UNIVERSIDAD DE ORIENTE - CUMANA, VENEZUELA / VOLUMEN 36 / 1 Y 2 - 1997



BOLETIN DEL INSTITUTO OCEANOGRAFICO DE VENEZUELA

INSTITUTO OCEANOGRAFICO DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE ORIENTE

BOLETIN DEL INSTITUTO OCEANOGRAFICO DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE ORIENTE

CUMANA VENEZUELA

JUNTA EDITORIAL

BERTA PARRA (Presidente)
JULIO PÉREZ (1er. Vocal)
WILLIAM SENIOR (2do. Vocal)
JEREMY MENDOZA (3er. Vocal)
ISIDRA RAMÍREZ (4to. Vocal)
ILDEFONSO LIÑERO (5to. Vocal)
JUAN PABLO BLANCO (Secretario)

PUBLICACIONES DEL INSTITUTO OCEANOGRAFICO

BOLETIN DEL INSTITUTO OCEANOGRAFICO DE VENEZUELA

JUAN PABLO BLANCO RAMBLA, *Editor*
Isidra Ramírez, *Editor Asistente*

BOLETIN BIBLIOGRAFICO
FRANCISCO PINTO, Editor

DIRECTIVOS DEL INSTITUTO OCEANOGRAFICO DE VENEZUELA

ILDEFONSO LIÑERO
Director

WILLIAM SENIOR
Jefe del Departamento de Oceanografía Química

BERTA PARRA
Jefe del Departamento de Biología Pesquera

MAYRE JIMÉNEZ P.
Jefe del Departamento de Biología Marina

KYUNG SUK CHUNG
Coordinador de Postgrado

La Universidad de Oriente fue creada por el Decreto N° 459 del 21 de noviembre de 1958, con el Instituto Oceanográfico de Venezuela como su núcleo inicial. Las actividades del Instituto Oceanográfico comenzaron el 12 de octubre de 1959, en la ciudad de Cumaná, y han continuado ininterrumpidamente desde entonces.

El BOLETIN DEL INSTITUTO OCEANOGRAFICO DE VENEZUELA comenzó a ser publicado semestralmente en 1961. En 1962 no se publicó. A partir del volumen 8, la portada, el formato y las normas editoriales del BOLETIN fueron modificadas. La Biblioteca del Instituto Oceanográfico publica anualmente el BOLETIN BIBLIOGRAFICO en el cual se compila el material de referencia ingresado a esa dependencia.

Para información sobre la adquisición de suscripción y canje, favor dirigirse a:

Biblioteca
Instituto Oceanográfico
Apartado Postal 245
Cumaná, venezuela

El precio de las publicaciones del Instituto Oceanográfico es el siguiente:

Revista	En Venezuela	En el Exterior
BOLETIN (volumen)	Bs. 3.500,oo	$ 15.00
BOLETIN BIBLIOGRAFICO	Bs. 350,oo	$ 1.50

Los cheques deben ser emitidos a nombre del
INSTITUTO OCEANOGRAFICO
DE VENEZUELA

ISSN 0020-417X

Depósito Legal LF 84.3524

BOLETIN DEL INSTITUTO OCEANOGRAFICO DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE ORIENTE

Vol. 36 (nros. 1&2) 1997

CONTENIDO Página

SALAZAR-LUGO, R., O. NUSETTI & J. RODRIGUEZ-GRAU. Efecto del cobre sobre los mecanismos de defensa celular del poliqueto *Eurythoe complanata:* Viabilidad, contaje total de células y respuesta fagocítica. 3

BLANCO-RAMBLA, J. P. Primer reporte de *Callichirus major* (Say) (Decapoda: Thalassinidea) para aguas venezolanas. 7

DÍAZ, O. & C Mendoza. Disponibilidad diurna y nocturna de presas para aves marino-costeras. 15

SEGNINI DE BRAVO, M. & K. S. CHUNG. Influencia de los factores ambientales sobre el crecimiento instantáneo de peces tropicales evaluados por el seguimiento de la relación ARN/ADN. 21

NIRCHIO T. M. & J. E. PÉREZ. Changes in tissue water, leucine aminopeptidase activity, ninhidrine positive substances and protein concentration in *Crassostrea rhizophorae* exposed to extreme salinities. 31

