los organismos de las comunidades bentónicas de esta región marino costera.

Los aspectos metodológicos sobre el tratamiento químico de las muestras en tejidos para la determinación de metales trazas, también han sido considerados; Así, Páez-Osuna y col. (1988) estudiaron el contenido de metales pesados en cuatro especies de organismos filtradores marinos (dos especies de mejillones y

dos especies de esponjas en la costa Pacífico de México) para describir las técnicas de extracción y niveles de concentración de metales pesados. Para ello hicieron muestreos mensuales de los organismos e hicieron pruebas de distintas combinaciones y concentraciones de ácidos para ver cual técnica sería la más apropiada. De este trabajo concluyen que la proporción ácido/tejido y la composición de la mezcla ácida utilizada en la digestión tienen un efecto importante en la extracción de los metales pesados, habiendo determinado que la mayoría de los niveles de concentración de metales encontrados corresponden a niveles básicos naturales de las 4 especies filtradoras.

En Venezuela se han realizado algunos estudios sobre la acumulación de algunos metales pesados en organismos marinos. Entre estos están: Bastidas y *col.* (1997) en corales; Salazar-Lugo (2009) hace una compilación sobre este tipo de estudios en el país éstos se han llevado a cabo con organismos como peces, y especies de moluscos de importancia económica con fines de consumo y comercio en el país.

JUSTIFICACIÓN

En Venezuela se han desarrollado trabajos sobre la acumulación de metales pesados en corales (Bastidas y *col.* 1997) y moluscos (Salazar-Lugo 2009). Estos trabajos no contemplan la evaluación de organismos como biomonitores o bioacumuladores; por lo tanto, esta investigación es pionera en el país en lo referente al uso de esponjas como acumuladoras de metales pesados. Así mismo, en las zonas de estudio en las que se llevó a cabo el proyecto no se han desarrollado estudios anteriores de acumulación de metales pesados en la biota.

A través de esta investigación producirá información acerca de la acumulación de metales pesados por poríferos marinos, con objeto de evaluar su potencial como organismos que actúan como "vigilantes biológicos". Dado que las esponjas son un componente de los ecosistemas marinos, con capacidad para filtrar la columna de agua, y las mismas pueden ser consideradas al momento de evaluar la calidad ambiental de éstos.

HIPÓTESIS

Si el contenido de metales pesados en las esponjas seleccionadas es un reflejo de las condiciones del medio circundante, entonces en aquellos ambientes con mayores concentraciones de metales pesados, las esponjas presentarán también mayor contenido de éstos en sus tejidos.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Análisis y determinación de las concentraciones de metales pesados en dos especies de esponjas marinas, *Amphimedon viridis* y *Niphates erecta*, y sedimentos de dos comunidades arrecifales, P. N. Archipiélago de Los Roques y La Bahía de Bergantín, Pto. La Cruz, estado Anzoátegui; con el propósito de aportar y ampliar el conocimiento del potencial de estos poríferos para reflejar la condición medio ambiental, y que puedan catalogarse como especies biomonitoras y/o bioacumuladoras.

Objetivos específicos

- Cuantificar las concentraciones de metales pesados en las muestras de dos especies de esponjas *Amphimedon viridis*, *Niphates erecta* (A.v. ; N.e.).
- Comparar las concentraciones de los metales pesados entre las dos especies de esponjas en cada una de las localidades.
- Comparar las concentraciones de los metales pesados para las dos especies de esponjas entre las dos localidades.
- Evaluar la calidad ambiental de las localidades a estudiar, respecto a compuestos inorgánicos que afectan la salud, a través del análisis de las concentraciones de metales pesados en los sedimentos.

- Discutir, con base a los resultados obtenidos, el potencial de las especies estudiadas como bioacumuladores de metales pesados (Pb, Cr, Ni, Cd y Cu).

ÁREAS DE ESTUDIO

El presente estudio se realizó en dos localidades, seleccionadas por sus condiciones contrastantes respecto a la intervención antrópica. Una es un sistema arrecifal de condición oceánica y la otra es de condición continental. Ambas se encuentran en territorio de la República Bolivariana de Venezuela, en el Mar Caribe venezolano (Figura 2). Ellas son: a) El Parque Nacional Archipiélago de Los Roques el cual se considera un sistema marino de muy baja perturbación antrópica; y b) la Bahía de Bergantín, Estado Anzoátegui considerada un sistema de alta perturbación antrópica (principalmente por operaciones de la industria petrolera).

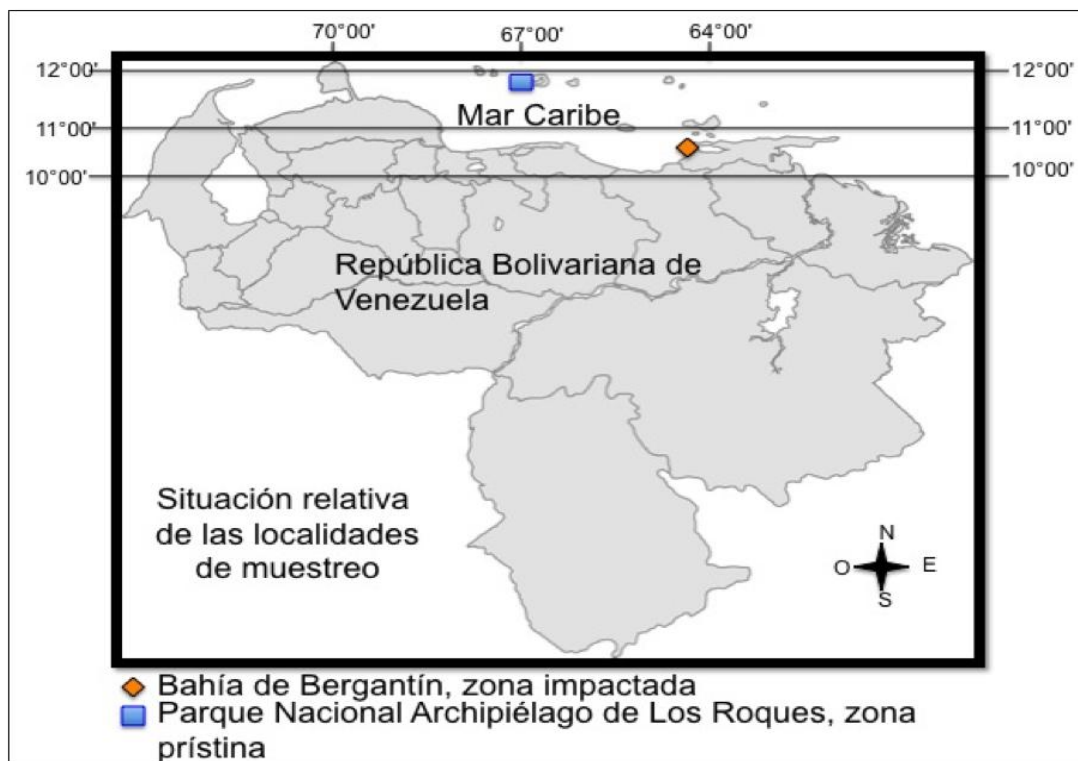


Figura 3.- Ubicación de las dos localidades de estudio. Tomado de la página Web y modificado.

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/f/f3/Mapa-politico>.

El Parque Nacional Archipiélago de Los Roques forma parte del sistema insular venezolano denominado Dependencias Federales. Se encuentra ubicado en la zona norte franco de la costa central de Venezuela, con una distancia aproximada de 166 Km. del puerto de La Guaira. Este archipiélago presenta una

cota máxima es 120 m.s.n.m, el clima se considera como árido desértico, con una temperatura media-anual de 28°C, precipitación media de 270mm.

En total el parque representa 221.120Ha.

http://www.inparques.gob.ve/index.php?parques=view&codigo=pn_0009&sec=2

Las zonas donde se llevó a cabo el muestreo (Figuras 4 y 5) se considera como área prístina con un bajo impacto antrópico debido a las regulaciones y reglamentaciones que mantienen esta área como una ABRAE (Área Bajo Régimen de Administración Especial). Sin embargo, se requieren más estudios dirigidos a evaluar otros tipos posibles de contaminación (p.ej. vertido de derivados de hidrocarburos usados por las embarcaciones) para poder conocer el posible nivel de afectación en las distintas áreas del parque.

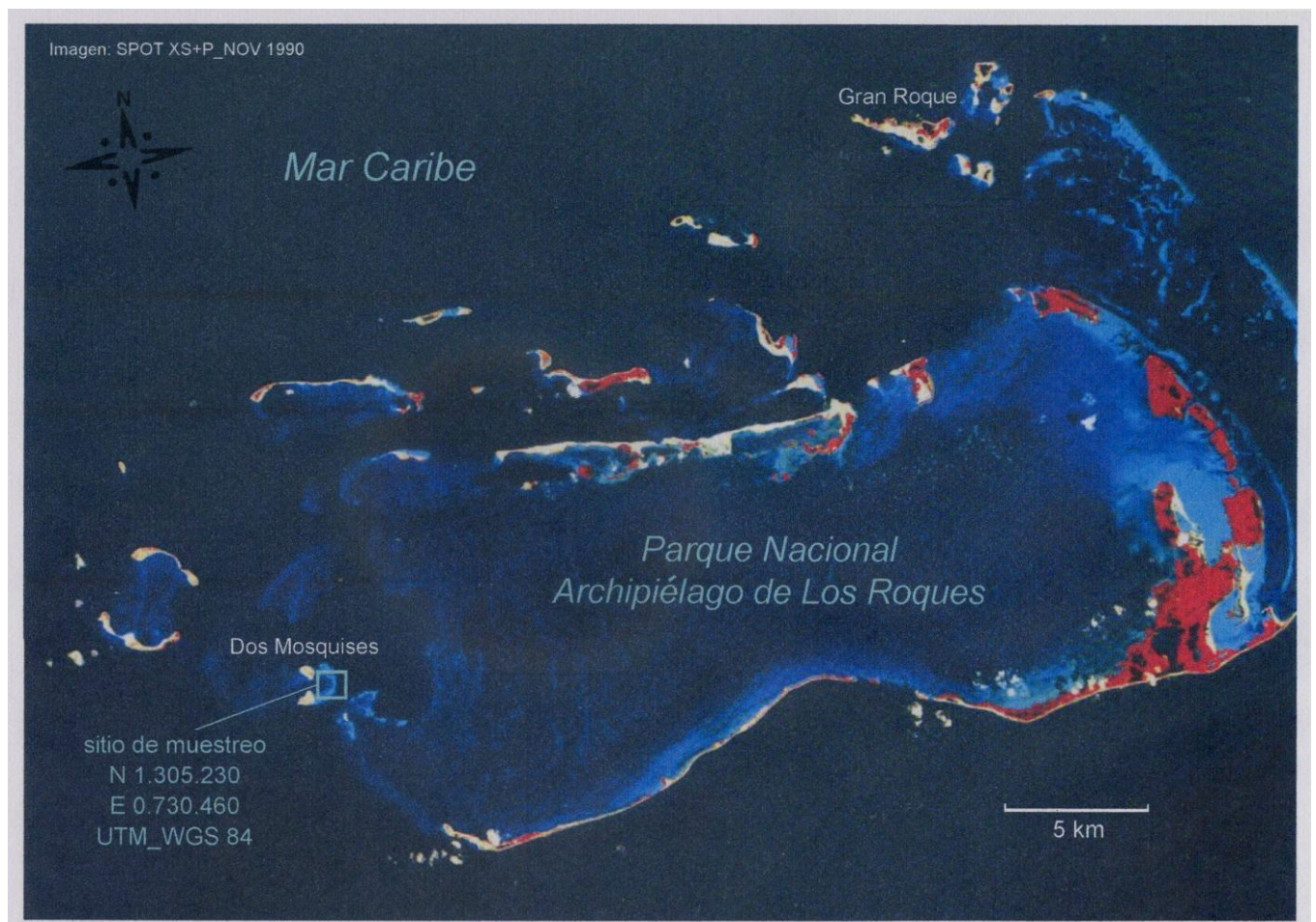


Figura 4.- Mapa-imagen de la ubicación del área de muestreo dentro del Parque Nacional Archipiélago de Los Roques.



Figura 5.- Foto, localidad de estudio, Estación Biológica Dos-Mosquises Parque Nacional Archipiélago de Los Roques.

La Bahía de Bergantín (Figuras 6 y 7), se encuentra en la costa oriental del país, específicamente al noreste del estado Anzoátegui, al sur de las islas Las Chimanas y al oeste de las bahías de Guanta y Pertigalete. Describe una forma semicerrada cuya extensión este-oeste es de aproximadamente 1.700 metros y 450 metros de ancho (Martínez y col. 2002); está sometida a un intenso tráfico de tanqueros que llegan a los muelles de PDVSA a cargar petróleo y sus derivados, así como también al tráfico de lanchas deportivas que tienen un muelle en el extremo oriental. Las aguas cloacales de la Urbanización El Chaure, drenan en la parte norte, al igual que las aguas servidas de la Urbanización Guaraguao. La Refinería El Chaure también descarga sus efluentes en la parte oriental, mientras que la refinería PDVSA lo hace en la entrada. Las áreas adyacentes, como Bahía de Pozuelos y la región desde la Punta Meta a Bahía de Pertigalete, también poseen una intensa actividad industrial y marítima que contribuyen a la contaminación global de la región noreste del estado Anzoátegui (Martínez y col. 2002).

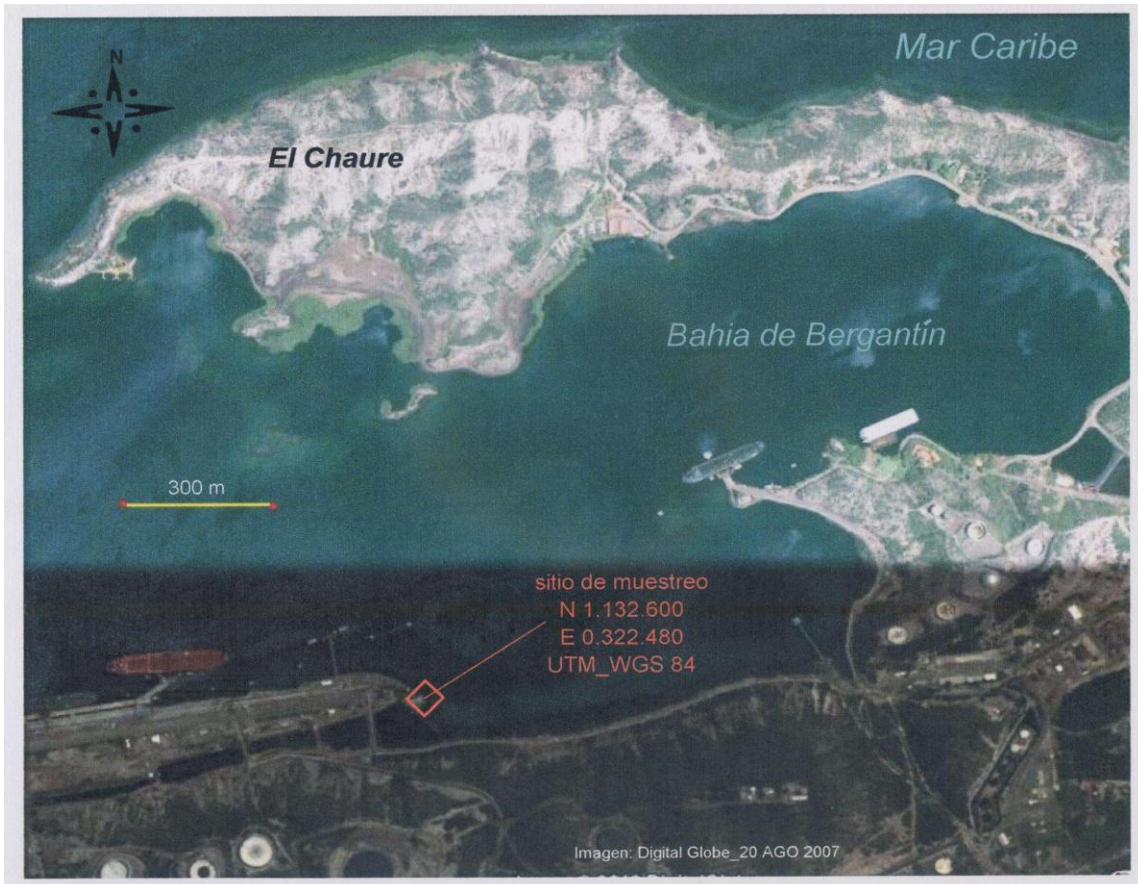


Figura 6.- Mapa-imagen de ubicación del área de muestreo en la Bahía de Bergantín.



