

EFFECTOS ECOTOXICOLÓGICOS DEL PETRÓLEO CRUDO, DIESEL 2 Y KEROSENE SOBRE EL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE LA MICROALGA *Chaetoceros gracilis* Schutt

ECOTOXICOLOGICAL EFFECTS OF CRUDE OIL, DIESEL 2 AND KEROSENE ON THE POPULATION GROWTH OF THE MICROALGAE *Chaetoceros gracilis* Schutt

Giovanna Vera¹, Jorge Tam² y Edwin Pinto³

Resumen

Se realizaron pruebas ecotoxicológicas para determinar los efectos del petróleo crudo, Diesel 2 y kerosene sobre el crecimiento poblacional de la diatomea *Chaetoceros gracilis*. Se determinó la concentración efectiva media ($CE_{50\%}$) a un tiempo de exposición de 96 h, siendo más tóxica la solución con Diesel 2 ($90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), seguida de la solución con kerosene ($98 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y la solución con petróleo crudo ($867.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Además, se evaluó los efectos ocasionados en la tasa intrínseca del crecimiento poblacional y en la tasa de división de la especie expuesta a los tres compuestos orgánicos.

Palabras clave: *Chaetoceros gracilis*, crecimiento poblacional, hidrocarburos de petróleo, pruebas ecotoxicológicas

Abstract

Ecotoxicological tests were carried out to determine the effects of crude oil, Diesel 2 and kerosene on the population growth of the diatom *Chaetoceros gracilis*. The mean effective concentration ($CE_{50\%}$) at an exposure time of 96 h was determined. The solution with Diesel 2 was more toxic ($90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), followed by the solution with kerosene ($98 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and the solution with crude oil ($867.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). In addition, the effects of the three organic compounds on the intrinsic population growth rate and division rate of *Ch. gracilis* were assessed.

Key words: *Chaetoceros gracilis*, ecotoxicological bioassays, oil hydrocarbons, population growth

Introducción.

Una de las fuentes más importantes de contaminación marina en el Perú son los hidrocarburos de petróleo y sus derivados, especialmente durante el cabotaje. En 1990, se derramaron 14000 barriles de kerosene y 438 barriles de petróleo en 1995 (Sánchez & Orozco, 1997). Otros registros que datan de 1995 al 2001 sobre derrames de petróleo en nuestro mar fueron publicados por Vizcarra (2002).

En el Perú, existen 39 lotes con contratos vigentes para operaciones petroleras, de las cuales 8 se encuentran distribuidas en la zona norte del mar peruano, abarcando los departamentos de Tumbes, Piura, Lambayeque, La Libertad y Ancash con las siguientes cuencas: Cuenca Progreso, Cuenca Lancones, Cuenca Talara, Cuenca Sechura, Cuenca Salaverry. Los otros lotes se encuentran distribuidos al interior del país. También se encuentran 6 plantas de refinamiento: Talara (Piura), La Pampilla (Lima), Conchán (Lima), El Milagro (Amazonas), Pucallpa (Ucayali) e Iquitos (Loreto), así como también 4 plantas de fraccionamiento: Pluspetrol (Ica), Pariña y EEPsA (Piura) y Aguaytía (Ucayali). En la costa

peruana existen 18 plantas de abastecimiento: Talara, Piura, Chiclayo (Eten), Trujillo (Salaverry), Chimbote, Supe, Lima (9 plantas), Pisco, Mollendo e Ilo (MEM, 2006).

El Instituto del Mar del Perú (IMARPE) ha realizado diversas evaluaciones de hidrocarburos de petróleo en las zonas de Paita, Talara, Bayóvar, Chimbote, Supe-Paramonga, Callao y Paracas encontrándose en muchos casos altas concentraciones de hidrocarburos en el mar (Guzmán, 1995; Jacinto y Cabello 1996, Jacinto et al. 1996, 1997, 1998; Guzmán et al., 1997 y Cabello et al., 1999).

El primer impacto al producirse un derrame de hidrocarburo ocurre con el fitoplancton, debido a que los hidrocarburos forman una capa impermeable que obstaculiza el paso de la luz solar, fuente necesaria para realizar el proceso fotosintético. Las microalgas unicelulares cumplen un rol esencial en el normal funcionamiento de los ecosistemas marinos, ya que como productores primarios, son el primer eslabón de la cadena alimentaria, oxigenando el agua y participando en los ciclos biogeoquímicos de sustancias orgánicas e inorgánicas. Conocer los efectos ecotoxicológicos de los contaminantes de tipo

orgánico a través de datos obtenidos en las pruebas de toxicidad usando especies sensibles, ayudará a predecir los posibles efectos sobre las poblaciones y comunidades algales.