BELMAR, M., J. C. ARMAS., D. BELMAR., W. RIVERO., S. YEGRES & G. CARRILLO. Mecanismo de regulación acidobásica en algunos vertebrados e invertebrados del Oriente de Venezuela. 37

FUENTES ZAMBRANO J. L. *Neohexostoma mochimae* n. sp. y *Pseudochauhanea elegans* n. sp. (Monogenea) dos nuevas especies de parásitos de peces de la Bahía de Mochima, Venezuela. 45

FUENTES ZAMBRANO J. L. & A. C. GÓMEZ VILLALOBOS. Determinación de las concentraciones y tiempos letales de tres agentes químicos en juveniles de *Archosargus rhomboidalis*. 53

BELLORÍN, A. & A. LEMUS. Efecto de la temperatura y la irradiancia en el crecimiento in vitro del alga *Gracilariopsis tenuifrons* (Bird et Oliveira) Fredericq et Hommersand (Gracilariales, Rhodophyta). 61

Fuentes, M. V., J. Bonilla & J Fermín. Algunas características químicas de los sedimentos superficiales de la Laguna de Chacopata, Estado Sucre, Venezuela. 69

Normas para la preparación de manuscritos a ser sometidos al Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela. 81

Indice acumulativo del Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela hasta 1995. 87

Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente 36 (1&2): 3-6 (1997); 3 Tabs.

EFECTO DEL COBRE SOBRE LOS MECANISMOS DE DEFENSA CELULAR DEL POLIQUETO *EURYTHOE COMPLANATA:* VIAVILIDAD, CONTAJE TOTAL DE CELULAS Y RESPUESTAS FAGOCITICAS

SALAZAR-LUGO R.[1], O. NUSETTI[2] & J. RODRIGUEZ-GRAU[3]

[1]*Departamento de Bioanálisis Escuela de Ciencias, UDO.*
[2]*Departamento de Biología, Escuela de Ciencias. UDO.*
[3]*INNTEVEP.*

RESUMEN: Se estudiaron los efectos de una dosis subletal de cobre (0,5 ppm de $CuSO_4$) sobre algunos parámetros inmunológicos del poliqueto errante *Eurythoe complanata*. Se determinó la viabilidad, número total de celomocitos y la respuesta fagocítica como medida de la capacidad inmunológica del organismo. Además se evaluó la recuperación de la respuesta inmune en organismo en depuración durante treinta días. El cobre disminuyó la viabilidad celular de 95,34 ± 8,70 en los controles a 83,34 ± 14,65 en los experimentales ($F = 6,85$, $p < 0,001$) y disminuyó la respuesta fagocítica (controles= 26,91 ± 6,99; experimentales = 18,69 ± 6,05; $F = 8,88$, $p < 0,001$) pero no afectó el contaje total de células (controles= 3,55 ± 3,15; experimentales= 4,73 ± 3.10 ; $F = 2,51$, $p > 0,05$). Los treinta días de depuración no permitieron la recuperación de la viabilidad pero si hubo recuperación de la respuesta fagocítica. La respuesta inmune en este poliqueto podría considerarse como un indicador bastante sensible para monitorear el efecto subletal de un contaminante, presentándose como un excelente diseño experimental para estudios de impacto ambiental.

ABSTRACT: In this work, we studied the effects of a sublethal dosis of copper (0.5 ppm of CuSO4) on some immunological parameters of the free living polychaete *Eurythoe cotnplanata*. We determined viability, total count of coelomocytes and phagocytic response as the measure of the organims's immunological capacity. Also, we evaluated the recuperation of the immune response in an organism in recovery for thirty days. Copper decreased cellular viability from, 95.34 μ 8.70 in the control group to 83.34 ± 14.65 in the experimental group ($F = 6.85$, $p < 0.001$) and phagocytic response from 26.91 ± 6.99 to 18.69 ± 6.05 ($F = 8.88$, $p < 0.001$), but did not affect the total cell count (control group = 3.55 ± 3.15; experimental group = 4.73 ± 3.10; $F = 2.51$, $p < 0.05$). Cellular viability did not return to normal during the thirty-day recovery period, but phagocytic response did. The study shows that the immune response provides a sensitive indicator in order to monitor the sublethal effects of contamination, and has excellent potential as an experimental design for environmental impact studies.