Figura 7.- Foto, localidad de estudio, Bahía de Bergantín, Puerto La Cruz.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Métodos de Campo

1.1 Esponjas

Las especies de estudio son:

- *Amphimedon viridis* (Av)
- *Niphates erecta* (Ne)

Clasificación taxonómica:

Amphimedon viridis Duchassaing & Michelotti (1864)

Reino: Animalia

Phylum : Porífera

Clase: Demospongia

Orden: Haplosclerida

Suborden: Haplosclerina

Familia: Niphatidae

Género: *Amphimedon*



Individuos de morfología incrustante, se amoldan al sustrato y presentan pequeños lóbulos. El color es verde esmeralda. Consistencia desmenuzable, suave. La superficie es áspera y los ósculos se encuentran en la zona superior de los lóbulos. El ambiente en el que se desarrollan es marino exclusivamente, presenta su distribución, principalmente en el Mar Caribe (Bahamas, Florida, Jamaica, República Dominicana, Belize, Islas Virgenes E.U.A.).

(<http://www.spongeguide.org/speciesinfo.php?searchtype=0&species=3>)

Niphates erecta Duchassaing & Michelotti (1864)

Reino: Animalia

Phylum : Porífera

Clase: Demospongia

Orden: Haplosclerida

Suborden: Haplosclerina

Familia: Niphatidae

Género: *Niphates*



Los individuos presentan una morfología tubular erecta que puede ser ramificada. El color es gris, aunque algunos individuos pueden presentar coloración morado azulado, o púrpura. La consistencia es resistente y elástica. La superficie es rugosa y los ósculos están distribuidos de forma irregular en todos los tubos o ramificaciones. El ambiente en el que se desarrolla es marino exclusivamente, su distribución es dispersa y se encuentran comunmente en el sur de la península de la Florida, islas las Bahamas y el Mar Caribe.

(http://species-identification.org/species.php?species_group=caribbean_diving_guide&id=462)

Los estudios de ciclo de vida y reproducción de la familia *Niphatidae* son escasos; sin embargo, existen descripciones taxonómicas donde se han tomado en cuenta aspectos reproductivos de ambas especies.

Ilan y col. (2004) desarrollaron un estudio sobre taxonomía, reproducción y ecología de esponjas en el mar Rojo, donde investigaron individuos de la especie *Amphimedon viridis* durante 4 años. En este lapso encontraron elementos reproductivos solo en tres individuos. El estudio sugiere que solo una pequeña fracción de esa población se reproducía y ésta solo lo hacía en épocas de verano (entre los meses de junio y agosto). También indican que esta especie se reproduce asexualmente, comunmente se puede observar crecimiento de otros brazos de la esponja separado del sitio donde se fijó originalmente la esponja, esto puede ocurrir por que la esponja se unió a otro

sitio, por fisión, entre el nuevo lugar de establecimiento y el punto original donde se fijó la larva. Este estudio también nos indica que esta especie se mantiene por períodos de tiempo de por lo menos de 4 años.

Ilan y Loya (1988) estudian el género *Niphates* durante dos años para observar aspectos reproductivos de la especie, observándose que es hermafrodita y mantiene períodos reproductivos de hasta 8 meses al año pueden estar asociados a la temperatura del agua y a condiciones favorables para el establecimiento de las larvas y desarrollo de los individuos. Son especies que se mantienen en el tiempo al menos durante el período de estudio 2 años.

En el presente estudio, en cada localidad, a través de buceo en scuba se colectaron las muestras de esponjas cortando fragmentos de quince individuos, de cada especie (visualmente sanos, sin deformaciones, ni tumores), cada uno de aproximadamente diez centímetros. Se procuró cortar en la zona basal de la esponja (los ápices pueden acumular sedimentos). Las muestras fueron tomadas entre 5m y 10m de profundidad, con descripción del método de campo y la utilización del modelo descrito por Paez-Osuna y col. (1988) y Cebrian y col. (2007).

Las muestras fueron tomadas y cada segmento colocado en bolsas plásticas por separado y posteriormente refrigeradas para su traslado al laboratorio.

1.2 Sedimentos

En cada localidad se tomaron 5 muestras de 0,5kg de sedimentos con nucleadores simples, en zonas adyacentes adonde se colectaron las muestras de esponjas. Las muestras se secaron a temperatura ambiente y se trasladaron al laboratorio.

1.3 Otras observaciones.

Se midieron parámetros fisicoquímicos de los ambientes arrecifales en donde fueron colectadas las muestras; éstos fueron: temperatura del agua, salinidad, conductividad y pH.

Diseño Muestral

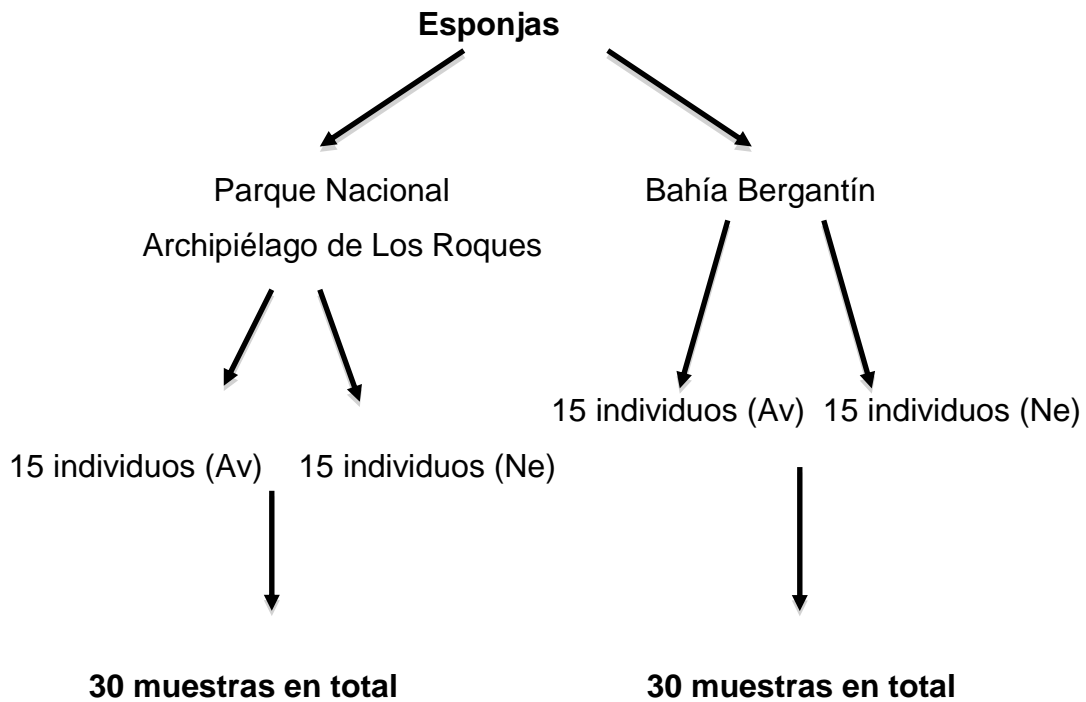


Figura 8.- Esquema de toma de muestras de las especies de esponjas, *Amphimedon viridis* (Av) y *Niphates erecta* (Ne), en las distintas localidades de estudio.

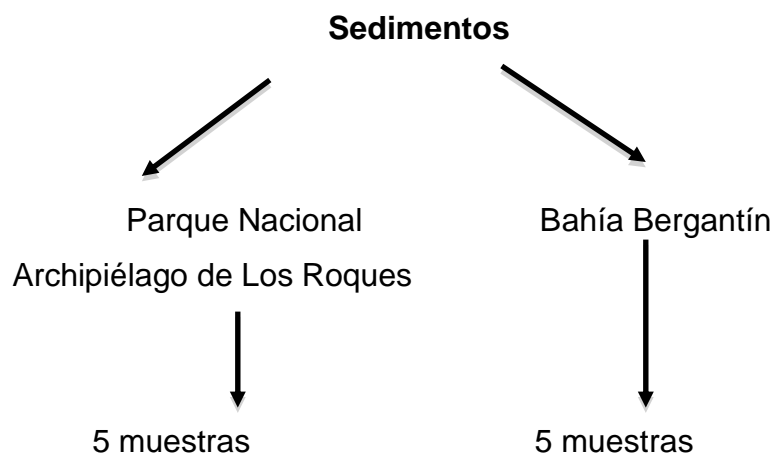


Figura 9.- Esquema de tomas de muestras de sedimentos en las dos localidades de estudio.

2. Métodos de laboratorio

2.1 Tratamiento de las muestras

2.1.1.- Muestras biológicas: Esponjas

Se colectaron 15 individuos (**I**) de cada especie en cada localidad. Las esponjas colectadas se secaron a 55°C en una estufa.

El procedimiento general consistió en las siguientes etapas:

- a.- Preparación de las muestras compuestas (**M**)
- b.- Liofilización y pulverización
- c.- Disolución o Digestión total de las muestras
- d.- Determinación de la concentración de los metales pesados

Se llevó a cabo la preparación de las muestras compuestas (**M**) tal como se muestra en la figura 7. Cada muestra compuesta consistió en la mezcla de tres individuos, seleccionados al azar, para obtener cinco muestras compuestas por especie para cada localidad. Cada muestra compuesta fue liofilizada, 24 horas a -50°C y 0,29 mbar hasta deshidratarse por completo

Una vez liofilizadas, las muestras fueron pulverizadas en un mortero de porcelana, colocándose en bolsas plásticas rotuladas dentro de un desecador, hasta su posterior disolución.

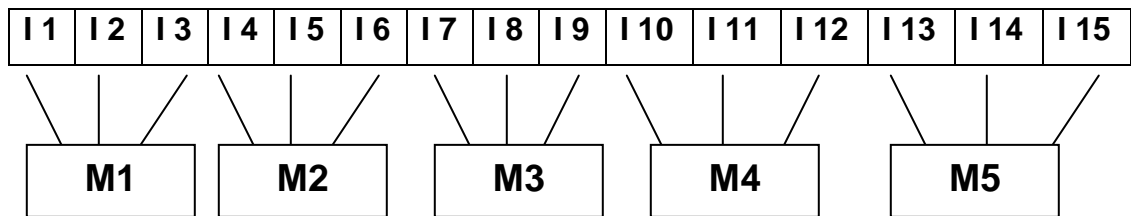


Figura 10.- Esquema de preparación de las muestras compuestas de esponjas.

Disolución de las muestras: en la figura 8, se muestra el procedimiento utilizado para la de digestión total de las muestras compuestas de esponjas.

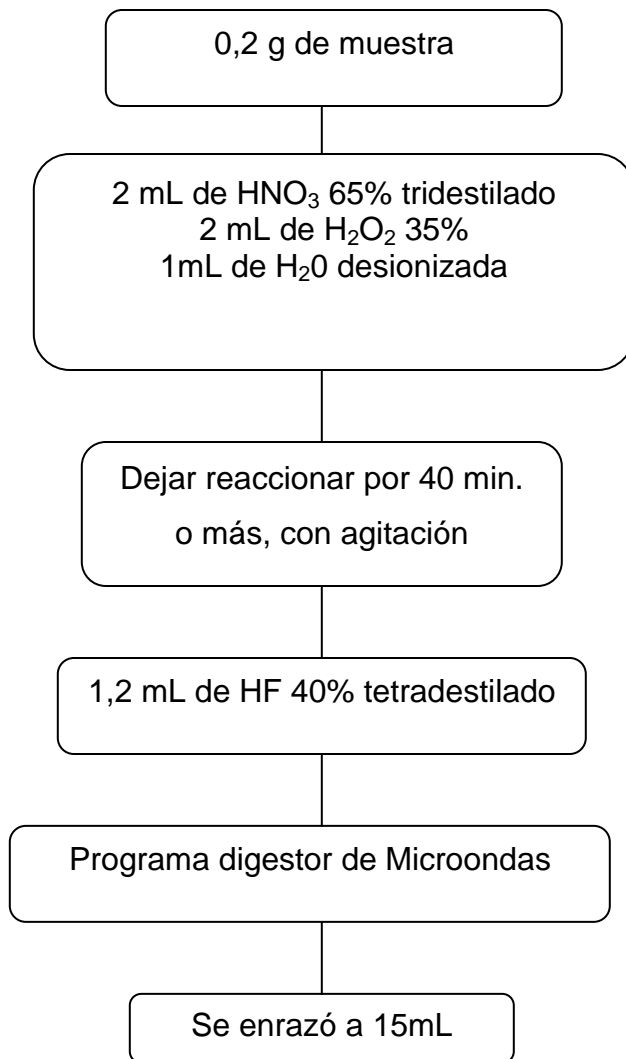


Figura 11.- Esquema de digestión total para la disolución de las muestras de esponjas.

2.1.2.- Muestras de sedimentos

Caracterización física de los sedimentos

Granulometría

Se pesaron 100 gramos de sedimentos y se colocaron sobre una serie de tamices con un rotor con agitador durante 15 minutos. Se utilizaron 9 tamices de distintas luz de malla (Tabla 4) y se pesaron las fracciones obtenidas.

Tabla 4.- Apertura de las mallas utilizadas para el tamizado de las muestras

Apertura (μm)
-44
45 - 119
120 – 149
150 – 179
180 – 211
212 – 424
425 – 499
500 – 1999
2000 - +

Análisis de contenido de materia orgánica total

Se llevó a cabo la metodología de ignición, descrita por Stándar Methods (APHA, AWWA, WEF, 1992). Se tomaron 50g de la muestra secada a temperatura ambiente, se homogenizó en un mortero de porcelana y se colocó en crisoles en la mufla a temperatura de 550°C, durante una hora. La diferencia en peso indicará la cantidad de materia orgánica que fue quemada en el proceso, y es expresada como materia orgánica total.

Digestión de sedimentos

Las muestras de sedimentos fueron procesados en función del interés biológico-ecológico, de esta investigación por lo tanto se llevó a cabo una extracción secuencial, para obtener las fracciones de metales biodisponibles en los sedimentos. Los protocolos de extracción secuencial consisten en una serie de pasos sucesivos, a los que se somete la muestra con diversos reactivos a diferentes condiciones de temperaturas y pH, con el objetivo de extraer selectivamente las fracciones de los elementos, de acuerdo al estado químico en el que se encuentran en los sedimentos.

El proceso de extracción secuencial, basado en el protocolo BCR modificado, se muestra en la figura 9. En este trabajo solo se llevaron a cabo el paso 1 y 2 del

procedimiento, ya que estos dos nos darán el total de metales biodisponibles en los sedimentos.

El procedimiento seguido fue el protocolo de la Bureau Community of Reference (BCR), agencia de ambiente de la comunidad europea, el cual propone la extracción secuencial en tres pasos:

Paso 1.- Metales intercambiables y metales enlazados a carbonatos: liberados en sistemas acuáticos por cambios ambientales y/o por descenso del pH, al disolver los metales en forma de carbonatos.

Paso 2.- Metales enlazados a óxidos e hidróxidos de hierro y manganeso: éstos pasaran al agua en condiciones reductoras.

Paso 3.- Metales enlazados a la materia orgánica: se liberarían al pasar en condiciones oxidantes.

AL finalizar el procedimiento se obtiene la fase residual, que puede o no ser analizada.

Recientemente, la Community Bureau of Reference (BCR), puso en marcha un programa para la optimización del procedimiento por extracción secuencial tomando muestras de referencia de sedimentos (CDM-601. Juárez y col. 2005) y BCR-701 para la extracción de metales traza Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn utilizando un esquema por tres pasos.

Las formas como se asocian los metales con la matriz de sedimento son variadas. Pueden ser adsorbidos en la superficie, incorporados a fases minerales y/o ocluidos en materiales amorfos. Estas formas de asociación generalmente inhiben diferentes propiedades químicas y la medición de sus concentraciones individuales proporciona información para entender su comportamiento geoquímico (diagénesis, ciclos, transporte, etc.) y su disponibilidad biológica (Belzile y col. 1989)

La especiación de metales es útil para distinguir entre metales de origen litogénico y metales de origen antropogénico. Los de origen antropogénico son aquellos que se obtienen en las primeras fracciones y los de origen litogénico se obtienen en la última etapa del proceso, lo que se conoce como fracción residual (Rubio y col. 1991).