En el Perú, existen pocos estudios acerca del efecto de los hidrocarburos sobre los organismos marinos nativos (Ibañez & Huanes, 1999 y Alayo & Iannacone, 2002). En el presente trabajo, se eligió como organismo prueba la diatomea *Chaetoceros gracilis* Schutt por ser de fácil manejo en laboratorio, tamaño pequeño, y ciclo de vida corto, características que son ventajosas para la conducción de pruebas ecotoxicológicas. Esta especie ya ha sido usada como organismo prueba en otros estudios ecotoxicológicos (Vera *et al.*, 2001, Alayo *et al.*, 2004).

Chaetoceros gracilis es una especie que forma parte de la flora fitoplanctónica del mar peruano (Ochoa *et al.*, 1999), y los efectos ecotoxicológicos de las concentraciones de hidrocarburos presentes en las aguas marinas, son transmitidos a niveles tróficos superiores.

Por tales motivos, se planteó como objetivo de la presente investigación evaluar los efectos ecotoxicológicos de los hidrocarburos de petróleo (petróleo crudo, el Diesel 2 y el kerosene) sobre el crecimiento poblacional de la diatomea *Chaetoceros gracilis* y determinar la concentración efectiva media (CE50%).

Materiales y métodos.

Material biológico

La diatomea *Ch. gracilis* se obtuvo del Cepario del Laboratorio de la Línea de Investigaciones en Ecotoxicología Acuática del Instituto del Mar del Perú (IMARPE). Esta alga es usada habitualmente como alimento de organismos reproductores de bivalvos y crustáceos en laboratorio, cuyas larvas se utilizan en las diferentes pruebas ecotoxicológicas.

Cultivo de la microalga

Las cepas de *Ch. gracilis* se mantuvieron en fase líquida en un medio Guillard "f/2" modificado (Guillard, 1975 en González *et al.*, 1995). La composición del medio de cultivo utilizado se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición del Medio de cultivo f/2 (Guillard, 1975 en González *et al.*, 1995).

Reactivos	Volumen (mL.L ⁻¹)	Nutrientes	Stock (g.L ⁻¹)	Medio (g.L ⁻¹)	Medio (mol.L ⁻¹)
Solución 1	1	NaNO ₃	75	0.075	8.83 x 10 ⁻⁴
Solución 2	1	NaH ₂ PO ₄	5	0.05	3.63 x 10 ⁻⁵
Solución 3	1	Na ₂ SiO ₄ . 9H ₂ O	10	0.01	3.25 x 10 ⁻⁵
Solución 4	1	FeCl ₃ . 6H ₂ O	3.15	0.00315	1.16 x 10 ⁻⁵
	955	Na ₂ EDTA. 2H ₂ O	4.36	0.00436	1.17 x 10 ⁻¹
	1	Mn. Cl ₂ . 4H ₂ O	18 g .100 mL ⁻¹	0.00018	9.10 x 10 ⁻⁷
	1	ZnSo ₄ . 7H ₂ O	2.2 g .100 mL ⁻¹	0.000022	7.65 x 10 ⁻⁸
	1	CoCl ₂ . 6H ₂ O	1.05 g.100 mL ⁻¹	0.0000105	4.42 x 10 ⁻⁸
	1	CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.98 g.100 mL ⁻¹	0.0000098	3.93 x 10 ⁻⁸
	1	Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0.63 g.100 mL ⁻¹	0.0000063	2.62 x 10 ⁻⁸

Pruebas ecotoxicológicas

La metodología usada para la obtención de las soluciones mezcla de hidrocarburos (petróleo crudo, Diesel 2 y kerosene) y agua de mar, fue tomada de D'Croz *et al.* (1988). De dos pruebas preliminares se obtuvieron los siguientes rangos de diluciones: solución con petróleo crudo de 420 a 2500 mg.L⁻¹, solución con Diesel 2 de 67 a 400 mg.L⁻¹ y solución con kerosene entre 9 a 640 mg.L⁻¹. La prueba fue de tipo estático, es decir, las concentraciones fueron añadidas al medio por única vez al inicio de la prueba.