INTRODUCCIÓN

Los poliquetos son importantes en el ambiente marino porque representan el mayor grupo de la macrofauna bentónica siendo considerados como organismos centinelas de contaminación (REISH, 1986). Estos organismos presentan un sistema inmunológico constituído por células y elementos humorales cuyas funciones son análogas a la de vertebrados (RODRIGUEZ-GRAU et al., 1989). Diferentes parámetros inmunológicos se vienen usando para estudiar los efectos de sustancias tóxicas sobre invertebrados; dentro de estos cabe señalar respuestas de tipo celular: fagocitosis, viabilidad celular, formación de rosetas eritrocitarias y secretorias; asi como respuestas de tipo humoral tales como: producción de aglutininas, hemolisinas y sustancias con actividad antibacterial (LARSON et al., 1989; CHENG, 1988; 1989; ALVAREZ et al., 1991)

Se ha observado inmunosupresión por exposición a compuestos orgánicos y metales pesados en moluscos (FISHER et al., 1989; ANDERSON et al., 1992; 1994) y en equinodermos (CANICATTI & GRASSO, 1988). En este trabajo se evaluó el efecto de una dosis subletal de cobre sobre la viabilidad celular, el contaje total de celomocitos y la fagocitosis como mecanismos de defensa celular en el poliqueto errante *Eurythoe complanata*.

MATERIALES Y MÉTODOS

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ORGANISMO

Eurythoe complanata es un poliqueto cosmopolita que habita en sustratos arenosos, es de vida errante y se le considera un comedor de carroña (LIÑERO-ARANA, 1978).

COLECCIÓN DE LA MUESTRA

Los especímenes se recolectaron en la línea costera de la ensenada de Turpialito, Golfo de Cariaco, Estado Sucre, Venezuela; a profundidades aproximadas de 0,5 a 1 m. Previo a los ensayos, se aclimataron a las condiciones de laboratorio durante dos semanas.

turbaciones en las estructuras y funciones de las membranas (Asano & Hokari, 1987) y alteraciones de diversos sistemas enzimáticos (Owen, 1981).

La exposición crónica al cobre no tuvo efectos significativos sobre el número total de celomocitos en *E. complanata* (tabla 2). Esto coincide con resultados obtenidos en el molusco bivalvo *Sunetta scripta* sometido igualmente a concentraciones subletales de cobre, pero difiere de los obtenidos en el bivalvo *Villorita cyprinoide* var. *cochinensis* (Cheng & Sullivan, 1984).

TABLA 2. Número total de celomocitos/ml de los grupos controles y experimentales expuestos a cobre y en depuración. Todos los valores deben multiplicarse por 10^5 cel/ml. Las abreviaturas son iguales a la Tabla 1.

TIEMPO	TRATAMIENTO	GRUPOS		
Días		Controles (X ± DS) (N)	experimentales (X ± DS) (N)	p
21	exposición	3,55 ± 3,15 (23)	4,73 ± 3,10 (23)	ns
15	depuración	3,26 ± 2,54 (12)	6,67 ± 4,48 (15)	ns
30	depuración	2,82 ± 1,06 (8)	6,52 ± 6,85 (25)	ns

ANOVA ANIDADO; F = 2,51 P > 0,05
T-STUDENT; ns = p > 0,05

La actividad fagocítica de los celomocitos de *E. complanata* disminuyó significativamente al compararla con los controles; esta disminución se mantuvo en los primeros quince días de depuración (Tabla 3).

Tabla 3. Actividad fagocítica en celomocitos de grupos controles y experimentales expuestos a cobre y en depuración. Abreviaturas igual que en la Tabla 1.