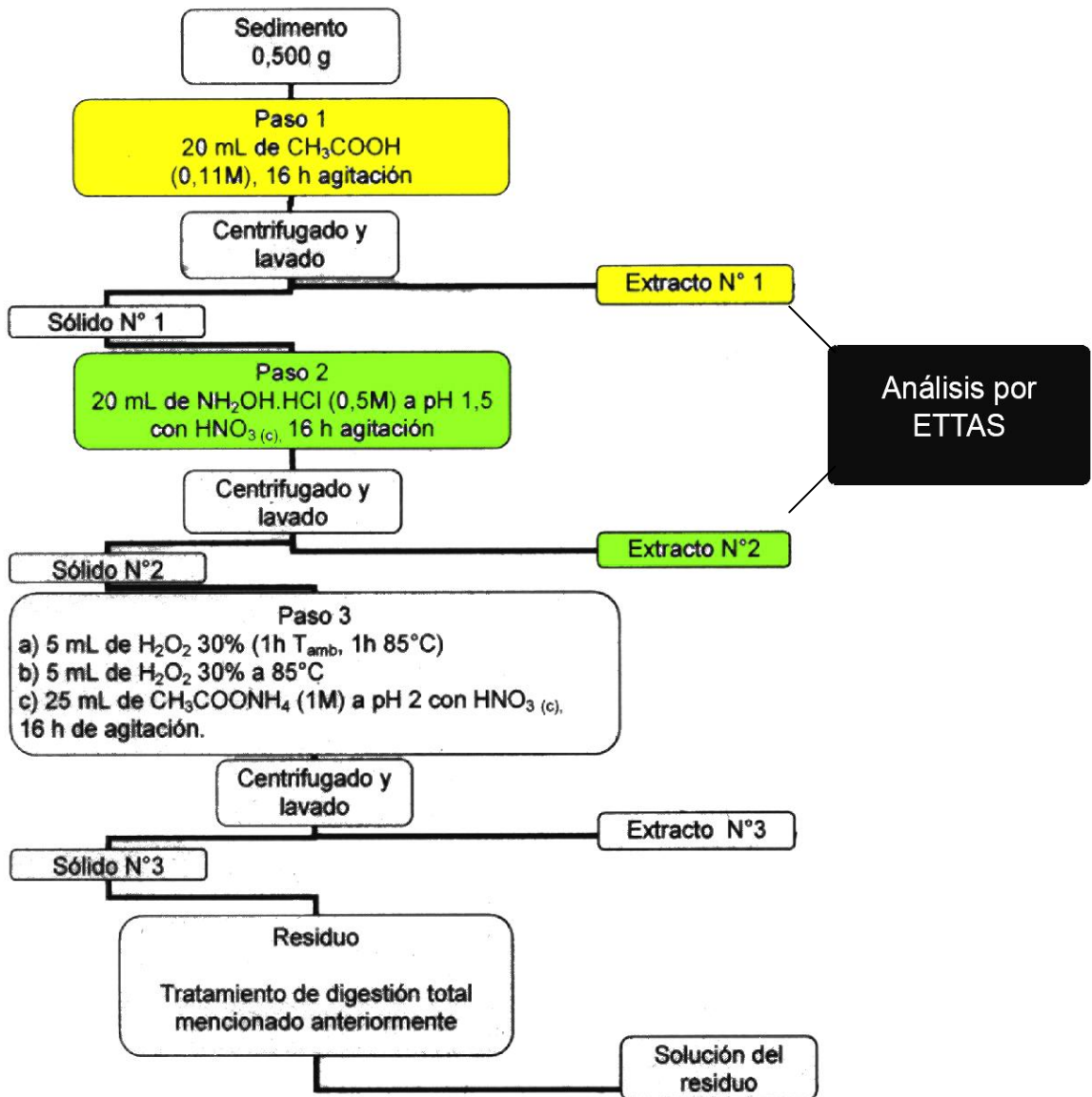


Figura 12.- Esquema de extracción secuencial, empleado, basado en el protocolo BCR modificado.

En este proyecto de investigación se llevaron a cabo los dos primeros pasos de esta metodología (etapas 1 y 2) descritas anteriormente, ya que en estos dos extractos obtuvimos los **metales biodisponibles** que realmente pueden ser asimilados o acumulados por los organismos marinos.

Iniciamente se había propuesto análisis de 5 muestras de agua, los cuales fueron tomadas en ambas localidades de estudio en las zonas donde se

colectaron las muestras de esponjas y sedimentos. Sin embargo, por recomendación de los jurados y evaluadores del proyecto de investigación, estos análisis fueron descartados. Los dos principales inconvenientes para estas determinaciones fueron:

- 1) El protocolo de tratamiento de las aguas se llevó a cabo acidificando las muestras en campo para su preservación, pero el ácido utilizado no fue destilado por lo tanto este reactivo impuro introdujo contaminación a las muestras de agua. Tomando en cuenta que las concentraciones de estos elementos en aguas marinas son sumamente bajas, probablemente los metales que se iban a medir corresponderían principalmente al contenido de éstos elementos en los reactivos (HNO_3 tridestilado y H_2O_2).
- 2) El alto contenido de sales en las aguas marinas es una limitación metodológica al momento de hacer las mediciones en el ETTAS.

De igual forma, Cebrián y col. (2007) afirma que la contaminación por metales pesados en el ámbito marino ha sido rara vez evaluada mediante el análisis de la concentración de metales en la columna de agua debido a las limitaciones metodológicas para la detección de metales en las bajas concentraciones en las que suelen estar presentes en agua de mar.

2.2 Análisis químico de las muestras

Todas las muestras compuestas de esponjas y de sedimentos fueron analizadas por Espectrometría de Absorción Atómica Electrotérmica (ETAAS) para determinar la concentración de Pb, Cd, Ni, Cr y Cu en ellas, empleándose dos réplicas de muestras en cada caso.

Los límites de detección (LODm) de las metodologías empleadas en el análisis químico se muestran en la tabla 16 (anexos).

3. Equipos utilizados

La liofilización de las muestras se realizó empleando un equipo marca LABCONCO, modelo FREEZONE 1, con capacidad para liofilizar 12 muestras simultáneamente, operando a una temperatura de $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ y a una presión de 0,293 mbar.

La digestión de muestras se realizó en un digestor de horno microondas, marca CEM modelo MDS 2000, el cual cuenta con un controlador de presión y temperatura (máximo 200 psi y 200 °C). Se emplearon recipientes de teflón para altas presiones (ACV-50).

La determinación de Pb, Cd, Ni, Cr y Cu se realizó mediante Espectrometría de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS), empleando un espectrofotómetro Marca Perkin Elmer, Modelo SIMAA 6000, que cuenta con un corrector de fondo basado en el efecto Zeeman longitudinal y un detector CMOS, permitiendo la detección de hasta seis elementos simultáneamente.

4. Análisis Estadísticos

Los datos resultantes fueron analizados mediante pruebas de Análisis de Varianza (paramétricas y no paramétricas). Se empleó la prueba de homogeneidad de varianzas de Levene. Dado que los elementos, níquel (Ni), cromo (Cr) y cobre (Cu) cumplieron con el supuesto de homogeneidad de varianzas, se aplicó un ANOVA de dos factores con réplicas con el fin de determinar interacciones estadísticamente significativas entre las medias de las concentraciones de metales pesados de las distintas especies y localidades. Luego se realizaron pruebas a posteriori (post-hoc test de Tukey) con el fin de comparar las medias de cada uno de los grupos Milton (2001). Los datos de concentraciones de plomo (Pb) y cadmio (Cd) al no cumplir con el supuesto de homogeneidad de varianza, se les aplicó estadística no paramétrica, particularmente un análisis de varianza unifactorial por rangos de Kruskal – Wallis (Sidney y Castellan 2001).

Para determinar diferencias entre las medias de concentraciones de metales pesados en los sedimentos (para cada una de las etapas de extracción, I y II, y la sumatoria de las dos) y entre las medias de materia orgánica total en los sedimentos de las localidades, se hizo análisis de varianza de un solo factor; a

las comparaciones granulométricas se les aplicó la prueba *t-student*, para cada una de las fracciones.

Las tablas de ANOVAS, para sedimentos (Granulometría, materia orgánica total y concentración de metales pesados), esponjas y localidades (concentración de metales pesados), los test de Tuckey y las pruebas Kruskal-Wallis se pueden observar de forma detallada en los Anexos.

Los programas utilizados para hacer los cálculos estadísticos fueron, Statistica 6.0 y Microsoft office (EXCEL 1997 – 2003).

RESULTADOS

Parámetros físico-químicos del agua de las localidades de estudio.

En la Tabla 5, se observa que no existen diferencias notorias entre los valores de los parámetros físico-químicos de las localidades estudiadas. Los muestreos se hicieron en época de lluvia (noviembre 2009 – marzo 2010), y los parámetros describen valores que son considerados normales para medios marinos. (Kaiser y col. 2005). El medio marino, de las dos localidades, en el que se desarrollan los organismos (esponjas) mantiene condiciones muy semejantes respecto a estas características.

Tabla 5.- Características físicas y químicas medidas durante las salidas de campo a las localidades de estudio.

P. N. A. Los Roques				Bahía de Bergantín		
Z (m)	Temp (°C)	pH	Salinidad (0/00)	Temp (°C)	pH	Salinidad (0/00)
5	28	8,14	35,36	28,1	7,80	34,4
10	27,8	7,76	35,15	28	7,67	34,3

Sedimentos

Caracterización física de los Sedimentos

La capacidad de captación de los metales pesados por los sedimentos puede deberse a distintos factores, entre ellos: a) las características granulométricas, b) contenido de materia orgánica y c) características mineralógicas.

Análisis Granulométrico

Los sedimentos para ambas localidades, en su mayor porcentaje son gruesos (arenas) el limo y las arcillas representaron una fracción muy pequeña del peso total de las muestras, correspondiendo a las separadas en el último recipiente (malla menor a 40 micras); para poder separarlas se deben utilizar técnicas de sedimentación y centrifugación. (Casanova 1996).

El análisis estadístico indicó que solo hay diferencias significativas para la fracción 4. El resto del componente granulométrico mantiene magnitudes semejantes para las dos localidades (Tabla 6).

Tabla 6.- - Tabla resumen con los promedios del peso de las distintas fracciones granulométricas estudiadas para las localidades de estudio. Se indica la significancia estadística de los resultados (prueba de *t*).

Fracción	Apertura de malla (μm)	P. N. A. de Los Roques	Bahía de Bergantín
1	< 44	$1 \pm 1,6$	$2,5 \pm 2,7$
2	45-124	$1,3 \pm 1,3$	$1,9 \pm 1,7$
3	125-179	$3,6 \pm 1,1$	$5,8 \pm 3,0$
4	180-211	$3,8 \pm 0,3^*$	$5,8 \pm 1,1^*$
5	212-424	$27,4 \pm 7,3$	$32,4 \pm 3,8$
6	425-499	$8,5 \pm 1,6$	$7,1 \pm 0,6$
7	500-1300	$38,8 \pm 2,5$	$36,5 \pm 2,9$
8	1400-1900	$7,2 \pm 1,2$	$5,9 \pm 1,7$
9	2000 <	$7 \pm 5,6$	$2,1 \pm 0,8$

*Peso expresado en gramos \pm desviación estándar. * Existen diferencias significativas entre las medias de la fracción ($t < 0,05$)*

En la Tabla 7 se muestran los promedios de la concentración de materia orgánica en los sedimentos en donde se observa que no existen diferencias significativas respecto al contenido de material orgánico total de ambas localidades. La magnitud de estos valores puede considerarse baja para ambos sitios.

Los resultados anteriormente presentados de materia orgánica y granulometría sugieren que posibles diferencias en las concentraciones de metales pesados en ambos sitios no son consecuencia de diferencias en el componente granulométrico o en la concentración de materia orgánica total (Tablas 6 y 7).

Tabla 7.- Valores promedios de materia orgánica total para cada localidad.

P. N. A. de Los Roques	Bahía de Bergantín
$1,99 \pm 0,02$ a	$1,94 \pm 0,27$ a

Peso expresado en gramos \pm desviación estándar. Letras similares indican que no existen diferencias significativas entre la media de los grupos ($p < 0,05$).

En términos de porcentaje, para el P. N. Archipiélago de Los Roques se obtuvo:

$$\text{MOT} = 1,99\text{g} / 50\text{g} \times 100 = 3,98\%$$

Y para La Bahía de Bergantín se obtuvo:

$$\text{MOT} = 1,94\text{g} / 50\text{g} \times 100 = 3,88\%$$

Estos valores indican un bajo contenido en el material orgánico de ambas zonas de estudio.

Concentración de metales pesados en los sedimentos

A continuación se presentan los resultados de las mediciones de concentraciones de los metales pesados en los sedimentos. Se presentarán por separado los valores obtenidos en cada análisis secuencial de la extracción de las muestras y la sumatoria de ambas etapas.

Las concentraciones determinadas en la etapa 1 serán utilizadas para las comparaciones con las concentraciones obtenidas en los tejidos de las dos especies de esponjas y la sumatoria de ambas etapas nos permitirá evaluar la calidad ambiental respecto al contenido de estos metales en los sedimentos. Esto debido a las razones que se mencionarán posteriormente.

La etapa 1 de extracción secuencial permite obtener el mayor porcentaje de metales biodisponibles, que se liberan al medio por cambios ambientales y los que se encuentran enlazados a carbonatos. Los resultados para las localidades estudiadas se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8.- Concentración de los metales pesados Pb, Cd, Ni, Cr y Cu en los sedimentos de ambas localidades de estudio, etapa 1 de la extracción secuencial.

Etapa 1	P. N. A. de Los Roques	Bahía de Bergantín
Pb	≤ LOD	≤ LOD
Cd	≤ LOD *	0,012 ± 0,004 *
Ni	1 ± 0,5	1,7 ± 0,7
Cr	≤ LOD	≤ LOD
Cu	0,5 ± 0,9	0,05 ± 0,08

Concentraciones expresadas como $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco \pm desviación estándar.

** Existen diferencias significativas, análisis de varianza de un factor ($\alpha = 0,05$).*

LOD = Límite de detección.

Tal como lo muestra la tabla 8, para el único elemento que arrojó diferencias significativas entre ambas localidades de estudio fue el cadmio.

De acuerdo a los resultados, los metales pesados en orden decreciente de concentraciones para la etapa 1 son:

P. N. Los Roques: Ni > Cu > Pb ≥ Cd ≥ Cr

Bahía de Bergantín: Ni > Cu > Cd > Pb ≥ Cr

Se observa que el orden es muy similar para ambas localidades, exceptuando para cadmio y plomo.

En la etapa 2, se observan que todas las concentraciones de los metales pesados son superiores a la etapa 1 (Tabla 9), esto se debe a que los metales representados en esta fracción son compuestos ligados a óxidos e hidróxidos de hierro y manganeso. Debido a su estabilidad, es muy baja la probabilidad que éstos metales puedan ser incorporados a los tejidos de los organismos y solo se liberan al medio en condiciones reductoras (Figura 9).

Tabla 9.- Concentración de los metales pesados Pb, Cd, Ni, Cr y Cu en los sedimentos de ambas localidades de estudio, etapa II de la extracción secuencial.

Etapa 2	P. N. A. de Los Roques	Bahía de Bergantín
Pb	0,5 ± 0,1 *	≤ LOD *
Cd	0,012 ± 0,003 *	0,005 ± 0,002 *
Ni	1,8 ± 0,7	2 ± 1
Cr	1,3 ± 0,8*	0,11 ± 0,03 *
Cu	4,6 ± 2,8*	0,3 ± 0,3 *

Concentraciones expresadas como $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco \pm desviación estándar.

* Existen diferencias significativas, análisis de varianza de un factor ($\alpha = 0,05$).

LOD = Límite de detección.

Las concentraciones de los metales Pb, Cd, Cr y Cu resultaron diferentes entre las dos localidades. Las concentraciones promedio de níquel son similares para ambas localidades.

De acuerdo a los resultados, los metales pesados en orden decreciente de concentraciones para la etapa 2 son:

P. N. Los Roques: Cu > Ni > Cr > Pb > Cd

Bahía de Bergantín: Ni > Cu > Cr > Cd > Pb

En esta extracción las diferencias en las concentraciones de los metales entre las localidades son más notorias en comparación a la etapa 1.

A continuación se presentan las concentraciones de los metales pesados considerando de manera aditiva las extracciones de ambas etapas.