Después de preparar las soluciones de hidrocarburos y agua de mar, se distribuyeron en matraces de 250 mL hasta 150 mL y se inocularon 10 mL de microalgas (extraídas durante la fase exponencial) para lograr una densidad inicial promedio de 30000 cél.mL⁻¹. Las muestras de microalgas para el conteo, se colectaron en viales de 5 mL, al inicio y cada 24 h, durante 96 h. Se colectaron las muestras tanto de los controles como de las diferentes concentraciones de hidrocarburo y derivados. Se ejecutaron los conteos celulares dentro de las 24 h, utilizando una cámara de Neubauer. Las pruebas se realizaron en un ambiente con aire acondicionado a una temperatura de 20°C ± 1 °C. Un

resumen de las condiciones de la prueba ecotoxicológica se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones de las pruebas ecotoxicológicas usando *Chaetoceros gracilis* expuesta a soluciones de petróleo crudo, Diesel 2 y kerosene.

Organismo Prueba	<i>Chaetoceros gracilis</i>
Tipo de Prueba	Estática, 96 h
Agua de dilución	Agua de mar filtrada estéril y saturada de oxígeno (6-7 mg·L ⁻¹)
Temperatura	20 °C ± 1 °C .
Fotoperiodo	L:O = 24:0
Tamaño de matraces	250 mL
Volumen de las soluciones	150 mL
Número de células por matraz	30000 cél·mL ⁻¹ .
Número de réplicas por concentración.	2
Tasa de agitación	3 veces al día, manualmente
Agua de dilución	Medio de cultivo f/2 Guillard
Concentraciones de prueba	Mínimo 6 y un control
Punto final de la prueba	Inhibición del crecimiento poblacional (CE%)

Análisis de datos

El diseño experimental en las tres pruebas, comprendió 7 tratamientos (6 concentraciones + 1 control) y 2 repeticiones por cada tratamiento. La relación dosis-respuesta se obtuvo a partir de los datos de concentración como variable independiente y porcentaje de inhibición como variable dependiente. El porcentaje de inhibición del crecimiento poblacional fue calculado a 96 h de exposición, usando la siguiente fórmula (Joubert, 1980):

$$I = 100 \left(1 - \frac{Ne}{Nc} \right)$$

Donde:

I = Inhibición del crecimiento poblacional (%)

Ne = Densidad celular expuesta al tóxico (cél·mL⁻¹)

Nc = Densidad celular del control (cél·mL⁻¹)

Con los datos de inhibición se determinó la concentración efectiva media (CE_{50%}) utilizando el programa computacional PROBIT (Weber, 1993), que calcula la concentración de hidrocarburo que determina una inhibición del crecimiento poblacional del 50 %.

Adicionalmente, se estimó la tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r) y la tasa de división (D). La tasa intrínseca de crecimiento poblacional se estimó del modelo logístico continuo, usando la siguiente fórmula (Franco, 1985):

$$N_t = \frac{K}{(1 + \exp(a - rt))}$$

Donde:

r = Tasa intrínseca de crecimiento poblacional (día⁻¹)

N_t = Densidad celular en día t (cél·mL⁻¹)

N₀ = Densidad celular en día 1 (cél·mL⁻¹)

K = Capacidad de carga (se asumió como la máxima densidad alcanzada)

a = ln ((K-N₀)/N₀)

La estimación del parámetro r se realizó mediante minimización de la función de error de los cuadrados residuales, usando la rutina de optimización numérica SOLVER de la hoja de cálculo EXCEL (método del gradiente conjugado, con derivadas centradas).

La tasa de división (div·día⁻¹) se calculó mediante la fórmula:

$$D = 1/T$$

Donde:

T = Tiempo de división (días) = ln (2)/r

Resultados.

Petróleo crudo

A partir de las concentraciones de 1225, 1750 y 2500 mg·L⁻¹ se observa una inhibición en el crecimiento poblacional dentro de las 24 h de exposición de 67 %, 70 % y 92 %, respectivamente, recuperándose al tercer día de exposición, siendo afectada la tasa de división por día en más del 50 % con respecto al control (Figura 1).

La tasa intrínseca del crecimiento poblacional (r) para el control fue de 1.56 día⁻¹ mientras que para las células expuestas al petróleo crudo estuvo entre 0.75 a 1.19 día⁻¹. La tasa de división por día (D) para el control fue de 2.26 div·día⁻¹, mientras que para las poblaciones expuestas al petróleo estuvo en rango de 1.08 a 1.71 div·día⁻¹ (Tabla 3). Se obtuvo una CE_{50%} de 867.5 mg·L⁻¹ (Figura 2).