TIEMPO	TRATAMIENTO	GRUPOS		
Días		Controles (X ± DS) (N)	experimentales (X ± DS) (N)	p
21	exposición	26,91 ± 6,99 (23)	18,69 ± 6,05 (23)	***
15	depuración	26,08 ± 5,68 (12)	21,40 ± 4,45 (15)	***
30	depuración	30,25 ± 4,13 (8)	38,68 ± 7,71 (25)	*

ANOVA ANIDADO; F = 8,88 P < 0,001
T-STUDENT; ns = p > 0,05, * = p < 0,05, ** = p < 0,01, *** = p < 0,001

La fagocitosis es la respuesta de defensa primaria de los organismos hacia lo extraño que se mantiene a través de la escala evolutiva, es considerada la respuesta no específica más importante de la inmunidad celular. La disminución de la fagocitosis podría deberse a la supresión, por efecto de la exposición al metal, de la producción de factores que potencian la respuesta fagocítica de las células (Bilef *et al.*, 1990; Roch *et al.*,1990). Por otro lado, la fagocitosis está relacionada directamente con la producción de radicales superóxidos; es factible que el cobre interfiera en la ruta de formación de los mismos. Es conocido el efecto tóxico del cobre sobre las enzimas Glutatión peroxidasa y Glucosa 6 - fosfato deshidrogenasa, enzimas claves en la producción de superóxido generado por la respuesta fagocítica (Owen, 1981).

Disminución de la fagocitosis fue demostrada en *Lumbricus terrestris* expuestos a cenizas de chimeneas con alto contenido de cobre y plomo (Cheng *et al.*, 1991). A diferencia de ésto, hemocitos de moluscos expuestos a 5 ppm de cobre, presentaron un significativo aumento de la fagocitosis (Cheng & Sullivan, 1984).

La recuperación de la respuesta fagocítica en organismos en depuración por treinta días podría sugerir una renovación del sistema por la producción de nuevas células; además, las uniones del cobre con los receptores celulares es de forma no covalente, tal y como ha sido demostrado en estudios realizados con zinc en hemolisinas del fluido celómico de equinodermos (Canicatti & Grasso, 1988). Por otro lado, la existencia de otros mecanismos de detoxificación (metaloproteínas) posiblemente ayuden a la rápida recuperación del sistema (Demuynck & Dhainaut-Courtois, 1994 ; Marcano *et al.*,1996).

REFERENCIAS

Alvarez, M. R., F. E. Friedl & C. M. Hudson. 1991. Effect of a commercial fungicide on the viability and phagocytosis of hemocytes of american oyster, *Crassostrea virginica*. *J. invertebr. Pathol.* 57(3):395-401.

Anderson, R. S., L. M.Oliver & D. Jacobs. 1992. Immunotoxicity of cadmiun for easterns oysters (*Crassostrea virginica* Gmelin, 1791) effects on hemocytes chemiluminescence. *J. Shellfish Res.* 11:31-35.

Anderson, R. S., L. M. Mora & S.A. Thomson. 1994. Modulation of oyster (*Crassostrea virginica*) hemocyte

BIOENSAYO DE TOXICIDAD CRÓNICA CON SULFATO DE COBRE

Organismos con un peso de 1,2 ± 0,3 g se expusieron durante 21 días a una dosis subletal de cobre de 0,2 mg/L, basada en la concentración letal media 96-h calculada por MARCANO *et al.*, (1996), la cual es de 1,30 mg de Cu^{+2}/L (intervalo de confianza 95%: 0,4-2,0 mg Cu^{+2}/L). Semanalmente eran renovadas el agua de mar, la arena y las concentraciones del metal; el pH de agua se mantuvo en 7,8; la salinidad en 35-36‰ y la temperatura entre 20 ± 2 °C durante el ensayo. Este mismo procedimiento (a excepción del metal) se siguió para los controles. Al cabo de 21 días de exposición, un grupo de estos organismos fueron colocados en acuarios completamente libres de sulfato de cobre y se les permitió depurarse durante 30 días renovándose el agua de mar y la arena cada semana. Para los ensayos se tomaron organismos a los 15 y 30 días de depuración.

ANÁLISIS DEL METAL

El nivel del metal en el agua de mar, en el sedimento y en el tejido fue determinado por espectrofotometría de absorción atómica (PERKIN ELMER MOD. 403). siguiendo el procedimiento descritos por MARCANO *et al.*, (1996).

