



informe progresivo

nº
130

Octubre
2000

**Modelo de simulación de los efectos ecotoxicológicos del
cadmio sobre el crecimiento poblacional de la microalga
Skeletonema costatum (Greville) Cleve**

Jorge Tam

Giovanna Vera

Edwin Pinto

Rocío Melgar 3

**Pruebas ecotoxicológicas de efluentes pesqueros para
determinar la calidad de agua de mar en la Bahía de Paracas
(Pisco, Perú)**

Guadalupe Sánchez

Jorge Tam

Giovanna Vera 13

DGIO-57

DGIO-58

Publicación periódica mensual de distribución nacional. Contiene información de investigaciones en marcha, conferencias y otros documentos técnicos sobre temas marítimos. EL INFORME PROGRESIVO tiene numeración consecutiva. Deberá ser citado como Inf. Prog. Inst. Mar Perú.

INSTITUTO DEL MAR DEL PERU (IMARPE)
Esq. Gamarra y Gral. Valle, Chucuito, Callao.
Apartado 22, Callao, Perú.
Telf. 429-7630 / 420-2000 Fax: 465-6023
Email: Imarpe+@Imarpe.gob.pe

Asesora científica
Dra. Norma Chirichigno Fonseca

Editor científico
Dr. Pedro G. Aguilar Fernández

© 2000. **Instituto del Mar del Perú**
Esquina Gamarra y General Valle
Apartado Postal 22
Callao, PERU
Teléfono 429-7630 / 420-2000
Fax (511) 465-6023
E-mail: imarpe+@imarpe.gob.pe

Hecho el depósito de ley. N° 2001-0619
Reservados todos los derechos de reproducción total
o parcial, la fotomecánica y los de traducción.

Impresión: Gráfica Técnica SRL.
Calle Los Talladores 184, Urb. El Artesano - Ate
Teléfono: 436-3140 / 437-5842
Tiraje: 300 ejemplares

MODELO DE SIMULACIÓN DE LOS EFECTOS ECOTOXICOLÓGICOS DEL CADMIO SOBRE EL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE LA MICROALGA *SKELETONEMA COSTATUM* (GREVILLE) CLEVE

Jorge Tam

Giovanna Vera

Edwin Pinto

Área de Ecofisiología Acuática.
Dirección de Monitoreo y Protección del Ambiente Marino.
DGIO. IMARPE

Rocío Melgar

Facultad de Ingeniería Pesquera
Universidad Nacional del Callao

CONTENIDO

Resumen	3
Abstract	4
1. Introducción	4
1.1 Antecedentes	5
2. Material y métodos	6
2.1 Material biológico	6
2.2 Medio de cultivo	6
2.3 Cinética de crecimiento poblacional	6
2.4 Prueba ecotoxicológica	7
2.5 Modelo de simulación de los efectos ecotoxicológicos	7
3. Resultados y discusión	8
3.1 Cinética de crecimiento poblacional	8
3.2 Prueba ecotoxicológica	9
3.3 Simulación de los efectos ecotoxicológicos del cadmio	10
4. Conclusiones	11
5. Recomendaciones	11
6. Agradecimientos	11
7. Referencias	11

RESUMEN

TAM, J., G. VERA, E. PINTO Y R. MELGAR. 2000. Modelo de simulación de los efectos ecotoxicológicos del cadmio sobre el crecimiento poblacional de la microalga *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve. Inf. Prog. Inst. Mar Perú. 130:3-12.

Se evaluó el crecimiento poblacional de *Skeletonema costatum* usando un medio de cultivo "f/2" de GUILLARD modificado para determinar la tasa de crecimiento poblacional y la capacidad de carga. El crecimiento poblacional estuvo determinado por el siguiente modelo logístico: $N_t = 1656512 / (1 + e^{8.36 - 3.18 t})$. Se realizó una prueba ecotoxicológica para determinar la concentración efectiva media de cadmio ($CE_{50\%} = 1424 \text{ mg.L}^{-1}$). Dicho parámetro fue incorporado en el modelo logístico para realizar simulaciones del crecimiento poblacional a diferentes concentraciones de cadmio. A una concentración de 3100 mg.L^{-1} , la biomasa de equilibrio poblacional alcanzó sólo un 6% de la capacidad de carga, en concordancia con los datos observados en la prueba ecotoxicológica de laboratorio.

PALABRAS CLAVE: *Skeletonema costatum*, ecotoxicología, cadmio, modelo numérico.

ABSTRACT

TAM, J., G. VERA, E. PINTO AND R. MELGAR. 2000. Simulation model of the ecotoxicological effects of cadmium on the growth of the microalgae *Skeletonema costatum* (Graville) Cleve. Inf. Inst. Mar Perú 130:3-12.

The population growth of *Skeletonema costatum* was assessed using a modified culture medium "f/2" of GUILLARD to determine the population growth rate and the carrying capacity. The population growth was determined by the following logistic model: $N_t = 1656512 / (1 + e^{8.36 - 3.18 t})$. An ecotoxicological test was carried out to determine the median effective concentration (CE50% = 1424 mg.L⁻¹). That parameter was included in the logistic model to carry out simulations of population growth at different cadmium concentrations. At a concentration of 3100 mg.L⁻¹, the population equilibrium biomass reached only 6 % of the carrying capacity, in agreement with the data observed in the ecotoxicological laboratory test.

KEY WORDS: *Skeletonema costatum*, ecotoxicology, cadmium, numerical model.