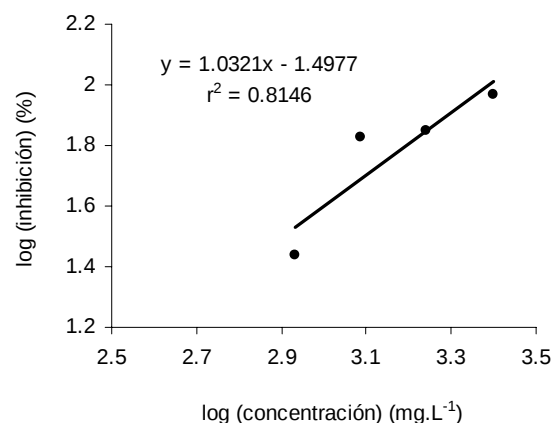


Figura 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* expuesta por 96 horas a una solución con petróleo crudo.

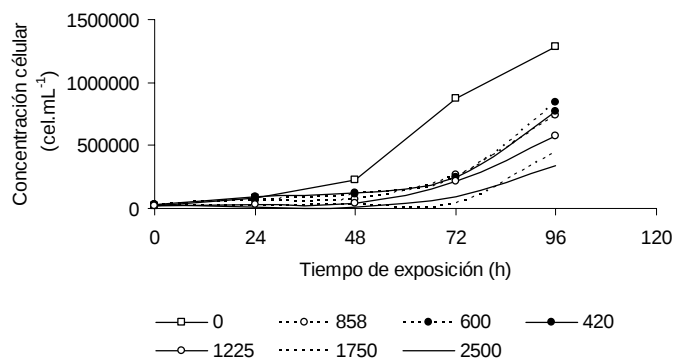


Figura 2. Curvas de crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* expuesta a diferentes concentraciones de petróleo crudo ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

Tabla 3. Tasa intrínseca del crecimiento poblacional (r), tasa de división por día (D) y concentración efectiva media ($\text{CE}_{50\%}$) a 96 h, obtenidas en las pruebas ecotoxicológicas.

Agentes tóxicos	r (día^{-1})	D ($\text{div}\cdot\text{día}^{-1}$)	$\text{CE}_{50\%}$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) a 96 h
Petróleo crudo	0.75-1.19	1.08-1.71	867.5
Kerosene	0.62-1.48	0.89-2.14	98
Diesel 2	0.29-1.44	0.42-2.08	90

Diesel 2

Concentraciones de Diesel 2 mayores de 196, 280 y 400 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ inhibieron el crecimiento de la población expuesta en 97 %, 100 % y 100 %, respectivamente, dentro de las 24 h de exposición, no se observó recuperación celular (Figura 3).

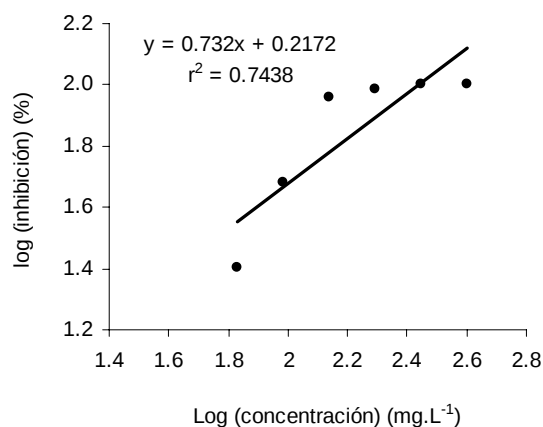


Figura 3. Porcentaje de inhibición del crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* expuesta por 96 horas a una solución con Diesel 2.

La tasa intrínseca del crecimiento poblacional (r) para el control fue de 1.55 día^{-1} mientras que para las poblaciones expuestas a diferentes concentraciones del Diesel 2 estuvo entre 0.62 a 1.48 día^{-1} . La tasa de

división por día (D) para el control fue de $2.24 \text{ div}\cdot\text{día}^{-1}$, mientras que para las poblaciones expuestas al petróleo estuvo en rango de 0.89 a $2.14 \text{ div}\cdot\text{día}^{-1}$ (Tabla 3). Se obtuvo una $\text{CE}_{50\%}$ de $90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Figura 4).