OBTENCIÓN DEL FLUÍDO CELÓMICO Y PREPARACIÓN DE LOS CELOMOCITOS

Para la obtención del fluído celómico se utilizó el procedimiento desarrollado por ARREDONDO (1993). El fluído fue recolectado y colocado en tubos plásticos, lavado dos veces con agua de mar /EDTA 0,01mM pH 7,8; inmediatamente se procedió a contar el número total de celomocitos y luego se ajustaron a una concentración final de 1 x 10^5 cel/ml

DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD CELULAR.

La viabilidad de los celomocitos se determinó por coloración con azul de tripano (Kodak) al 0.4% en agua de mar filtrada. Las células muertas se colorean de azul claro. Se contaron 100 células observándose en un microscopio compuesto (Nikon) con una magnitud de 40X.

ENSAYO DE FAGOCITOSIS.

La capacidad fagocítica de los celomocitos fue determinada cualitativamente incubando 100 µl de la suspensión de celomocitos, previamente ajustada, con 100 µl de eritrocitos de ratón al 2% en cloruro de sodio 1.5%, durante 1 hora a 4°C de temperatura. Después de la incubación, se extrajeron 100 µl del sobrenadante y se agregaron 100 µl de azul de tripano, resuspendiéndose suavemente. Luego se tomaron 10 µl y se colocaron en una cámara de Neubauer para su observación al microscopio. Se contaron como células fagocíticas aquellas que tuvieron en su citoplasma por lo menos un eritrocito.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

A los resultados se les aplicó un análisis de varianza anidado (ANOVA ANIDADO) con el fin de detectar efectos de los tratamientos (exposición y depuración) y las posibles diferencias entre controles y experimentales en cada período del tratamiento. La significancia entre los grupos fue probada por la prueba t - Student. Se utilizó el programa de computación SAS - Mainframe.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La concentración media de cobre en el tejido fue de 5,60 ± 0,18 µg/g de peso seco en los controles y 13,70 ± 1,50 µg/g de peso seco en los organismos expuestos a cobre; la concentración de cobre en los organismos en depuración por 30 días se aproximó a los valores de los controles (7,40± 1,70 µg/g peso seco). La viabilidad celular varió entre 83,34 ± 14,65 % y 97,62 ± 1,92 % correspondiendo los valores más bajos a los organismos expuestos al cobre y en período de depuración en comparación con los controles; encontrándose diferencias altamente significativas en los promedios de viabilidad entre los controles y sus respectivos grupos experimentales (Tabla 1). Esta disminución podría relacionarse con efectos múltiples de toxicidad que incluyen per-

TABLA 1. Viabilidad de los celomocitos durante los períodos de exposición al cobre y depuración. Los valores representan los porcentajes promedios ± la desviación estándar de células viables; N: Número de muestra.

TIEMPO	TRATAMIENTO	GRUPOS		
Días		Controles (X ± DS (N))	experimentales (X ± DS) (N)	p
21	exposición	95,34 ± 8,70 (23)	83,34 ± 14,65 (23)	***
15	depuración	96,00 ± 2,89 (12)	84,60 ± 9,11 (15)	***
30	depuración	97,62 ± 1,92 (8)	94,40 ± 4,32 (25)	*

ANOVA ANIDADO; F = 6,85 P < 0,001

T-STUDENT; ns = p > 0,05, * = p < 0,05, ** = p < 0,01, *** = p < 0,001

turbaciones en las estructuras y funciones de las membranas (ASANO & HOKARI, 1987) y alteraciones de diversos sistemas enzimáticos (OWEN, 1981).

La exposición crónica al cobre no tuvo efectos significativos sobre el número total de celomocitos en *E. complanata* (tabla 2). Esto coincide con resultados obtenidos en el molusco bivalvo *Sunetta scripta* sometido igualmente a concentraciones subletales de cobre, pero difiere de los obtenidos en el bivalvo *Villorita cyprinoide* var. *cochinensis* (CHENG & SULLIVAN, 1984).

TABLA 2. Número total de celomocitos/ml de los grupos controles y experimentales expuestos a cobre y en depuración. Todos los valores deben multiplicarse por 10^5 cel/ml. Las abreviaturas son iguales a la Tabla 1.