Tabla 10.- Concentración de los metales pesados Pb, Cd, Ni, Cr y Cu en los sedimentos de ambas localidades de estudio, sumatoria de etapas 1 y 2.

Etapa 1 + Etapa 2	P. N. A. de Los Roques	Bahía de Bergantín
----------------------------------	-----------------------------------	-------------------------------

Pb	0,5 ± 0,25 *	≤ LOD *
Cd	0,014 ± 0,006	0,017 ± 0,005
Ni	2,79 ± 0,67	3,80 ± 0,95
Cr	1,27 ± 0,87*	0,11 ± 0,06*
Cu	5,04 ± 2,92*	0,34 ± 0,27*

Concentraciones expresadas como $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco \pm desviación estándar.

* Existen diferencias significativas, análisis de varianza de un factor ($\alpha=0,05$).

LOD = Límite de detección.

En orden decreciente de concentraciones:

Los Roques: Cu > Ni > Cr > Pb > Cd

Bahía de Bergantín: Ni > Cu > Cr > Cd > Pb

Para fines comparativos, en la Tabla 11 se muestran estimaciones de las concentraciones de metales pesados obtenidas en distintas partes de Venezuela y otros países. Destacan los valores obtenidos en este estudio y determinados para ambas etapas, tanto para el P. N. A. de Los Roques como para la Bahía de Bergantín, los cuales son en general menores a los valores de los metales reportados en la literatura, inclusive para la misma localidad en el 2002. Ello sugiere, que la contaminación por estos metales pesados es baja, más si se compara con los estándares internacionales sobre límites máximos de concentración de metales pesados en los sedimentos (Tabla 12).

Tabla 11.- Comparación de publicaciones de estudios sobre concentraciones de metales pesados en sedimentos de distintas localidades de Venezuela y el mundo.

Localidad y Autores	Pb	Cd	Ni	Cr	Cu
Ensenada del Obispo Venezuela Bonilla y col. (2003)	3,80 - 49,78	0,09 - 0,76	11,78 - 40,56	5,54 - 38,54	5,38 - 63,92
Bahía de Barcelona Venezuela SINOVENSA (2009)	10,5	-----	12,45	12	6,7
Área de Jose Venezuela	<0,01 - 18	<0,01- 4,6	0,11 - 44,0	<0,01 - 137,0	<0,01 - 88

Fundación - UCV					
Isletas de Píritu Venezuela Pequiven (1998)	35,25 - 86,14	11,04 - 16,56	22,74 - 54,47	15,09 - 37,85	17,82 - 54,87
Beijing – China Wang Quin-Ren y col. (2003)	2,28	0,07	0,01	0,02	0,47
Nor-este Mar Mediterráneo, España Cebrian y col. (2007)	2,28	-----	-----	-----	0,07
Barcelona – España Paláquez A. y col. (1990)	-----	4,8	40	-----	170
Golfete de Coro – Venezuela ** PDVSA-INTEVEP (2003)	<5,00 – 20,1	<2,00	2,62 – 44,80	5,35- 98,40	<2,00 – 22,07
Bahía de Bergantín Venezuela Martínez y col. (2002)	1,50 - 14,77	nd - 1,5	-----	nd - 5,75	-----
Este estudio:					
P.N. Los Roques	0,462	0,014	2,788	1,274	5,042
Bahía de Bergantín	0,09	0,017	3,797	0,111	0,341

Concentraciones expresadas en $\mu\text{g g}^{-1}$, **ppm (parte por millón).nd = no detectable.

Tabla 12.- Normativas internacionales sobre límites de metales pesados en los sedimentos (tomado de PDVSA 2000)

Parámetro	Washington (1998)	Holanda (1990)	NOAA (1995)
Pb	450	85	46,7
Cd	5,1	0,8	1,2
Ni	NC	35	20,9
Cr	260	100	81
Cu	390	36	34

Concentraciones expresadas como $\mu\text{g g}^{-1}$. **NC**: No hay criterio establecido

Esponjas

Concentración de metales pesados en las esponjas

Las concentraciones de Pb, Cd, Ni, Cr y Cu en las esponjas estudiadas se presentan en la Tabla 13. Los mayores valores de concentración determinados para las dos especies y ambas localidades fueron:

Plomo (Pb): *N. erecta* en la Bahía de Bergantín.

Cadmio (Cd): *A. viridis* en el P.N. Archipiélago de Los Roques.

Níquel (Ni): *N. erecta* en el P.N. Archipiélago de Los Roques.

Cromo (Cr): *A. viridis* en la Bahía de Bergantín.

Cobre (Cu): *N. erecta* en la Bahía de Bergantín.

Como puede observarse, en más de la mitad de los casos las mayores concentraciones se observan para la especie *Niphates erecta*

Tabla 13.- Concentraciones promedio de Pb, Cd, Ni, Cr y Cu por especie y localidad de estudio.

Metal	P. N. A. de Los Roques		Bahía de Bergantín	
	<i>Niphates erecta</i>	<i>Amphimedon viridis</i>	<i>Niphates erecta</i>	<i>Amphimedon viridis</i>
Pb	0,55 ± 0,08	0,39 ± 0,07	2,6 ± 1,5	1,1 ± 0,3
Cd	1,02 ± 0,65	2,31 ± 0,18	0,06 ± 0,04	0,79 ± 0,08
Ni	23 ± 7	2,4 ± 0,7	3,3 ± 0,1	2,7 ± 0,5
Cr	0,52 ± 0,16	0,33 ± 0,17	2,2 ± 0,3	2,8 ± 0,6
Cu	11 ± 4,4	10,4 ± 0,3	19 ± 4	10,6 ± 1,8

Concentraciones expresadas como $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco \pm desviación estándar.

La tabla 14, presenta una comparación de distintas publicaciones que reportan concentraciones de metales pesados en distintos organismos marinos. En nuestro estudio el elemento plomo (Pb) dá valores semejantes al estudio de (Cebrian y col. 2007) en el mediterráneo, sin embargo las concentraciones de Pb en *N. erecta* en la Bahía de Bergantín supera el valor de todos los poríferos presentados, a excepción de la obtenida por Páez-Osuna y col. (1988). La mayoría de los bivalvos presentan concentraciones de los metales mayores a los poríferos, mientras que los corales mantienen concentraciones semejantes a las

esponjas. El cadmio (Cd) en *N. erecta* y *A. viridis* presenta valores semejantes a los corales, mientras que los bivalvos tienen valores mayores. Es importante destacar los resultados del trabajo de Olense y Weeks (1993), donde se indica que la especie *Halichondria panicea* es capaz de acumular el metal en función de las concentraciones que son agregadas al medio. En el caso del cobre (Cu), para las especies de esponjas consideradas en el presente estudio, se obtuvieron valores altos, semejantes a los publicados por Paez-Osuna y col. (1988) y Cebrian y col. (2007), otros estudios han registrado valores aún mucho mayores, lo que indica la capacidad de los poríferos para asimilar este metal. Los trabajos de Maia y col. (2010) y Wanick y col. (2010) son indicados en la tabla 14 para demostrar que la asimilación de estos metales puede ser mucho mayor, con órdenes de magnitud mucho mayores que los presentados en este trabajo, incluso para las mismas especies, *Amphimedon viridis* es un ejemplo. Sin embargo, hay que destacar que existen diferencias en las metodologías utilizadas para la determinación de estos metales por lo que las comparaciones de estos resultados suelen ser poco robustas.

Tabla 14.- Comparación de publicaciones de estudios sobre concentraciones de metales pesados en organismos.

Localidad y Autores	Organismo	Metales				
		Pb	Cd	Ni	Cr	Cu
	Corales					
Gran barrera de Coral McConchie y col. (1992)	Porites sp	0,18- 0,58				
Hong Kong Scott (1990)	Porite sp	0,2-0,8				
Venezuela Bastidas y García (1999)	<i>Porites sp.</i>	0,031,4				
Venezuela Bastidas y García (1999)	<i>Porites sp.</i>	0,03-4,7				
Venezuela Bastidas y García (1997)	<i>Montastraea annularis (Tejido)</i>	0,50- 0,62	0,882- 0,626			3,18- 3,40
	<i>Montastraea annularis (esqueleto)</i>	1,16- 1,79	0,075- 0,1			0,61- 5,21
	Bivalvos					
Mazatlán – México Páez-Osuna y col. (1998)	<i>C. cortizensis</i>	1,8	0,4	2,8		53,8

Golfo de México – México Rosas y col. (1983)	<i>C. virginica</i>	3,0	7,1			
Estuaria Knysna - Sudáfrica Waltling (1976)	<i>C.gigas</i>		3,7	1,6		32
Nueva Zelanda - Brooks y Rumsby (1965)	<i>M. edulis</i>	11,7	10			
Mar Mediterráneo - Francia Flores and Oregioni (1976)	<i>M. galloprovincialis</i>	21,5	1,9	4,3		18
Laguna de Castellero - Venezuela Márquez y col. (2008)	Tejido muscular peces	0,38- 0,47				
Esponjas						
Mar Mediterráneo-España Cebrian y col. (2007)	<i>Chondrosia reniformis</i>	2,1				8,2 - 11,3
Mar Mediterráneo-España Cebrian y col. (2007)	<i>Crambe Crambe</i>	0,4 - 1,8				9,5 - 42,2
Mar Mediterráneo-España Cebrian y col. (2007)	<i>Phorbas tenacior</i>	0,5 - 0,8				34 - 91
Mar Mediterráneo-España Cebrian y col. (2007)	<i>Dysidea avara</i>	0,4 - 0,8				47,4 - 299,3
Mar Mediterráneo-España Olense y col. (1993)	<i>Hallichondria panicea</i>		0-100*			
Mar Mediterráneo-España Cebrian y col. (2006)	<i>Chondrosia reniformis</i>					7,6-27
Mazatlan - México Páez–Osuna y col. (1998)	<i>Zygomycete parishii / Sigmadocia caurela</i>	24,5- 28,2		10,1- 30,5		
Río de Janeiro - Brazil Maia y col. (2010)	<i>Amphimedon viridis</i>	0,058- 0,119	0,613- 0,653	11,40- 12,92	0,604- 0,694	4,190- 8,144
Río de Janeiro – Brazil Wanick y col. (2010)	<i>Haliclona sp.</i>		0,007- 0,020*			
En este estudio:						
P.N. Los Roques	<i>Niphates erecta</i> <i>Amphimedon viridis</i>	0,55 0,39	1,02 2,31	22,76 2,45	0,52 0,33	11,01 10,36
Bahía de Bergantín	<i>Niphates erecta</i> <i>Amphimedon viridis</i>	2,56 1,05	0,06 0,79	3,33 2,74	2,21 2,84	19,12 10,55

Concentraciones expresadas en $\mu\text{g g}^{-1}$ (menos **, ppm) *Experimento in situ

Con el fin de conocer la significancia estadística de las diferencias halladas en las concentraciones de los metales pesados (entre especies y localidades), se realizó un ANOVA de dos vías (Tabla 15). Este análisis, determinó que existen

interacciones significativas entre ambos factores, debiéndose entonces considerar el efecto simultáneo de estos en los valores de acumulación obtenidos para los metales níquel, cromo y cobre.

Tabla 15.- Resultados del análisis de varianza de dos vías, por especies (*N. erecta*, *A. viridis*) y localidades (P.N. Archipiélago de Los Roques y Bahía de Bergantín) para los metales Ni, Cr y Cu.

Variable	Fuente de variación	Grados de libertad	F	P
Ni ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Especies	1	99,862*	< 0,0001
	Localidad	1	55,127*	< 0,0001
	Sp * Loc	1	71,867*	< 0,0001
	Error	16		
Cr ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Especies	1	0,0899	0,7681
	Localidad	1	228,223*	< 0,0001
	Sp * Loc	1	6,674*	0,0199
	Error	16		
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Especies	1	7,991*	0,0121
	Localidad	1	8,0896*	0,0117
	Sp * Loc	1	7,3968*	0,01514
	Error	16		

Los datos fueron transformados a escala logarítmica (logaritmo base 10), ajustándose a los criterios descritos por Zar (1999).

* *Diferencias significativas entre grupos, análisis de varianza de dos factores ($\alpha=0,05$).*

A continuación se detalla la información para cada metal pesado:

Níquel (Ni):

La interacción de los dos factores, especie y localidad es significativa. La concentración de níquel en la especie *N. erecta* es significativamente mayor que la de *A. viridis* para P.N. Archipiélago de Los Roques. No se encontraron diferencias significativas entre las dos especies en la Bahía de Bergantín (Gráfico 1).

Cromo (Cr):

Las especies estudiadas, no presentaron diferencias significativas entre las concentraciones de cromo; pero si entre las localidades, siendo mayor en la Bahía de Bergantín.

La interacción especie-localidad es significativa y podemos observar que ambas especies presentan valores superiores de las concentraciones de este elemento en la Bahía de Bergantín (Gráfico 2).

Cobre (Cu):

N. erecta presenta una concentración de cobre en sus tejidos significativamente mayor que *A. viridis* en la Bahía de Bergantín, pero no presenta diferencias en el P. N. A. de Los Roques las concentraciones promedio de este elemento en el P. N. A. de Los Roques son significativamente menores que los obtenidos en la Bahía de Bergantín.

Las interacciones también son significativas entre especies y localidades. Así para *N. erecta* la concentración de cobre es mayor en la Bahía de Bergantín respecto al resto de las condiciones de estudio (Gráfico 3).

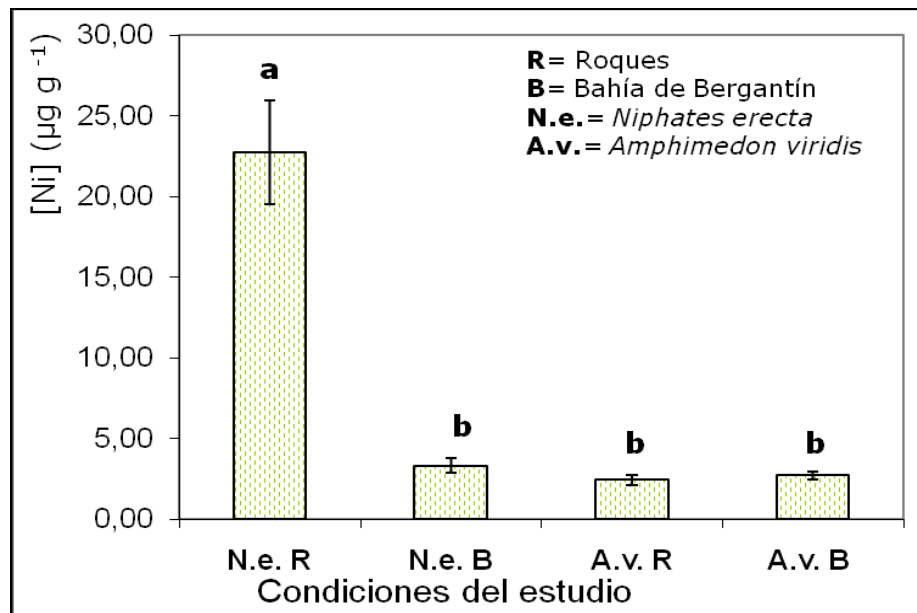


Gráfico 1.- Concentraciones de Ni ($\mu\text{g g}^{-1}$), para ambas especies de esponjas (*N. erecta* y *A. viridis*) para ambas localidades (P.N. Archipiélago de Los Roques y Bahía de Bergantín). *Letras similares indican que no existen diferencias significativas entre las medias de las condiciones de estudio. (Test tukey $p < 0,05$). Líneas acotadas representan el error estándar de los datos.