Kerosene

Concentraciones de kerosene de 640 y 320 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ produjeron una inhibición en el crecimiento poblacional del 96 % y 83 % en el tercer y cuarto día de exposición, respectivamente. Mientras que en concentraciones entre 20 a 160 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ causaron una inhibición entre el 8 % al 29 % (Figura 5).

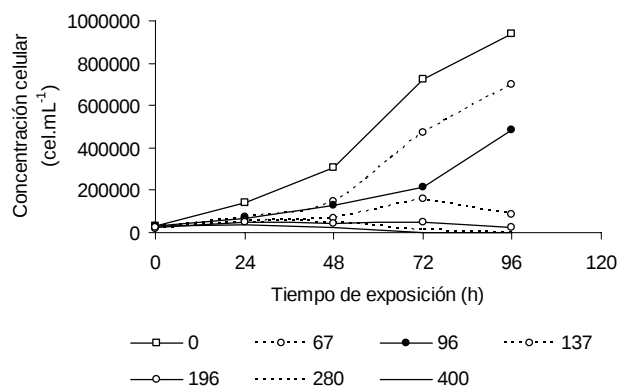


Figura 4. Curvas de crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* expuesta a diferentes concentraciones de Diesel 2 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

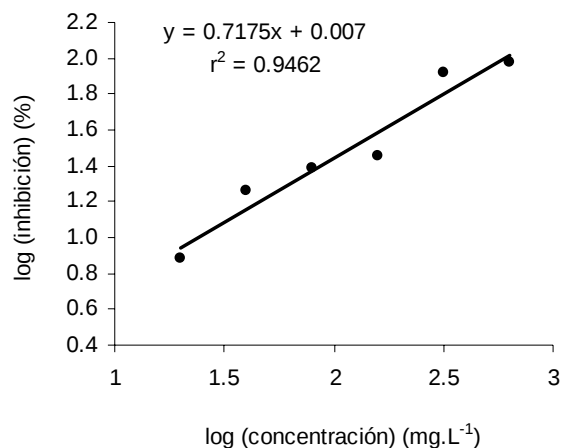


Figura 5. Porcentaje de inhibición del crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* expuesta por 96 horas a una solución con kerosene.

La tasa intrínseca del crecimiento poblacional (r) para el control fue de 1.47 día^{-1} mientras que para las poblaciones expuestas a diferentes concentraciones del kerosene comercial estuvo entre 0.29 a 1.44 día^{-1} . La tasa de división por día (D) para el control fue de 2.12

div·día⁻¹, mientras que para las poblaciones expuestas al kerosene estuvo en rango de 0.42 a 2.08 div·día⁻¹ (Tabla 3). Se obtuvo una CE_{50%} de 98 mg·L⁻¹ (Figura 6).

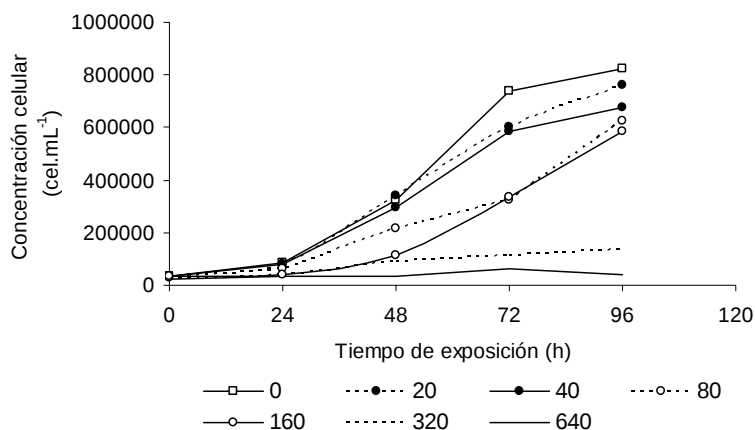


Figura 6. Curvas de crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* expuesta a diferentes concentraciones de kerosene (mg·L⁻¹).

Discusión.