TIEMPO	TRATAMIENTO	GRUPOS		
Días		Controles (X ± DS) (N)	experimentales (X ± DS) (N)	p
21	exposición	3,55 ± 3,15 (23)	4,73 ± 3,10 (23)	ns
15	depuración	3,26 ± 2,54 (12)	6,67 ± 4,48 (15)	ns
30	depuración	2,82 ± 1,06 (8)	6,52 ± 6,85 (25)	ns

ANOVA ANIDADO, F = 2,51 P > 0,05
T-STUDENT, ns = p > 0,05

La actividad fagocítica de los celomocitos de *E. complanata* disminuyó significativamente al compararla con los controles; esta disminución se mantuvo en los primeros quince días de depuración (Tabla 3).

Tabla 3. Actividad fagocítica en celomocitos de grupos controles y experimentales expuestos a cobre y en depuración. Abreviaturas igual que en la Tabla 1.

TIEMPO	TRATAMIENTO	GRUPOS		
Días		Controles (X ± DS) (N)	experimentales (X ± DS) (N)	p
21	exposición	26,91 ± 6,99 (23)	18,69 ± 6,05 (23)	***
15	depuración	26,08 ± 5,68 (12)	21,40 ± 4,45 (15)	***
30	depuración	30,25 ± 4,13 (8)	38,68 ± 7,71 (25)	*

ANOVA ANIDADO, F = 8,88 P < 0,001
T-STUDENT, ns = p > 0,05, * = p < 0,05, ** = p < 0,01, *** = p < 0,001

La fagocitosis es la respuesta de defensa primaria de los organismos hacia lo extraño que se mantiene a través de la escala evolutiva, es considerada la respuesta no específica más importante de la inmunidad celular. La disminución de la fagocitosis podría deberse a la supresión, por efecto de la exposición al metal, de la producción de factores que potencian la respuesta fagocítica de las células (BILEF *et al.*, 1990; ROCH *et al.*,1990). Por otro lado, la fagocitosis está relacionada directamente con la producción de radicales superóxidos; es factible que el cobre interfiera en la ruta de formación de los mismos. Es conocido el efecto tóxico del cobre sobre las enzimas Glutatión peroxidasa y Glucosa 6 - fosfato deshidrogenasa, enzimas claves en la producción de superóxido generado por la respuesta fagocítica (OWEN, 1981).

Disminución de la fagocitosis fue demostrada en *Lumbricus terrestris* expuestos a cenizas de chimeneas con alto contenido de cobre y plomo (CHENG *et al.*, 1991). A diferencia de ésto, hemocitos de moluscos expuestos a 5 ppm de cobre, presentaron un significativo aumento de la fagocitosis (CHENG & SULLIVAN, 1984).

La recuperación de la respuesta fagocítica en organismos en depuración por treinta días podría sugerir una renovación del sistema por la producción de nuevas células; además, las uniones del cobre con los receptores celulares es de forma no covalente, tal y como ha sido demostrado en estudios realizados con zinc en hemolisinas del fluido celómico de equinodermos (CANICATTI & GRASSO, 1988). Por otro lado, la existencia de otros mecanismos de detoxificación (metaloproteínas) posiblemente ayuden a la rápida recuperación del sistema (DEMUYNCK & DHAINAUT-COURTOIS, 1994 ; MARCANO *et al.*,1996).

REFERENCIAS

ALVAREZ, M. R., F. E. FRIEDL & C. M. HUDSON. 1991. Effect of a commercial fungicide on the viability and phagocytosis of hemocytes of american oyster, *Crassostrea virginica*. *J. invertebr. Pathol.* 57(3):395-401.

ANDERSON, R. S., L. M.OLIVER & D. JACOBS. 1992. Immunotoxicity of cadmiun for easterns oysters (*Crassostrea virginica* Gmelin, 1791) effects on hemocytes chemiluminescence. *J. Shellfish Res.* 11:31-35.

ANDERSON, R. S., L. M. MORA & S.A. THOMSON. 1994. Modulation of oyster (*Crassostrea virginica*) hemocyte

immune function by copper, as measured by luminol enhanced chemiluminescence. *Comp. Biochem. Physiol.* 108C (2): 215-220.