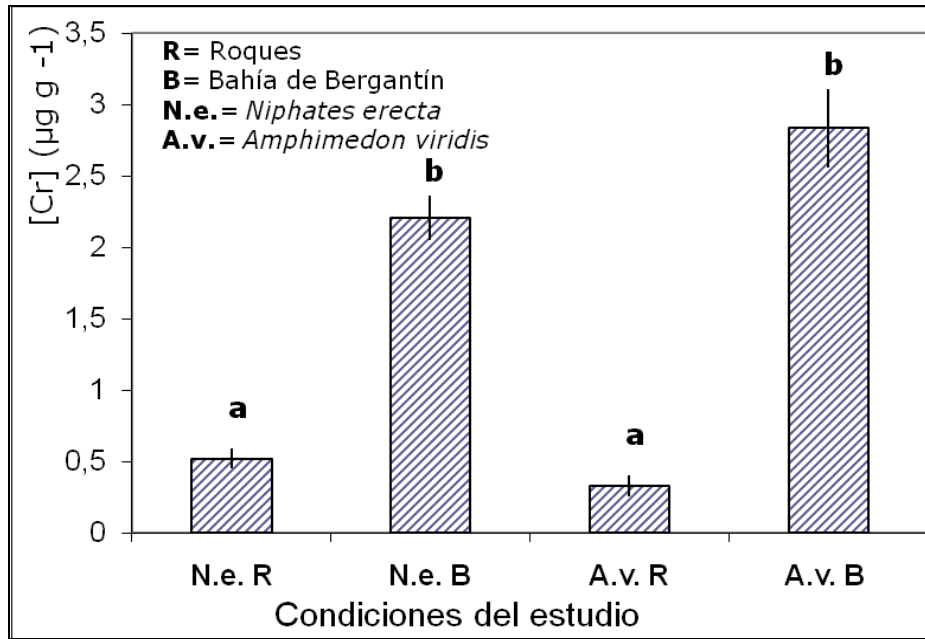


Gráfico 2.- Concentraciones de Cr ($\mu\text{g g}^{-1}$), para ambas especies de esponjas (*N. erecta* y *A. viridis*) para ambas localidades (P.N. Archipiélago de Los Roques y Bahía de Bergantín).

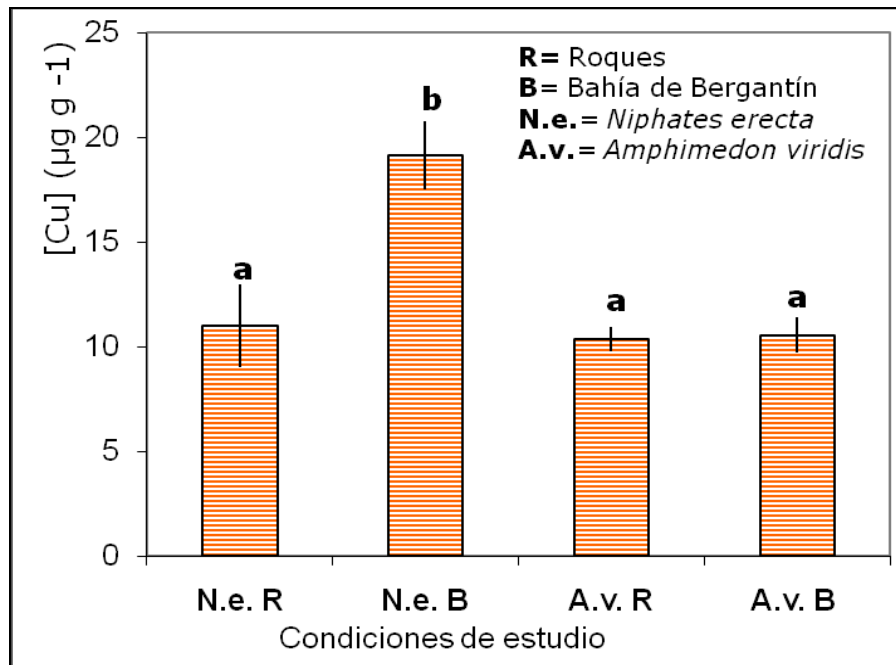


Gráfico 3.- Concentraciones de Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$), para ambas especies de esponjas (*N. erecta* y *A. viridis*) para ambas localidades (P.N. Archipiélago de Los Roques y Bahía de Bergantín).

*Letras similares indican que no existen diferencias significativas entre las medias de las condiciones de estudio. (Test tukey $p < 0,05$). Líneas acotadas representan el error estándar de los datos.

Las diferencias estadísticas en las concentraciones de plomo y cadmio se establecieron con una prueba unifactorial que promedia los factores de variación (especies o localidades); por lo tanto los factores de interacción no podrán ser analizados. Sin embargo, discutimos sobre las posibles diferencias entre las especies o localidades de forma independiente.

Plomo (Pb): No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias en la concentración de este metal entre las especies de esponjas (Gráfico 4). Por otra parte, al hacer el análisis para las medias de ambas especies entre las dos localidades (Gráfico 5), se observa que si hay diferencias significativas en las concentraciones de plomo, siendo la Bahía de Bergantín la que presenta mayor concentración.

Cadmio (Cd): Se comporta de manera muy semejante al plomo, ya que no observamos diferencias significativas entre las especies (Gráfico 6).

La comparación de las medias entre las localidades (Gráfico 7), arrojó diferencias significativas en las concentraciones de cadmio siendo, en este caso, el P. N. A. de Los Roques el que presenta una mayor concentración.

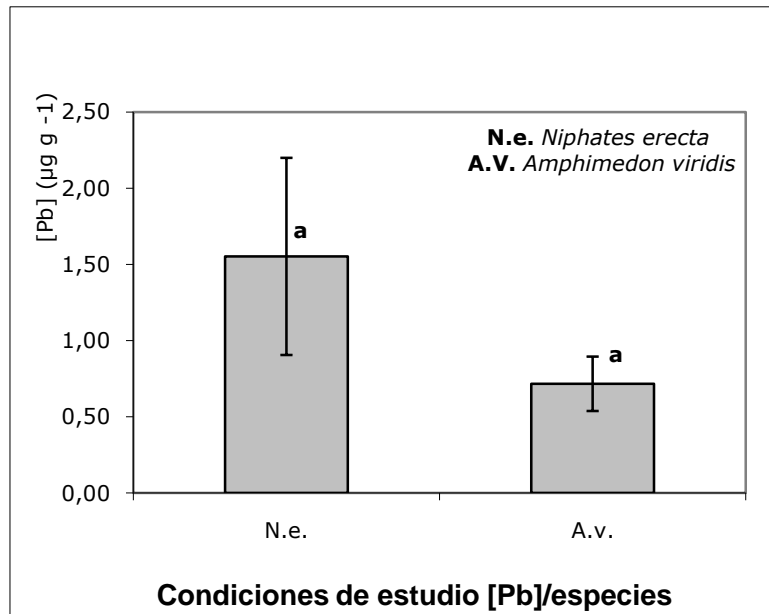


Gráfico 4.- Concentraciones de Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$), para ambas especies de esponjas (*Niphates erecta* y *Amphimedon viridis*).

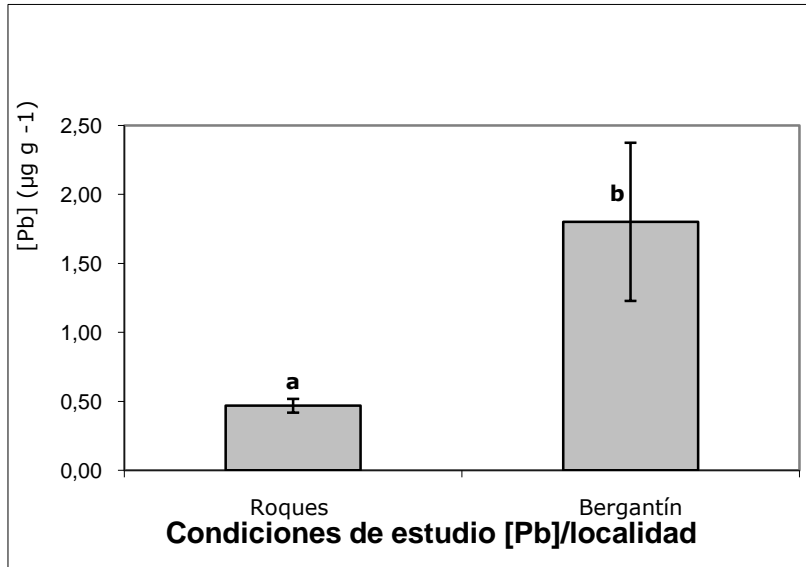


Gráfico 5.- Concentraciones de Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$), para ambas localidades (P.N. Archipiélago de Los Roques y Bahía de Bergantín).

**Letras similares indican que no existen diferencias significativas entre las medias de las concentraciones del metal en las localidades de estudio. (prueba Kruskal-Wallis $p < 0,05$). Líneas acotadas representan el error estándar de los datos.*

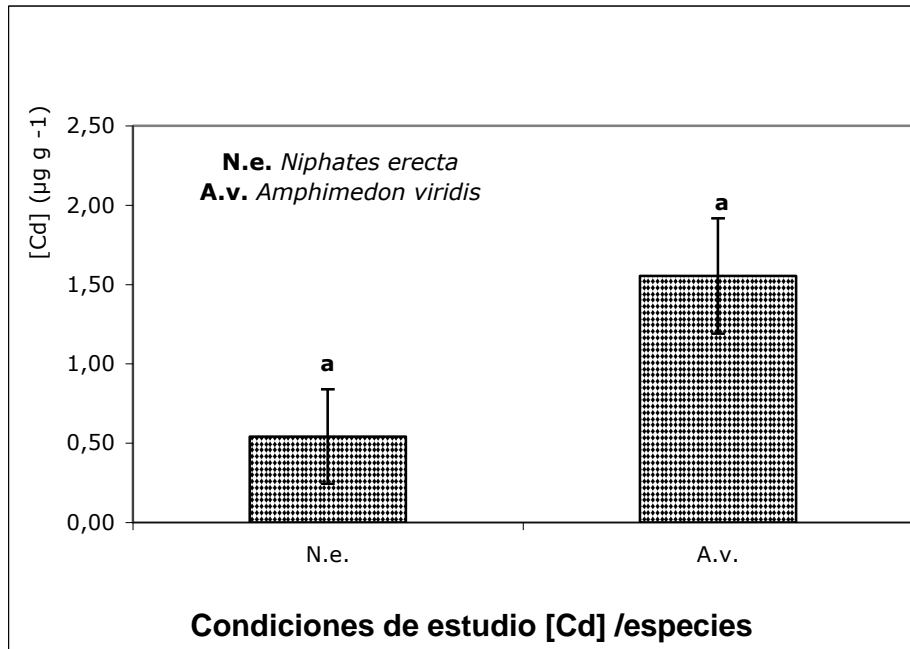


Gráfico 6.- Concentraciones de Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$), para ambas especies de esponjas (*Niphates erecta* y *Amphimedon viridis*).

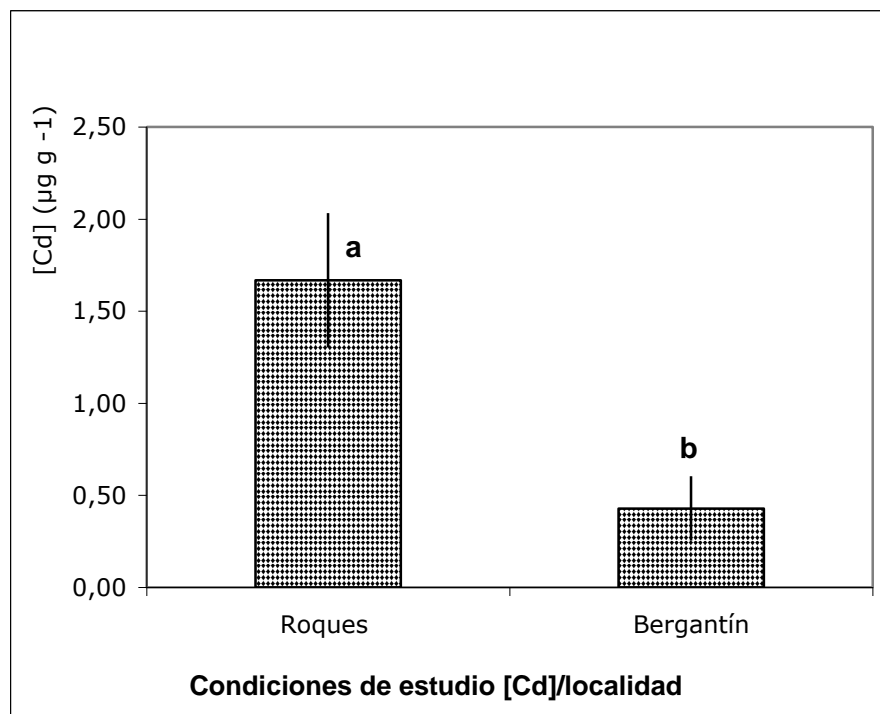


Gráfico 7.- Concentraciones de Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$), para ambas localidades (P.N. Archipiélago de Los Roques, Bahía de Bergantín).

*Letras similares indican que no existen diferencias significativas entre las medias de las concentraciones del metal en las localidades de estudio. (prueba Kruskal-Wallis $p < 0,05$). Líneas acotadas representan el error estándar de los datos.

En la Tabla 16 se resumen las determinaciones de las concentraciones de metales pesados para ambas localidades de estudio en las dos especies de esponjas (*N. erecta*, *A. viridis*) y los sedimentos etapa 1 y 2.

Tabla 16.- Concentraciones de metales pesados (Pb, Cd, Ni, Cr, Cu) en las esponjas y los sedimentos en las dos localidades de estudio.

Metal	P. N. A. de Los Roques			Bahía de Bergantín		
	<i>N. erecta</i>	<i>A. viridis</i>	S	<i>N. erecta</i>	<i>A. viridis</i>	S
Pb	$0,55 \pm 0,08$	$0,39 \pm 0,07$	$\leq \text{LOD (1)}$ $0,5 \pm 0,1 (2)$	$2,6 \pm 1,5$	$1,1 \pm 0,3$	$\leq \text{LOD (1)}$ $\leq \text{LOD (2)}$
Cd	$1,02 \pm 0,65$	$2,31 \pm 0,18$	$\leq \text{LOD (1)}$ $0,012 \pm 0,003 (2)$	$0,06 \pm 0,04$	$0,79 \pm 0,08$	$0,012 \pm 0,004 (1)$ $0,005 \pm 0,002 (2)$
Ni	23 ± 7	$2,4 \pm 0,7$	$1 \pm 0,5 (1)$ $1,8 \pm 0,7 (2)$	$3,3 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,5$	$1,7 \pm 0,7 (1)$ $2 \pm 1 (2)$
Cr	$0,52 \pm 0,16$	$0,33 \pm 0,17$	$\leq \text{LOD (1)}$ $1,3 \pm 0,8 (2)$	$2,2 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,6$	$\leq \text{LOD (1)}$ $0,11 \pm 0,03 (2)$

Cu	11 ± 4,4	10,4 ± 0,3	0,5 ± 0,9 (1) 4,6 ± 2,8 (2)	19 ± 4	10,6 ± 1,8	0,05 ± 0,08 (1) 0,3 ± 0,3 (2)
-----------	----------	------------	--------------------------------	--------	------------	----------------------------------

Concentraciones expresadas como $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco \pm desviación estándar.

LOD = Límite de detección. S = sedimentos. (1) = Etapa 1; (2) = Etapa 2.

En la tabla 16 podemos observar que los elementos níquel y cobre fueron los que se determinaron en mayores concentraciones para los sedimentos de ambas localidades de estudio y se bioacumulaban mayormente en ambas especies en esponjas. La especie *Niphates erecta* fue la que bioacumuló mayormente los elementos de estudio (Pb, Ni y Cu) respecto a *Amphimendon viridis*, esto podría sugerir que es un mejor bioacumulador de metales.

DISCUSIÓN

Los invertebrados marinos, entre ellos los organismos filtradores, como las esponjas han sido estudiados a través de diversas investigaciones y se han propuestos como posibles biomonitores o bioacumuladores de metales pesados en los ecosistemas marinos, debido a sus características (Bowen y Sutton 1951, Rainbow y *col.* 1990, Rainbow y Phillips 1993, Rainbow 1995, Cebrian y *col.* 2007, Padovan 2010). Ello se debe a que pueden dar una información mas certera y detallada sobre los posibles contaminantes que se encuentran en el medio acuático marino en el que se desarrollan; en comparación a otros compartimentos ambientales como las aguas, que presentan diversas limitaciones metodológicas (Cebrian y *col.* 2007), y los sedimentos que acumularan los metales principalmente por las características intrínsecas de cada lugar, (Rainbow 1995).

El análisis en los sedimentos para determinar las concentraciones de metales biodisponibles totales, (sumatoria etapa 1 y 2, Tabla 10), indicaron que las concentraciones de plomo, cromo y cobre son significativamente mayores en el P. N. Archipiélago de Los Roques que en la Bahía de Bergantín (Tabla 10).