La compleja composición del petróleo y la extrema variabilidad en la composición del petróleo y los productos refinados del petróleo ha llevado a los investigadores a examinar la toxicidad de una mayor diversidad de ingredientes químicos del petróleo en un esfuerzo por mejorar el entendimiento de las causas de la toxicidad (Wright & Welbourne, 2002), por tal motivo se consideró importante determinar la toxicidad de los tres productos más usados en el Perú, para consumo doméstico, transporte terrestre y

crudo, el Diesel 2 y el kerosene se encuentran dentro de las primeras 24 horas de exposición, siendo más tóxico el Diesel 2 debido a que presenta mayor concentración de fracciones volátiles, tales como los hidrocarburos alifáticos de bajo peso molecular desde metano hasta octano, que sin embargo son muy volátiles y se pierden rápidamente por evaporación desde la preparación petróleo-agua. Algunos de estos componentes pueden producir efectos narcóticos en animales marinos en concentraciones cerca a su solubilidad acuosa (Crisp *et al.*, 1967). Algo muy semejante ocurre con el kerosene, esto apoyaría a Craddock (1977 en Neff, 1987) quien señala que la toxicidad aguda se incrementa conforme aumenta la concentración de hidrocarburos aromáticos.

Por otro lado, el petróleo crudo resultó menos tóxico, pues contiene hidrocarburos alifáticos de alto peso molecular que son tan insolubles que no es posible disolverlos suficientemente en agua de mar para causar toxicidad en organismos marinos y éstos finalmente se acumulan en los sedimentos (Crisp *et al.*, 1967).

En las pruebas con petróleo crudo si bien es cierto se produce un efecto inhibitorio a las 24 h, se puede observar una recuperación en la pendiente de crecimiento celular a partir del segundo día,

Tabla 4. Concentración efectiva media (CE_{50%}, 96 h) de hidrocarburos de petróleo y derivados usando diferentes especies acuáticas.

Organismo prueba	Estadio	Agente tóxico	CE _{50%} (mg·L ⁻¹) 96 h	Autor
<i>Orthopristis ruber</i>	Juvenil	Petróleo liviano	680	Quevedo <i>et al.</i> (1983)
<i>Mugil cephalus</i>	Juvenil	Kerosene	628.6	Ibañez & Huanes (1999)
<i>Mugil curema</i>	Juvenil	Petróleo crudo	1350	Aguilera & Huq (1982 en Ibañez & Huanes, 1999)
<i>Mugil cephalus</i>	Juvenil	Diesel 2	694	Ibañez & Huanes (1999)
<i>Protothaca staminea</i>	Juvenil	Petróleo crudo	14.7	Rice <i>et al.</i> (1976 en Weber <i>et al.</i> , 2005)
<i>Paragrapsus quadridentatus</i>	Adulto	Petróleo liviano	2020	Ahsanullah <i>et al.</i> (1982 en Weber <i>et al.</i> , 2005)
<i>Paralithodes camtschatica</i>	Larva	Petróleo crudo	5	Rice <i>et al.</i> (1976 en Weber <i>et al.</i> , 2005)
<i>Acanthomysis pseudomacropsis</i>	Larva	Petróleo crudo	8.99	Rice <i>et al.</i> (1976 en Weber <i>et al.</i> , 2005)
<i>Orchomene pinguis</i>	Juvenil	Petróleo crudo	7.4	Rice <i>et al.</i> (1976 en Weber <i>et al.</i> , 2005)
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Adulto	Petróleo crudo	867.5	Vera <i>et al.</i> (presente estudio)
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Adulto	Diesel 2	90	Vera <i>et al.</i> (presente estudio)
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Adulto	Kerosene	98	Vera <i>et al.</i> (presente estudio)

marítimo.

En las pruebas realizadas en el presente trabajo se determinó que el efecto inhibitorio del petróleo

especialmente en células expuestas a bajas concentraciones del petróleo. Un comportamiento similar ocurrió en los trabajos realizados por D'Croz

et al. (1988) quien determinó en otras condiciones de temperatura y salinidad un crecimiento celular después del segundo día tendiendo a igualar el crecimiento del cultivo control y después del tercer día parece estar estimulado, superando al cultivo control. Después de la volatilización de los hidrocarburos aromáticos hay una tendencia a la recuperación en los 3 casos, especialmente en los cultivos que tienen las más bajas concentraciones. Esto también explicaría la mayor toxicidad del petróleo crudo en comparación con Diesel 2 y Diesel 6 encontrada por Alayo & Iannacone (2002) usando rotíferos en pruebas de 48 h.