ARREDONDO, L. 1993. *Desarrollo de un método para colección de celomocitos y aspectos histológicos del fluido y del epitelio celómico en el poliqueto Eurythoe complanata (Anelida: Amphinomidae). Trab. Grad. M. Sc., Dpto. Biología, Universidad de Oriente, Venezuela.*

ASANO, R. & S. HOKARI. 1987. The effect of copper on intact swine erytrocytes. *Comp. Biochem. Physiol.* 86C(2):443-447.

BILEJ, M., J-P. SCHEERLINCK, T. VAN DEN DRIESSCHE, P. BAETSELIER & V. VETVICKA. 1990. The flow cytometric analysis of *in vitro* phagocytic activity of earthworm coelomocytes *Eisenia foetida* Annelida. *Cell. Biol. Int. Rep.* 14:831-837.

CANICATTI, C. & M. GRASSO. 1988. Biodepressive effect of zinc on humoral effector of the *Holothuria polii* immune response. *Mar. Biol.* 99:393-396.

CHENG, T. C. & J. T. SULLIVAN 1984. Effects of heavy metals on phagocytosis by molluscan hemocytes. *Environ. Res.* 14(1-4):305-313.

CHENG, T. 1988. *In vitro* effects of heavy metals on cellular defense mechanisms of *Crassostrea virginica:* Phagocytic and endocytic indices. *J. Invertebr. Pathol.* 51:215-220.

CHENG T. 1989. Immunodeficiency diseases in marine mollusks: Measurements of some variables. *J. Aquat. Anim. Health.* 1(3):209-216.

COOPER E. L. 1973. *Evolution of cellular immunity. In: Non-specific factors influencing host resistance.* W. Braun New Brunswick, N. J. y Ungar, Ed. Berne. Switzerland. pp. 11-23.

DEMUYNCK, S. & N. DHAINAUT-COURTOIS. 1994. Metal-protein binding patterns in the polychaete worm *Nereis diversicolor* during short-term acute cadmiun stress. *Comp. Biochem. Physiol.* 108C(1):58-64.

FISHER W.S., F-LE CHU & A. WISHKOVKY. 1989. Immunosupression of oysters by tributyltin. *J. Shellfish Res.* 8(2):437-439.

KIREMIDJIAN-SCHUMACHER, L., G. STOTZKY, V. LIKHITER, J. SCHWARTZ & R. A. DICKTEIN. 1981. Influence of cadmiun, lead and zinc on the ability of sensitized guinea pig lymphocytes to interact with specific antigen and to produce lymphokine. *Environ. Res.* 24:96-105.

LARSON, K. G., B. S. ROBERSON & F. M. HETRICK. 1989. Effect of environmental pollutants on the chemiluminescence of hemocytes. *Dis. Aquat. Org.* 6(2):131-136.

LIÑERO-ARANA, I. 1978. Algunos aspectos biológicos y ecológicos de los poliquetos errantes. *Lagena* 41:4245-53.

MARCANO, L., O. NUSETTI., J. RODRÍGUEZ-GRAU & J. VILAS. 1996. Uptake and depuration of copper and zinc in relation to metal-binding protein in the polychaete *Eurythoe complanata. Comp. Biochem. Physiol.* 114C:179-184.

OWEN, C. A. 1981. *Copper deficiency and toxicity: Acquired and inhered, in plants, animals and man.* Copper in Biology and Medicine series. Noyes Publications, Park Ridge, NJ.

REISH, D. J. 1986. Benthic invertebrates as indicators of marine pollution: 35 years of study. Reprinted from IEEE OCEANS '86 CONFERENCE PROCEEDINGS. Washintong D.C. pp 23-25.

RODRÍGUEZ-GRAU, J., B. J. VENABLES. L. C. FITZPATRICK., A. GOVEN & E. COOPER. 1989. Supression of secretory rosette formation by PCBs in *Lumbricus terrestris* an earthworm assay for humoral immunotoxicity of xenobiotics. *Environ. Toxicol. and Chem.* 8:1201-1207.

SAS User's guide: Statistics. Version 5 Edition. 1985. SAS Institute. Inc. N.C. USA.