Al ser el Archipiélago de Los Roques una zona protegida de la actividad antrópica intensiva, los resultados eran poco esperados; sin embargo, es preciso mencionar que existen diversos factores los cuales podrían estar actuando y atribuyéndose estas diferencias; entre estos, la composición mineralógica de los sedimentos puede determinar la capacidad de captación y retención de los metales. Ambas localidades presentan diferencias en este aspecto. En este sentido, en el P. N. A. de Los Roques la proporción de carbonatos representa casi la totalidad de los sedimentos, según Méndez Baamonde (1978) más del 90% del material sedimentario en el Archipiélago de Los Roques es carbonato cálcico proveniente de los restos de estos organismos arrecifales, así como de sus actividades biológicas en general, comprenden desde un material sumamente fino hasta grandes gravas. Los finos están representados por partículas y restos de foraminíferos, conchas fraccionadas de moluscos, algas calcáreas, espículas de esponjas y corales blandos y en menor grado por restos de equinodermos,

briozoarios, residuos fecales, etc. Las gravas están representadas por las cabezas y esqueletos de corales duros y grandes conchas de moluscos; lo que contrasta con la Bahía de Bergantín donde la mayoría de los sedimentos son de origen terrígeno principalmente, aluminosilicatos. En este estudio los resultados indican que la captación de plomo, cromo y cobre en los sedimentos de Dos Mosquises es mayor que en los de la Bahía de Bergantín. En cambio, para el cadmio y níquel no existen diferencias significativas entre las medias, por lo tanto los dos ambientes presentan un contenido semejante de ambos metales. Otro aspecto interesante a destacar es la aparente baja contaminación de la Bahía de Bergantín en relación a otros reportes (Tabla 11) y las normativas de calidad de los sedimentos a nivel internacional (Tabla 12).

Los resultados sobre el contenido de metales pesados entre las esponjas y los sedimentos no muestran la correlación esperada a partir de la hipótesis planteada en esta investigación, para la cual el ambiente más contaminado o con mayor contenido de metales pesados en sus sedimentos deberían tener niveles mayores de esos elementos en los tejidos de las esponjas que se desarrollan en ellos. Como se indicó anteriormente, el estudio determinó que existe mayor contenido de plomo, cromo y cobre en los sedimentos del P. N. A. de Los Roques en comparación con aquellos de la Bahía de Bergantín, en tanto que para el níquel y cadmio los niveles son semejantes en las dos localidades (Tabla 10). En cambio al comparar las especies de esponjas (*N. erecta*, *A. viridis*) para *N. erecta* se obtuvo que las concentraciones de plomo, cromo y cobre en los tejidos son menores en el P. N. A. de Los Roques que para la Bahía de Bergantín; en tanto que lo contrario es válido para cadmio y níquel (Tabla 13). Para las esponjas *A. viridis* las concentraciones de plomo y cromo son menores en el P. N. A. de Los Roques, esencialmente iguales para el níquel y el cobre, mientras que para el cadmio la relación es inversa (Tabla 16).

Se pueden observar algunas correlaciones cuantitativas, tales como las concentraciones de cobre y níquel son las más altas en los sedimentos de ambas localidades, y a su vez son también los metales más acumulados por ambas especies de poríferos. Sin embargo, no hay una proporcionalidad cuantitativa

entre esos niveles (Tabla 16), lo que indica diferencias en la biodisponibilidad y/o mecanismos de acumulación y excreción de esos elementos por las esponjas entre las dos localidades. Adicionalmente, se pueden avanzar otras aproximaciones para explicar estos resultados. Analizado las siguientes variables:

a) Es importante destacar que la hidrodinámica de los sitios es distinta, para la Bahía de Bergantín posiblemente el patrón de corrientes, flujo y movilidad de las aguas es mayor que en Dos-Mosquises (P. N. A. de Los Roques), favoreciendo la dilución y dispersión de los contaminantes a bajas concentraciones pese a la presencia continua de fuentes importantes de contaminación. En la zona de muestreo de Los Roques puede que este flujo sea mucho más lento y por lo tanto la dispersión de estos elementos sea mucho menor. La hidrodinámica, a su vez, puede producir en Bergantín patrones o ciclos de remoción de sedimentos más frecuentes, renovando los sedimentos superficiales y dispersando o transportando los que contienen o han captado metales en cierto período de tiempo a otras zonas. Esto puede también explicar en buena medida la buena condición de los parches o comunidades coralinas que se desarrollan en esta área – (observación pers.) a pesar de los aportes de vertidos industriales y domésticos. La Bahía de Bergantín mantiene un gran tráfico náutico (Martínez y col. 2002), que puede inducir también movimiento y perturbación en el fondo y por ende el transporte y la remoción de los sedimentos (la profundidad de esta zona del muestreo es relativamente menor que en la zona donde fueron tomadas los sedimentos de Los Roques). En el P. N. A. de Los Roques es posible que debido a que la zona de muestreo tiene mayor profundidad y se encuentra frente a la isla de Dos Mosquises, los patrones de remoción del sedimento sean menos frecuentes, manteniéndose estos depositados en el fondo por tiempos más prolongados, b) Es preciso recordar que las comparaciones de este estudio están basándose en un muestreo puntual (varias muestras de sedimentos y esponjas tomados en un momento determinado para ambas localidades) por lo tanto se está describiendo los ambientes en momentos muy precisos (Bahía de Bergantín inicios del mes de enero 2010, P. N. A. de Los Roques finales del mes de febrero inicios del mes de marzo 2010). En el P. N. A. de Los Roques la intensidad de las actividades

turísticas, es mayor en los días feriados (carnavales), y ello pudo ser otra de las variables que determinaron estas diferencias en el contenido de metales. Por ejemplo, el níquel obtenido mayormente en las esponjas para esta localidad, podría deberse a que este metal está contenido en los hidrocarburos utilizados en todas las embarcaciones. Otro aspecto es que el Parque Nacional se encuentra en una zona oceánica donde, fuera de los límites del parque, existen rutas de comercio y se mantiene un importante tráfico de barcos petroleros. En este sentido, es posible que las corrientes en dirección hacia las zonas del parque puedan mantener un flujo constante de contaminantes de hidrocarburos y sus derivados. El cadmio fue otro de los elementos que se refleja en mayores concentraciones en las esponjas para Los Roques. Baird (2000) indica que este elemento es liberado al ambiente por la quema de plásticos y otros materiales que contienen pigmentos o estabilizadores. Es importante destacar que en Dos-Mosquises se quema recurrentemente la basura en la isla, esto se hace sin ningún tipo de clasificación por lo tanto se incluyen plásticos y cualquier tipo de material. La actividad de quema pudiera ser una posible fuente de incorporación de este elemento en el ambiente de esta zona del parque. En la Bahía de Bergantín las esponjas acumularon mayormente cromo, cobre y plomo, pero no se observa así en los sedimentos. Esta acumulación por parte de estos organismos sedentarios es consistente con las posibles fuentes de contaminación que existen en la bahía debido a las características portuarias y las intensas actividades marítimas desarrolladas en esta zona. La acumulación del cromo y el cobre pueden explicarse por la presencia continua de estos elementos por procesos de lixiviación debido a las pinturas, inhibidores de corrosión y recubrimientos antiincrustantes (Tabla 1) que son agregados a los cascos de buques (Cebrian y col. 2007). Por su parte el plomo, es un componente característico de las gasolinas y derivados de hidrocarburos, como también las sales de plomo son utilizadas para pigmentos (*p.ej.* $PbCrO_4$), así como Pb_3O_4 en pinturas resistentes a la corrosión, (Baird 2000). La Bahía de Bergantín es así mismo, una zona de transporte de diversos productos petroleros, además de la presencia de la Refinería de Puerto La Cruz en sus adyacencias y el tráfico de embarcaciones

deportivas y turísticas en el extremo oriental (Martínez y col. 2002). Este conjunto de factores podría explicar la prevalencia de estos metales en el ambiente.

Es importante señalar que por ser las esponjas organismos filtradores, pareciera ser más consistente que las concentraciones en sus tejidos reflejen principalmente la presencia de estos metales en las aguas. Las concentraciones de los metales en las columnas de aguas suelen ser muy bajas, (Cebrian y col. 2007), y su incorporación en los tejidos depende, en parte, de las tasas de filtración de estos organismos. Las esponjas pueden absorber partículas de $2\mu\text{m}$ o menores, por lo tanto pueden absorber el material orgánico disuelto y fitoplancton. Las tasas de filtración por ósculo pueden variar entre 0,2 y 3,3 cm/s con mediciones instantáneas de hasta 25 cm/ s. Si bien la variabilidad es grande, los ósculos se mantienen de forma individual con una velocidad de 1cm s^{-1} . El volumen de los flujos de agua varía en intervalos de 0,01 hasta $0,60\text{ cm}^3\text{s}^{-1}$. Los flujos por individuo indican que las esponjas procesan su volumen entre 17 y 24 segundos, comparable con los valores obtenidos por otras especies marinas (Savarese y col. 1997); así mismo Rainbow y col. (1990) indican que los invertebrados marinos se encuentran rodeados de una solución de metales disueltos en concentraciones que pueden estar en nanogramos por litro en el medio. A pesar de las concentraciones bajas de los metales en el ambiente, los organismos marinos toman y acumulan metales pesados en sus tejidos blandos en concentraciones de órdenes de magnitud superiores a los niveles presentes considerados en el medio que los rodea. Aunque las aguas marinas evidencien concentraciones indetectables de metales pesados, el proceso continuo de filtración e incorporación de estos metales en los tejidos, puede dar una mejor idea de las condiciones ambientales en cuanto a la contaminación. Por lo tanto, podríamos indicar que a pesar de que, por razones metodológicas, no se hicieron los análisis de agua en este estudio, las esponjas pudieran estar reflejando más la calidad de las aguas que la de los sedimentos en cada una de las localidades.

Rainbow y Phillips (1993), sugieren que los diversos mecanismos para la acumulación de metales de los invertebrados marinos se podrían distinguir en dos

categorías principales: regulación y acumulación neta. La regulación es la capacidad de los invertebrados para regular en el cuerpo las concentraciones de determinados metales traza a un nivel aproximadamente constante en un amplio intervalo de disponibilidad del metal en el ambiente. La acumulación neta se produce cuando los invertebrados no son capaces de igualar las tasas de excreción de metales con las tasas de captación.

Es posible que en sitios más impactados, como la Bahía de Bergantín, los organismos presentes en éstos, como las esponjas, han desarrollado resistencia a este tipo de presiones antrópicas para mantenerse en el medio, lo que llevaría a una mayor capacidad de extrusión de ciertos elementos y xenobióticos críticos. Esto puede indicar y dar información mucho más certera, en comparación a los sedimentos, sobre los posibles contaminantes que pueden presentarse constantemente en el medio marino. Así mismo, las diferencias de las concentraciones de metales a nivel inter-específico pueden deberse a diversas características de estos organismos. Cebrian y col. (2007), sugieren que las diferencias en la acumulación de cobre (Cu) entre las especies de estudio pueden ser producto de las diferencias en las tasas de limpieza (clearance rates) y del volumen relativo de los sistemas acuíferos de cada especie. La concentración de este elemento en nuestro estudio en la especie *N. erecta* es mayor en ambas localidades. En cuanto a las concentraciones de plomo, Garrone y Pottu (1973) indican que la densidad de fibras de esponjina podría determinar la capacidad de captación de este elemento, debido a que los metales tienden a ser asimilados en mayor concentración en este tipo de fibras proteicas que en los tejidos celulares. En este caso dicho metal es también acumulado en mayor concentración para ambos sitios por la especie *N. erecta*. Respecto al níquel, Aguilar y col. (2010) indican que las altas concentraciones del mismo pueden estar asociadas con los altos niveles de hierro y moderadamente con altos niveles de silicio. Este último está relacionado con la densidad de las estructuras esqueléticas (espículas) de las esponjas. Así, la especie *N. erecta* presenta mayores valores para ambos sitios de este elemento. En contra parte Maia y col. (2010) determinaron metales pesados (Cr, Ni, Co, Cu, Zn, Cd, Hg y Pb) en 3 especies de esponjas (*Amphimedon viridis*,

Aplysina fulva, *Desmapsama anchorata*) en las costas brasileras y al hacer análisis en las espículas solo consiguen silicio y oxígeno. Por su parte, Padovan y col. (2010) indican que se han detectado cianobacterias asociadas a una de las especies de esponjas en el estudio (*Halichondria phakelloides*) que requieren molibdeno (Mo) para la fijación de nitrógeno, esto explica las altas concentraciones (100 veces mayores que para las otras especies de estudio) de este metal en esta especie. Por lo tanto las asociaciones con bacterias también podrían determinar mayores contenidos de metales en los tejidos de las esponjas.

Para las dos especies de este estudio, hasta la fecha, no se han desarrollado investigaciones acerca de las características nombradas anteriormente; sin embargo, todos los aspectos nombrados anteriormente son posibles variables que podrían explicar las diferencias inter-específicas en la acumulación de metales.

Este estudio nos permite indicar que las dos especies de esponjas (*N. erecta* y *A. viridis*) pueden considerarse como organismos bioacumuladores de los metales estudiados (Tabla 16), ya que se evidencian concentraciones de estos elementos en sus tejidos. Sin embargo, es necesario ampliar aspectos biológicos, como los nombrados anteriormente, y llevar a cabo estudios temporales para poder determinar si éstas son idóneas para reflejar contaminación por metales traza en los medios que se desarrollan y por tanto puedan catalogarse como especies biomonitoras y posiblemente puedan incorporarse en estudios de evaluación ambiental.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación permiten plantear:

- De los resultados obtenidos en el presente estudio (muestreo puntual) se evidencia una baja contaminación por los metales pesados considerados en en ambos sitios comparados con estudios previos y con los estándares internacionales.
- Las determinaciones de las concentraciones de los metales en los sedimentos indican que el Parque Nacional Archipiélago de Los Roques se encuentran más enriquecido de Pb, Cr y Cu que la Bahía de Bergantín. Mientras que para el resto de los metales pesados no se observaron diferencias significativas. Es posible que a pesar de que la Bahía de Bergantín reciba mayores aportes de metales trazas provenientes de las actividades antrópicas, los mismos sean diluidos y transportados rápidamente por las corrientes marinas. Adicionalmente, los sedimentos podrían tener menor capacidad de retención de estos metales.
- Existe bioacumulación de los metales en las dos especies de esponjas, *N. erecta* y *A. viridis*, que se correlaciona semi-cuantitativamente con los niveles de los elementos presentes en los sedimentos, en particular, para los metales cobre y el níquel.
- Los metales pesados estudiados se acumularon diferencialmente en las dos especies de esponjas. Así, *N. erecta* acumuló mayores concentraciones de Pb, Ni, y Cu, mientras que *A. viridis* acumuló en mayor magnitud Cd y Cr
- En promedio el metal que fue acumulado en mayor concentración para las dos especies de esponjas en ambas localidades fue el cobre (Cu). Este metal es relativamente el más abundante de los elementos estudiados en los sedimentos, aunque no se descarta la existencia de mecanismos específicos de incorporación del metal en estas especies de esponjas.

- No se determinaron correlaciones cuantitativas estrictas entre las concentraciones de metales biodisponibles en los sedimentos de las localidades y las concentraciones de los mismos en las esponjas.
- Las limitaciones metodológicas (en la determinación de metales en aguas y diversas metodologías utilizadas para las determinaciones en los sedimentos) y las importantes diferencias en su aplicación en el desarrollo de esta línea de investigación, dificultan las comparaciones entre los resultados de este trabajo y los estudios previos.

RECOMENDACIONES

Con base al análisis de los resultados obtenidos, se presentan a continuación las siguientes recomendaciones:

Investigaciones con muestreos espacio-temporales de las esponjas, y sedimentos podrán indicar, a través de análisis de correlaciones, cual sería la posible tasa de incorporación del metal en respuesta a la posible exposición de estos organismos.

A pesar de que las concentraciones de metales en las aguas marinas son muy bajas o indetectables, los análisis de agua es otro elemento que debe ser incorporado en este tipo de estudios tomando en cuenta que el carácter filtrador de estos organismos.

Es necesario la realización y ampliación de estudios de la biología de esponjas, en especial de las especies estudiadas, *Niphates erecta* y *Amphimedon viridis*; características como: a) El volumen de las tasas de filtración; b) Capacidad de las cámaras de coanocitos; c) La tasa de limpieza o depuración de agentes exógenos; d) La densidad de elementos esqueléticos tanto proteicos (espongina) como calcáreos o silíceos (espículas); e) Las posibles asociaciones con cyanobacterias; y f) Las descripciones fisiológicas. Todos estos aspectos aportarían información esencial para el análisis de las posibles diferencias en la bioacumulación de éstos metales en estos poríferos.