Comparando los resultados obtenidos en el presente estudio para la especie *Ch. gracilis*, con los resultados en otras especies (Tabla 4), se obtuvo las siguientes secuencias de sensibilidad:

- Petróleo crudo: Amphipoda (*Orchomene pinguis*) > Microalga (*Chaetoceros gracilis*) > Pez (*Mugil curema*) > Decapoda (*Paragrapsus quadridentatus*)

- Diesel: Microalga (*Chaetoceros gracilis*) > Pez (*Mugil curema*)

- Kerosene: Microalga (*Chaetoceros gracilis*) > Pez (*Mugil curema*)

En el Perú, la Ley General de Aguas vigente (MINSA, 1969) no considera estándares de calidad para los hidrocarburos de petróleo. Sin embargo, en Alaska, el estándar de calidad acuática marina para el crecimiento y propagación de peces, mariscos, vida acuática y vida silvestre es de $15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para hidrocarburos acuosos totales (HAT) (ADEC, 2003).

Conclusiones.

Las soluciones con petróleo crudo, Diesel 2 y kerosene produjeron un efecto de inhibición sobre el crecimiento poblacional de la diatomea *Ch. gracilis*, siendo las concentraciones efectivas media (CE50%) de 867.5, 90 y 98 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente. Este efecto inhibidor fue mayor dentro de las 24 h, siendo afectadas la tasa intrínseca de crecimiento y la tasa de división por día. La recuperación celular fue notable a partir del tercer día con una tendencia a alcanzar los cultivos controles en los días posteriores.

Ch. gracilis fue una especie sensible a los derivados aromáticos del hidrocarburo de petróleo (petróleo crudo, Diesel 2 y kerosene), por lo que puede ser utilizada como organismo prueba para evaluar la toxicidad de otros compuestos orgánicos acuáticos marinos, siguiendo las condiciones recomendadas.

Se recomienda realizar estudios subletales para observar los efectos en largos periodos de tiempo, para evaluar el daño potencial causado por un evento de derrame o una descarga crónica y para predecir el valor de recuperación del medio afectado o impactado.

Agradecimientos.

Se agradece al Sr. José Ortega por el apoyo brindado durante la parte experimental del trabajo. Asimismo, agradecemos al M.Sc. Ricardo Oliveros por la revisión del manuscrito.

Literatura citada.

- Alaska Department of Environmental Conservation (ADEC). 2003. Water quality standards. 18 AAC 70.
- Alayo M. & Iannacone J. 2002. Ensayos ecotoxicológicos con petróleo crudo, Diesel 2 y Diesel 6 con dos subespecies de *Brachionus plicatilis* Müller 1786 (Rotífera: Monogononta). Gayana. 66: 45-58.
- Alayo M., Iannacone J. & Arrascue A. 2004. Sensibilidad al cromo: microbiopuebas con las diatomeas marinas *Isochrysis galbana* Parke y *Chaetoceros gracilis* Schütt. Ecol. Apl. 3: 154-161.
- Cabello R., Jacinto M.E., Morón O. y Chang F. 1999. Evaluación de la calidad medio marino costanero en la Bahía de Talara y Aguas Adyacentes, 15-17 Abril 1997. Inf. Prog. Inst. Mar Perú. 106.
- Crisp D.J., Christhie O. & Ghobashy A. 1967. Narcotic and toxic action of organic compounds on barnacle larvae. Comp. Biochem. Physiol. 22: 629-649.
- D' Cruz L., Torres J. & Gómez J. 1988. Efecto del crudo venezolano (BCF-24) sobre el crecimiento de la diatomea marina tropical *Chaetoceros gracilis* (Thomas, 1966). Rev. Pacífico Sur. (Número Especial): 171-178.
- Franco J. 1985. Manual de ecología. Ed. Trillas, México.
- González M., Parra O. & Cifuentes A. 1995. Técnicas de cultivo de microalgas en laboratorio. : 219-250. En: Alveal, K. y M. E. Ferrario. (Eds.). Manual de métodos ficológicos. Universidad de Concepción.
- Guzmán, M. 1995. Evaluación de la contaminación marina frente a la Bahía de Paita. Crucero Demersales 9505-06. Inf. Prog. Inst. Mar Perú. (7):1-16.
- Guzmán M., Chávez J., Morón O., Sánchez S., & Flores G. 1997. Evaluación de la calidad del medio ambiente marino en la bahía de Pisco - Paracas, 22 a 24 mayo 1996. Inf. Prog. Inst. Mar Perú. 54: 3-29.
- Ibañez J. & Huanes L. 1999. Bioensayos de toxicidad letal de gasolina 84°, kerosene industrial, petróleo diesel 2 y petróleo diesel 6 en lisa *Mugil cephalus* L. II Congreso Peruano de Ecología, Medio Ambiente y Desarrollo, Huancayo, Perú.
- Jacinto M.E. & Cabello R. 1996. Niveles de hidrocarburos de petróleo en el ecosistema marino costero del Perú. Bahías seleccionadas. Periodo 1996. Inf. Prog. Inst. Mar. Perú. (110):1-60.
- Jacinto M.E., Cabello R., Guzmán M., Morón O., Villanueva P. & Córdova J. 1996. Evaluación de la contaminación marina en la Bahía Ferrol, Chimbote. 14-18 Julio 1994. Inf. Prog. Inst. Mar Perú. (48):21-56.
- Jacinto M.E., Morón O., Martínez C., Villanueva P., Guzmán M. & Córdova J. 1997. Evaluación de la calidad del medio ambiente marino en el área de Bayóvar-Ensenada de Sechura, 8 al 10 mayo 1996. Inf. Prog. Inst. Mar Perú. (54):30-64.
- Jacinto, M.E., Chávez J., Morón O., Sánchez S. & Solís J. 1998. Evaluación de la calidad del medio marino en Bahía Supe-Paramonga en enero 1997. Inf. Prog. Inst. Mar Perú. (80):15-35.