Así mismo, compartimos con Rainbow y Phillips (1993) la necesidad de futuros trabajos sobre varias especies de organismos marinos y su potencial como biomonitores, esto incluye la producción de taxonomía con claves que sirvan para la correcta identificación de las especies; y adicionalmente son necesarios estudios sobre la cinética de la bioacumulación de metales.

Las concentraciones de metales pesados fueron expresadas en micro gramos de peso seco de la materia de cada organismo, sin embargo es importante que estos análisis retornen a las expresiones de peso húmedo que es como se presentan estas concentraciones en las esponjas en el medio natural, de esta forma se podrán considerar los factores de dilución al transformar la data al estado original, y podrán observarse, analizar y concluir con mayor certeza el contenido de estos elementos en estos poríferos.

Por último consideramos que habrán de realizarse nuevos muestreos y determinaciones de metales en los sedimentos para el P.N. Archipiélago Los Roques de manera de profundizar en el análisis de los datos presentados en esta investigación.

REFLEXIONES

La importancia del cambio y renovación en los planteamientos de los estudios ecológicos. Con esto se quiere hacer referencia a la necesidad de ampliar el desarrollo de investigaciones multidisciplinarias, donde se incluyan una visión amplia de nuestros medios naturales en relación con las intervenciones antrópicas. Esto permitirá una mayor capacidad de comprensión de los diversos elementos de lo que representa el medio como unidad bio-socio-cultural. Así se podrá avanzar, a su vez, en análisis mucho más acertados y cercanos a estas realidades. Si la ecología es una ciencia que demanda la integración de diversos conocimientos provenientes de distintos campos disciplinarios, entonces para la comprensión de unidades de estudio ecológico tan complejas como los ecosistemas, es imprescindible su interpretación mediante una visión holística.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA, AWWA, WEF. 1992. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 18th edición. Washington, DC. Estados Unidos de América.

Aguilar P., Medeiros J., Costa AC., Humanes M. & Barreto MC. 2010. Distribution of Niquel in the tissue of *Cliona viridis* from the coast of Sao Miguel (Azores). Organism and cell Biology. Libro de resúmenes. VIII World Sponge Conference. 129

Baird C. 2000. Environmental Chemistry. Second edition. Library of Congress Cataloging-in. Publication Data. United States of America.

Bastidas C., García E. 1997. Metal concentration in the tissue and skeleton of the coral *Montastraea annularis* at Venezuelan Reef. Departamento de Biología de Organismos, Universidad Simón Bolívar. Venezuela.

Belzile N., Lecomte PY. & Tessier A. 1989. Testing readsorption of trace metals during partial chemical extractions of bottom sediments. *Environmental Science Technology*. **23**: 1015-1020

Bonilla J., Cedeño G. & Gamboa B. 1986. Características químicas de sedimentos de la bahía de Pozuelos y áreas Adyacentes, Edo. Anzoátegui, Venezuela. *Bol. Instituto Oceanográfica de Venezuela, UDO*, **25**: 215-231

Bowen V. & T. Sutton D. 1951. Comparative studies of mineral constituents of marine sponges. *J. Mar. Res.* **10**: 153-167

Casanova E. 1996. Introducción a la Ciencia del suelo. Universidad Central de Venezuela Consejo de Desarrollo Científico y humanístico. Caracas – Venezuela.

Cebrian E. 2008. Ecotoxicology of heavy metals in marine sponges: Different and contrasting effects of heavy metals on different biological levels. *Environmental Research Journal*. **2**: 2-21

Cebrian E. & Pérez T. 2006. Overview on sponges for studying environmental perturbations. Libro de Resúmenes, 7th International Sponge Symposium–Ecology. Brazil. 106

Cebrian E., Martí R., Uriz J.M. & Turón, X. 2003. Sublethal effects of contamination on the Mediterranean sponge *Crambe Crambe*. Metal accumulation and biological responses. *Marine Pollution Bulletin* **46**: 1273-1284.

Cebrian E., Uriz, M. & Turón, X. 2007. Sponges as biomonitoring of heavy metals in spatial and temporal surveys in northwestern mediterranean: multispecies comparison. *Environmental toxicology and chemistry*, vol 26, **11**: 2430-2439.

García P., Ballesteros M., Turón X., Palacín C., Salvadó, H. 2008. Practiques d'invertebrats, tercer curso. Guía de prácticas. Departamento de Biología Animal, Facultad de Biología, Universidad de Barcelona. España.

Garrone R., Pottu J. 1973. Collagen biosynthesis in sponges: Elaboration of spongin by spongocytes. *J Submicrosc Cytol* **5**: 199– 218.

OPS. *Guías para la calidad del agua potable*. 1987. Criterios relativos a la salud y otra información de base. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. Washington, DE. **2**. publicación científica N°506.

Hickman, R. 1994. Zoología. Editorial Interamericana MacGraw-Hill. Novena edición, Madrid, España.

Ilan M., Gugel J. & Van Soest R. 2004. Taxonomy, reproduction and ecology of new and known Red Sea sponges. *Sarsia* **89**: 388-410.

Ilan M. & Loya Y. 1988. Reproduction and Settlement of the coral reef sponge *Niphates* sp. (red sea). Proceedings of the 6th International Coral Reef Symposium, Australia. **2**

Juárez P., Lugo J. & Vaca R. 2005. Determinación de factores de enriquecimiento y geoacumulación de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn en suelos de la cuenca alta del río Lerma, *Ciencias Ergo Sum*.**12**: 155-161

Kaiser M., Attrill M., Jennings S., Thomas D., Barnes D., Brierley A., Polunin N., Raffaelli D y Williams., P. 2005. *Marine Ecology. Processes, systems and impacts*. Oxford university press. New York-United States.

Martínez G., Rodríguez L. & Senior W. 2002. Especiación de Cd, Zn, Cr y Pb en núcleos de sedimento de la Bahía de Beragantín, Estado Anzoátegui, Venezuela. *Interciencia*. **27**.

Maia G., Moura F., Santelli R. & Coutinho C. 2010. Evaluation of the biomonitoring potential Brazilian sponges. Ecology. Libro de resúmenes. VIII World Sponge conference. 260

Méndez Baamonde, J. 1978. Archipiélago Los Roques/Islas de Aves. Cuadernos Lagoven. 48

Milton S. 2001. Estadística para biología y ciencias de la salud. Editorial McGraw Hill – Interamericana. 3ra Edición. Madrid – España. 370 - 380

Olesen T.M.E. & Weeks J.M. 1994. Accumulation of Cd by the marnie sponge *Halichondria panicea* Pallas: effects upon filtration rate and its relevance for biomonitoring. Instituto de Biología, Universidad de Odense. Odense, Dinamarca.

Paez-Osuna F., Izaguirre-Fierro, G. Godoy-Meza, R. Gonzalez-Farias F. & Osuna-Lopez J. 1988. Metales pesados en cuatro especies de organismos filtradores de la región costera de Mazatlan: Técnicas de extracción y niveles de concentración. Contam. Ambient. **4**: 33-41.

Padovan A., Alvarez B., Parry D. & Gibb K. 2010. Elevated metals in tropical sponges, *Halichondria phakelloides* and *Spherospongiae vaganbunda*, in Darwin Harbour, northern Australia. Ecology. Libro de resúmenes. VIII World Sponge conference. España. 281

Palanques A., Díaz JI. 1990. Contaminación de metales pesados en los sedimentos superficiales de la plataforma continental de Barcelona (Mediterráneo Noroccidental). Rev. Soc.Geol. España **3**: 357-371

PDVSA. 2000. Evaluación Ambiental del Medio Marino Costero en el Área de influencia del complejo industrial de Jose. Tomo I: Línea Base Ambiental. Venezuela.

PDVSA INTEVEP. 2003 Estudio ambiental del golfete de Coro con miras a identificar las posibles causas de la reducción pesquera. Informe técnico. Venezuela.

PEQUIVEN – USB. 1991. Línea Base de Referencia Biológica en el Ambiente Marino Costero del área de Golfo Triste. Informe final.

Phillips DJH. & Rainbow PS. 1994. *Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants*, 2nd ed. Chapman & Hall, London, UK.

Rainbow PS. 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Mar Pollution Bulle* **31**:183–19.

Rainbow PS. & Phillips DJH. 1993. Cosmopolitan biomonitors of trace metals. *Mar Pollut Bull* **26**: 593–601.

Rainbow PS., Phillips DJ. & Depledge MH. 1990. The significance of trace metal concentrations in marine invertebrates. A need for laboratory investigation of accumulation strategies. *Mar Pollut Bull* **21**: 321–324

Rubio R., López-Sánchez JF. & Rauret G. 1991. La especiación sólida de trazas de metales en sedimentos. Aplicación a sedimentos muy contaminados. *Anales de Química* **87**: 599- 605

Rosenberg R., Blomqvist M., Nilsson HC., Cederwall H. & Dimming A. 2004. Marine quality assessment by use of benthic species abundance distributions: A proposed new protocol within the European Union Water Framework Directive. *Mar Pollut Bull* **49**: 728–739.

Savarese M., Patterson M., Chernykh V. & Fialkov V. 1997. *Trophic effects of sponges feeding within lake Baikal's littoral zone. 1. In situ pumping rates.* *Limnology and Oceanography*. **42**: 1, 171-178

Sidney, S. & Castellan, J. 2001. Estadística no paramétrica, aplicada a ciencias de la conducta. Editorial Trillas. México. 240-251

Simpson, T. 1984. The cell Biology of Sponges. Editorial Springer-Verlag. Primera edición. New York, Estados Unidos.

Sutherland R. A. 2002. Determination of Al, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn in certified reference materials. *Journal Environmental Monitoring*. **1**: 57-61

Villamizar, E., Díaz C. & Pérez J. 2008. Informe Primer Año del Proyecto “Evaluación y Monitoreo de enfermedades/síndromes de las comunidades de esponjas en algunos arrecifes del Parque Nacional Archipiélago de Los Roques”. Universidad Central de Venezuela. 10 pags.

Wayne, D. 2002. Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial LIMUSA. Cuarta edición, D.F. México.

Wanick R., Maia G., Vilanova E., Vieira R., Martins A., da Silveira LF., Santelli R. & Coutinho C. 2010. Growth and cadmium stress in a cultivable species of

Haliclona. Ecology. Libro de resúmenes. VIII World Sponge conference. Girona – España. 281

Zar, J. 1996. Biostatistical Analysis. Editorial Upper Saddle River, N, J.: Prentice-Hall. New Jersey – Estados Unidos. 273-280

CONSULTA EN LÍNEA

- http://www.inparques.gob.ve/index.php?parques=view&codigo=pn_0009&sec=2 , [Consulta: 21 de agosto de 2009]
- <http://www.geocities.com/guayolosroques/maparoques.jpg> [Consulta: 29 de agosto 2009]
- <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/f/f3/Mapa-politico-venezuela.png/778px-Mapa-politico-venezuela.png> [Consulta: 27 de agosto de 2009]
- <http://www.colegiosaofrancisco.com.br/alfa/filo-porifera/imagens/filo-porifera-43.jpg> [Consulta: 21 de septiembre de 2009]
- <http://www.marinespecies.org/porifera/index.php> [Consulta: 10 de Octubre de 2009]
- <http://www.marinespecies.org/porifera/porifera.php?p=taxdetails&id=166232> [Consulta: 18 de Octubre de 2009]
- <http://www.marinespecies.org/porifera/porifera.php?p=taxdetails&id=165702> [Consulta: 18 de Octubre de 2009]

ANEXOS

Tabla 17.- Límites de detección de la técnica analítica empleada.

	Esponjas	Sedimentos	
Elemento	LODm (ug g⁻¹)	LODm (ug g⁻¹)	%Ri
Pb	0,09	0,07	114
Cd	0,003	0,002	100
Ni	0,07	0,06	88
Cr	0,01	0,01	98
Cu	0,02	0,02	92

Esponjas

Tablas de análisis de varianza de dos factores con réplica, para determinar diferencias en las concentraciones ($\mu\text{g/g}$ peso seco) de Ni, Cr, Cu entre las dos especies de esponjas (*Niphates erecta*, *Amphimendon viridis*) y ambas localidades de estudio (P.N. Archipiélago de Los Roques y Bahía de Bergantín); prueba post-hoc test de Tukey para las comparación de medias.

Tabla 18.- ANOVA dos factores con réplicas, para níquel (Ni) ($\alpha=0,05$).

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	8,803770	1	8,803770	644,5869	0,000000
Especies	1,363918	1	1,363918	99,8621	0,000000
Localidad	0,752926	1	0,752926	55,1271	0,000001
Sp * Loc	0,981560	1	0,981560	71,8670	0,000000
Error	0,218528	16	0,013658		

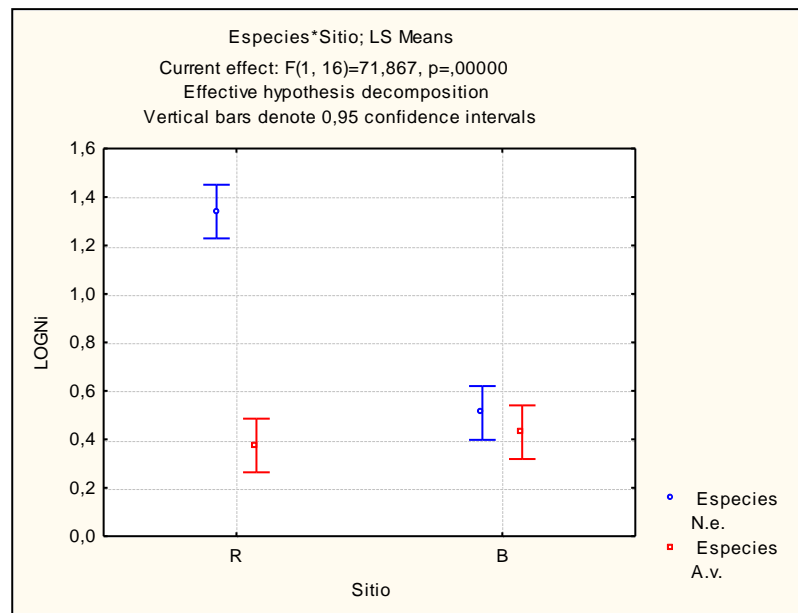


Tabla 19.- Post – hoc, Test Tukey para níquel.

	Especies	Sitio	N.e. R	N.e. B	A.v. R	A.v. B
1	N.e.	R		0,000185	0,000185	0,000185
2	N.e.	B	0,000185		0,302127	0,711055
3	A.v.	R	0,000185	0,302127		0,877788
4	A.v.	B	0,000185	0,711055	0,877788	

Tabla 20.- ANOVA dos factores con réplicas para cromo (Cr), ($\alpha=0,05$).

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	2,397544	1	2,397544	718,1427	0,000000
Especies	0,000300	1	0,000300	0,0899	0,768114
Localidad	0,761932	1	0,761932	228,2234	0,000000
Sp * Loc	0,022284	1	0,022284	6,6748	0,019997
Error	0,053417	16	0,003339		

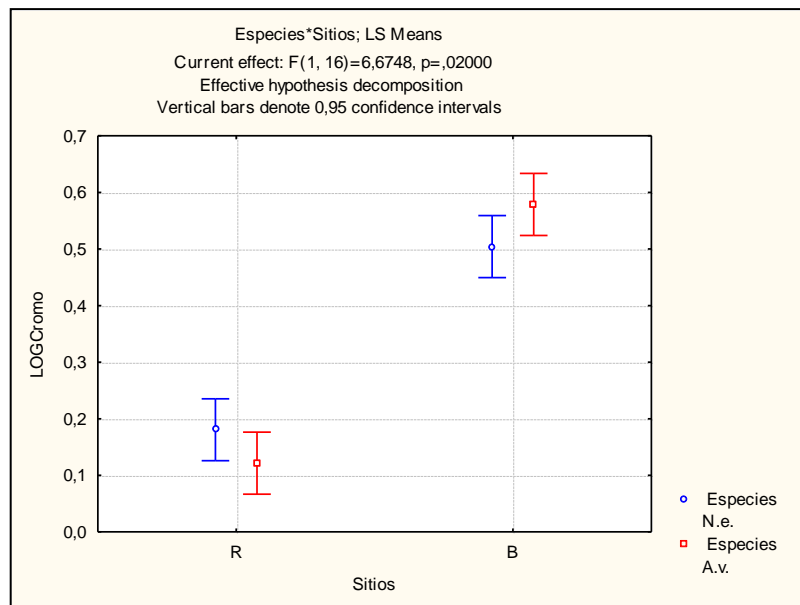


Tabla 21.- Prueba Post-hoc (Test Tukey) cromo.