- Joubert G. 1980. A bioassay application for quantitative toxicity measurements using the green algae *Selenastrum capricornutum*. Water Res. 14: 1759-1763.
- Ministerio de Energía y Minas (MEM). 2006. Lotes con contratos para operaciones petroleras en el Perú. Atlas minería y energía en el Perú 2001. En línea: http://intranet2.minem.gob.pe/web/archivos/ogp/publicaciones/atlasmineriaenergia2001/hidrocarburos/2001_lotes_cont_oper_petro.pdf.
- Ministerio de Salud (MINSA). 1969. Ley General de Aguas (D.L. 17752). El Peruano.
- Neff J. 1987. Biological Effects of Oil in the Marine Environment. Chem. Engineering Progress. Nov. : 27-33.
- Ochoa N., Gómez O., Sánchez S. & Delgado E. 1999. Diversidad de diatomeas y dinoflagelados marinos del Perú. Bol. Inst. Mar Perú. 18: 1-14.
- Quevedo J., Segovia J., Pérez J. & Zurburg W. 1983. Efectos del petróleo y algunos dispersantes en juveniles del Cococoro, *Orthopristis ruber* (Pisces: Pomadasyidae). Bol. Inst. Oceanogr. de Venez. Univ. de Oriente. 22: 177-184.
- Sánchez G. & Orozco R. 1997. Diagnóstico Regional sobre actividades realizadas en tierra que afectan los ambientes marino, costero y dulceacuicolas asociados al Pacífico Sudeste. Informe de Consultoría para la Comisión Permanente del Pacífico Sur (CPPS) del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente.
- Vera G., Tam J., Pinto E. & Angulo J. 2001. Efecto del cadmio sobre el crecimiento poblacional de la diatomea marina *Chaetoceros gracilis* Schutt. Rev. Peru. Biol. 8:45-52.
- Vizcarra A. 2002. Ecósfera. La Ciencia ambiental y los desastres ecológicos. Editorial. Siglo XXI.
- Weber C.I. 1993. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. EPA600/490027F. 293 p.
- Weber P., Dasher D., Duffy L., Perkins R. & O'Hara T. 2005. Acute and chronic toxicity of hydrocarbons in marine and fresh water with an emphasis on Alaska species: a review of the literature. Alaska Dept. Env. conservation.
- Wright D.A. & Welbourne P. 2002. Environmental toxicology. Cambridge Univ. Press.

¹ Afiliación en el momento de la investigación: Instituto del Mar del Perú, Esq. Gamarra y Gral. Valle s/n, La Punta, Callao. Afiliación actual: Universidad Ricardo Palma, Benavides 5440, Santiago de Surco, gioverad@yahoo.com.

² Instituto del Mar del Perú, Esq. Gamarra y Gral. Valle s/n, La Punta, Callao, jtam@imarpe.gob.pe.

³ Instituto del Mar del Perú, Esq. Gamarra y Gral. Valle s/n, La Punta, Callao, epinto@imarpe.gob.pe.

Copyright of Ecologia Aplicada is the property of Universidad Nacional Agraria La Molina and its content may not be copied or emailed to multiple sites or posted to a listserv without the copyright holder's express written permission. However, users may print, download, or email articles for individual use.