	Especies	Sitios	N.e. R	N.e. B	A.v. R	A.v. B
1	N.e.	R		0,000186	0,398639	0,000185
2	N.e.	B	0,000186		0,000185	0,215349

3	A.v.	R	0,398639	0,000185		0,000185
4	A.v.	B	0,000185	0,215349	0,000185	

Tabla 22.- ANOVA dos factores con réplicas para cobre (Cu), ($\alpha=0,05$).

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	23,34496	1	23,34496	2185,895	0,000000
Especies	0,08535	1	0,08535	7,991	0,012148
Localidad	0,08640	1	0,08640	8,090	0,011720
Sp * Loc	0,07900	1	0,07900	7,397	0,015147
Error	0,17088	16	0,01068		

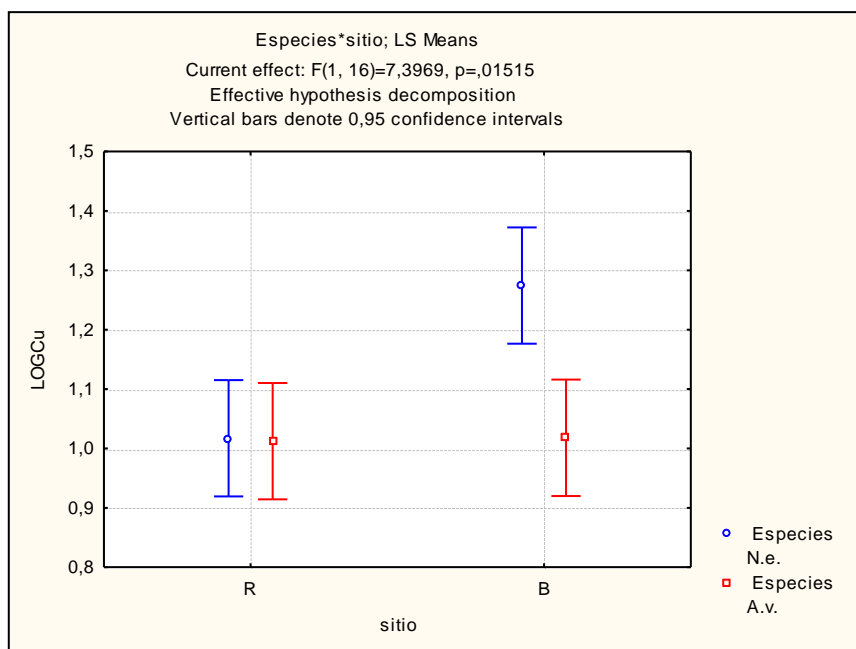


Tabla 23.- Prueba Post-hoc (Test Tukey) cobre.

	Especies	sitio	N.e. R	N.e. B	A.v. R	A.v. B
1	N.e.	R		0,005970	0,999851	0,999999
2	N.e.	B	0,005970		0,005137	0,006117
3	A.v.	R	0,999851	0,005137		0,999767
4	A.v.	B	0,999999	0,006117	0,999767	

Tabla 24.- Estadística no paramétrica, prueba Kruskal-Wallis análisis unifactorial, para plomo, por especies.

Prueba K-W por especies (Pb)

Median Test, Overall Median = ,211328; LOGPb (Datos Pb)

Independent (grouping) variable: Especies

Chi-Square = ,800000, df = 1, p = ,3711

Pb	N.e.	A.v.	Total
<= Median: observed	4,00000	6,00000	10,00000
expected	5,00000	5,00000	
obs.-exp.	-1,00000	1,00000	
> Median: observed	6,00000	4,00000	10,00000
expected	5,00000	5,00000	
obs.-exp.	1,00000	-1,00000	
Total: observed	10,00000	10,00000	20,00000

Tabla 25.- Estadística no paramétrica, prueba Kruskal-Wallis análisis unifactorial, para plomo, por localidad.

Prueba K-W por sitios (Pb)

Median Test, Overall Median = ,211328; LOGPb (Datos Pb)

Independent (grouping) variable: Sitio

Chi-Square = 12,80000, df = 1, p = ,0003

Pb	R	B	Total
<= Median: observed	9,00000	1,00000	10,00000
expected	5,00000	5,00000	
obs.-exp.	4,00000	-4,00000	
> Median: observed	1,00000	9,00000	10,00000
expected	5,00000	5,00000	
obs.-exp.	-4,00000	4,00000	

Total: observed	10,00000	10,00000	20,00000
------------------------	----------	----------	----------

Tabla **26.-** Estadística no paramétrica, prueba Kruskal-Wallis análisis unifactorial, para cadmio, por especies.

Prueba K-W por especies (Cd)

Median Test, Overall Median = ,262154; LOGCd (Datos Cd)

Independent (grouping) variable: Especies

Chi-Square = 3,200000, df = 1, p = ,0736

Cd	N.e.	A.v.	Total
<= Median: observed	7,00000	3,00000	10,00000
expected	5,00000	5,00000	
obs.-exp.	2,00000	-2,00000	
> Median: observed	3,00000	7,00000	10,00000
expected	5,00000	5,00000	
obs.-exp.	-2,00000	2,00000	
Total: observed	10,00000	10,00000	20,00000

Tabla **27.-** Estadística no paramétrica, prueba Kruskal-Wallis análisis unifactorial, para cadmio, por localidad

Prueba K-W por sitios (Cd)

Median Test, Overall Median = ,262154; LOGCd (Datos Cd)

Independent (grouping) variable: Sitio

Chi-Square = 7,200000, df = 1, p = ,0073

Cd	R	B	Total
<= Median: observed	2,00000	8,00000	10,00000
expected	5,00000	5,00000	
obs.-exp.	-3,00000	3,00000	
> Median: observed	8,00000	2,00000	10,00000
expected	5,00000	5,00000	
obs.-exp.	3,00000	-3,00000	

Total: observed	10,00000	10,00000	20,00000
------------------------	----------	----------	----------

Sedimentos

Tablas 28, 29, 30.- Análisis de varianza de una vía, para determinar diferencias en la concentración ($\mu\text{g/g}$ peso seco) de Pb, Cd, Ni, Cr, Cu en los sedimentos de ambas localidades de estudio (P.N. Archipiélago de Los Roques y Bahía de Bergantín), etapa 1 etapa 2 y sumatoria etapa 1 y 2 (total de metales biodisponibles).

28.- Etapa 1

Análisis de varianza de un factor		para Pb Roques Vs Bergantín					
RESUMEN							
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>			
Columna 1	5	0.047	0.0094	0.000270			
Columna 2	5	0.028	0.0056	0.000156			
ANÁLISIS DE VARIANZA							
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>	
Entre grupos	3.61E-05	1	3.61E-05	0.1688	0.6919	5.3176	
Dentro de los grupos	0.0017104	8	0.0002138				
Total	0.0017465	9					

Análisis de varianza de un factor		para Cd Roques Vs Bergantín					
RESUMEN							
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>			
Columna 1	4	0.009	0.00225	4.9167E-06			
Columna 2	4	0.052	0.013	0.000022			
ANÁLISIS DE VARIANZA							
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>	

Entre grupos	0.000231	1	0.000231125	17.1734	0.0060	5.9874
Dentro de los grupos	8.075E-05	6	1.34583E-05			
Total	0.000311875	7				

Análisis de varianza de un factor		para Ni Roques Vs Bergantín				
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Columna 1	4	3.784	0.946	0.231767		
Columna 2	4	5.898	1.4745	0.344699		
ANÁLISIS DE		VARIANZA				
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.558624	1	0.5586245	1.938	0.2133	5.9873
Dentro de los grupos	1.729401	6	0.2882335			
Total	2.288025	7				

Análisis de varianza de un factor		Para Cu Roques Vs Bergantín				
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Columna 1	4	2.355	0.58875	1.128572		
Columna 2	4	0.042	0.0105	0.000339		
ANÁLISIS DE		VARIANZA				
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.6687	1	0.668746125	1.1847	0.3182	5.9874
Dentro de los grupos	3.3867	6	0.564456292			
Total	4.0554	7				

29-. Etapa 2

Análisis de varianza de un factor		para Pb Roques Vs		Bergantín			
RESUMEN							
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza			
Columna 1	5	2.262825	0.452565	0.0133416			
Columna 2	5	0	0	0			
ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre grupos	0.512037698	1	0.5120376	76.7578	2.25731E-05	5.3176	
Dentro de los grupos	0.053366551	8	0.0066708				
Total	0.565404249	9					

Análisis de varianza de un factor		para Cd Roques Vs		Bergantín			
RESUMEN							
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza			
Columna 1	5	0.0605325	0.0121065	1.0674E-05			
Columna 2	5	0.0228	0.00456	5.0186E-06			
ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre grupos	0.000142374	1	0.000142374	18.1451	0.0027	5.3176	
Dentro de los grupos	6.27712E-05	8	7.8464E-06				
Total	0.000205145	9					

Análisis de varianza de un factor		para Ni Roques Vs		Bergantín			
RESUMEN							
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza			
Columna 1	5	8.795379173	1.75907583	0.4767784			
Columna 2	5	10.39904255	2.07980851	1.3727188			

ANÁLISIS		DE		VARIANZA				
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>		
Entre grupos	0.257173623	1	0.257173623	0.2781	0.6122	5.3176		
Dentro de los grupos	7.397988957	8	0.924748					
Total	7.65516258	9						

Análisis de varianza de un factor		para Cr Roques		Vs Bergantín			
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>			
Columna 1	5	6.369266646	1.2738533	0.6950239			
Columna 2	5	0.5558	0.11116	0.0007280			
ANÁLISIS		DE		VARIANZA			
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>	
Entre grupos	3.379639445	1	3.379639	9.7151	0.0143	5.3176	
Dentro de los grupos	2.783008116	8	0.3478760				
Total	6.162647561	9					

Análisis de varianza de un factor		para Cu Roques		Vs Bergantín			
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>			
Columna 1	5	22.85394288	4.5707885	7.8025576			
Columna 2	5	1.477425	0.295485	0.1210613			
ANÁLISIS		DE		VARIANZA			
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>	
Entre grupos	45.69555167	1	45.69555	11.534	0.0094	5.3176	
Dentro de los grupos	31.69447569	8	3.961809				
Total	77.39002736	9					

30.- Sumatoria , total de metales biodisponibles.

Análisis de varianza de un		factor para Pb	Roques Vs	Bergantín		
RESUMEN						
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>		
Columna 1	5	2.31029555	0.46205911	0.015435		
Columna 2	5	0.028295769	0.00565915	0.000160		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.5207523	1	0.5207523	66.7836	3.74523E-05	5.317644991
Dentro de los grupos	0.0623808	8	0.00779760			
Total	0.58313316					

Análisis de varianza de un		factor para Cd	Roques Vs	Bergantín		
RESUMEN						
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>		
Columna 1	5	0.070602554	0.01412051	1.82E-05		
Columna 2	5	0.084279649	0.01685593	8.49E-06		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1.870E-05	1	1.8706E-05	1.3965	0.27124	5.3176
Dentro de los grupos	0.0001071	8	1.3395E-05			
Total	0.0001258	9				

Análisis de varianza de un		factor para Ni	Roques Vs	Bergantín		
RESUMEN						
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>		
Columna 1	5	13.93908723	2.78781744	0.824906		
Columna 2	5	18.98621791	3.79724358	1.978547		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	2.5473528	1	2.54735281	1.8172	0.2145	5.3176
Dentro de los grupos	11.213814	8	1.40172676			
Total	13.761166	9				

Análisis de varianza de un		factor para Cr	Roques Vs	Bergantín		
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Columna 1	5	6.369266646	1.27385332	0.695023		
Columna 2	5	0.5558	0.11116	0.0007280 7		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3.3796394	1	3.37963944	9.715068	0.01429	5.3176
Dentro de los grupos	2.7830081	8	0.34787601			
Total	6.1626475	9				

Análisis de varianza de un		factor para Cu	Roques Vs	Bergantín		
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Columna 1	5	25.20889405	5.04177881	13.139745 4		
Columna 2	5	1.706747834	0.341349567	0.1006074		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	55.235087	1	55.2350876	8.343446	0.0202	5.3176
Dentro de los grupos	52.961411	8	6.62017639			
Total	108.19649	9				

Granulometría

Tabla 31.- Prueba t, para cada una de las fracciones granulométricas.

Fracción 1, - < 44 μ		
Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales		
	Variable 1	Variable 2
Media	1.0025	2.55
Varianza	2.641425	7.138266667
Observaciones	4	4
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	0.9896875	

P(T<=t) una cola	0.18388588
Valor crítico de t (una cola)	2.01504918
P(T<=t) dos colas	0.36777177
Valor crítico de t (dos colas)	2.57057764

Fracción 2, 45-124 μ		
Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	1.36	1.955
Varianza	1.8018	2.936966667
Observaciones	4	4
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	0.5466562	
P(T<=t) una cola	0.30216669	
Valor crítico de t (una cola)	1.94318091	
P(T<=t) dos colas	0.60433339	
Valor crítico de t (dos colas)	2.44691364	

Fracción 3, 125-179 μ		
Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	3.615	5.7825
Varianza	1.2587	9.310558333
Observaciones	4	4
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	1.3334196	
P(T<=t) una cola	0.12663119	
Valor crítico de t (una cola)	2.13184649	
P(T<=t) dos colas	0.25326239	
Valor crítico de t (dos colas)	2.77645086	

Fracción 4, 180 - 211 μ		
Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	3.8575	5.775
Varianza	0.109825	1.303766667
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	0.70679583	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	3.225547*	
P(T<=t) una cola	0.00900553	
Valor crítico de t (una cola)	1.94318091	
P(T<=t) dos colas	0.01801105	

Valor crítico de t (dos colas) 2.44691364

Fracción 5, 212 - 424 μ

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	27.47	32.4375
Varianza	53.7978	14.32935833
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	34.0635792	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	1.2036708	
P(T<=t) una cola	0.13702322	
Valor crítico de t (una cola)	1.94318091	
P(T<=t) dos colas	0.27404644	
Valor crítico de t (dos colas)	2.44691364	

Fracción 6, 425 - 499 μ

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	8.5	7.1475
Varianza	2.49846667	0.394358333
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	1.4464125	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	1.59039935	
P(T<=t) una cola	0.0814241	
Valor crítico de t (una cola)	1.94318091	
P(T<=t) dos colas	0.16284821	
Valor crítico de t (dos colas)	2.44691364	

Fracción 7, 500 - 1300 μ

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	38.7775	36.465
Varianza	6.13749167	8.7259
Observaciones	4	4
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	1.19964508	
P(T<=t) una cola	0.13774758	
Valor crítico de t (una cola)	1.94318091	
P(T<=t) dos colas	0.27549515	
Valor crítico de t (dos colas)	2.44691364	

Fracción 8, 1400 - 1900 μ		
Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales		
	Variable 1	Variable 2
Media	7.2475	5.96
Varianza	1.37229167	3.080866667
Observaciones	4	4
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	1.22023412	
P(T<=t) una cola	0.13839124	
Valor crítico de t (una cola)	2.01504918	
P(T<=t) dos colas	0.27678248	
Valor crítico de t (dos colas)	2.57057764	

Fracción 9, 2000 > + μ		
Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales		
	Variable 1	Variable 2
Media	7.0375	2.145
Varianza	31.927225	0.701633333
Observaciones	4	4
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	3	
Estadístico t	1.71300997	
P(T<=t) una cola	0.09261406	
Valor crítico de t (una cola)	2.35336302	
P(T<=t) dos colas	0.18522812	
Valor crítico de t (dos colas)	3.18244929	

* Diferencias significativas entre grupo.

Tabla 32.- Análisis de varianza de un factor para determinar diferencias significativas entre las medias de la materia orgánica total (MOT).

Análisis de varianza de un factor						
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Columna 1	3	5.99	1.9966667	0.0006		
Columna 2	3	5.83	1.9433333	0.0741		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00426666	1	0.0042667	0.1141	0.7524	7.7086
Dentro de los grupos	0.14953333	4	0.0373833			

Total	0.1538	5
-------	--------	---