1. INTRODUCCIÓN

Las pruebas ecotoxicológicas agudas permiten establecer criterios de calidad de agua, para proteger la vida acuática en los cuerpos receptores, basado en efectos autoecológicos. Sin embargo, para evaluar el impacto de las sustancias tóxicas sobre las poblaciones y comunidades se debe considerar la respuesta de especies pertenecientes a diferentes niveles tróficos, así como conocer la concentración interna de los tóxicos acumulados en los organismos (PATRICK 1978). En este sentido, el impacto de tipo crónico sobre el primer nivel trófico, representado por el fitoplancton, es de vital importancia para predecir el comportamiento de la biomasa tanto de los productores primarios (STOCKNER y ANTIA 1976) como de los consumidores.

Los efectos sobre las microalgas de los tóxicos, tanto inorgánicos (VYZAMAL 1987) como orgánicos (MAKI *et al.* 1975), han sido estudiados a nivel fisiológico y genotóxico (HARWOOD *et al.* 1989). Las microalgas también han sido usadas para evaluar el efecto de efluentes totales (WALSH y ALEXANDER 1980) y continuamente se introducen nuevas técnicas para mejorar la eficiencia de los bioensayos (BOZEMAN *et al.* 1989, ROJICKOVA *et al.* 1998).

Entre los metales utilizados para evaluar toxicidad con microalgas se encuentran el cobre, el zinc, el cadmio y el cromo. Algunos de estos metales han sido encontrados en concentraciones muy altas en los sedimentos o en tejidos de especies en áreas localizadas, como en las bahías de Ilo, Pisco, Callao y Chimbote (VALCÁRCEL 1974, HOLLEWEGUER y SÁNCHEZ 1991, JACINTO *et al.* 1998). Estas altas concentraciones son resultado de actividades mineras, aplicación de funguicidas y producción de abonos. Por tales motivos, es importante caracterizar la dinámica poblacional de las microalgas y estudiar el efecto ecotoxicológico de metales pesados, para poder evaluar el riesgo ecológico asociado al vertimiento de estas sustancias.

Los objetivos del presente trabajo son: determinar los parámetros de crecimiento poblacional de *Skeletonema costatum*, estimar la concentración efectiva media por exposición al cadmio, y elaborar un modelo numérico para simular el efecto de diferentes concentraciones de cadmio sobre el crecimiento poblacional.

Se espera que *Skeletonema costatum* presente una cinética de crecimiento poblacional de tipo logístico, y que el aumento en la concentración ambiental de cadmio produzca una reducción en la biomasa poblacional.

1.1 Antecedentes

Existen diversos estudios sobre toxicidad de metales sobre microalgas, tales como el efecto del cobre (SATHYA y BALAKRISHNAN 1988), zinc (STAUBER y FLORENCE 1990), cadmio (VYMAZAL 1987, RODRÍGUEZ y RIVERA 1995) y cromo (AOYAMA *et al.* 1987).

Microalgas como *Tetraselmis suecica* (RODRIGUEZ y RIVERA 1995), *Chlorella vulgaris* (WREN y MCCARROLL 1990) y *Selenastrum capricornutum* (JOURBERT 1980) han sido preferentemente utilizadas en protocolos de pruebas de toxicidad. *Skeletonema costatum* también ha sido recomendada para usarla en pruebas de inhibición del crecimiento por la Organización Internacional para la Estandarización (INTERNATIONAL STANDARD 1995).

PANIAGUA (1989) ha descrito a *S. costatum* como una diatomea cilíndrica, de corte elíptico con extremos semirredondeados, cuyas células se unen entre sí mediante largos bastones silíceos de casi la longitud del cuerpo celular, formando cadenas generalmente rectas. Las células poseen dos cromatóforos, de color verde-marrón, tienen un diámetro de 3-20 μm (promedio de 6 μm) que varía de acuerdo al estado reproductivo. Tiene reproducción sexual y asexual acompañada por la formación de auxosporas de 17-20 μm de diámetro. Es euritérmica, eurihalina y tolera un amplio rango de intensidades de luz, pero es afectada por fotoperíodos. Se cultiva a temperaturas de 15-25 °C y salinidades de 18 – 35 ups. Se utiliza para alimentar primeros estadios larvales de crustáceos, pero su valor nutritivo para bivalvos requiere complementarse con dietas mixtas.

CASTELLVI (1971) menciona que en cultivos monoalgales *S. costatum* presenta heterogeneidad morfológica, con células alargadas o discoidales, puentes celulares de longitud variable y una relación positiva entre el diámetro celular (1-9 μm) y el número de células por filamento (1-13 células). Esta autora comparó el crecimiento de *S. costatum* en diferentes medios de cultivo, lugar de origen, y edad del inóculo. Encontró una relación inversa entre la edad del inóculo y la tasa de crecimiento poblacional. También menciona que el ciclo anual de la población de *Skeletonema costatum* presenta un máximo a fines de otoño y una depresión a fines de invierno y principio de primavera. La depresión primaveral coincide con un desarrollo plasmático que disminuye la viabilidad de la población y favorece su sedimentación.

Skeletonema costatum es uno de los componentes más abundantes del fitoplancton en el mar peruano. DELGADO *et al.* (1995) encontraron a *S. costatum* entre las diatomeas pequeñas dominantes propias del afloramiento costero, con una concentración máxima de 306 cél/mL y una dominancia numérica de hasta 98,8 %, por lo que debe ser un ítem importante en la dieta de organismos filtradores. LABBE y ALVIAL (1994) mencionan que *S. costatum* prefiere temperaturas sobre 14 °C, por lo que prolifera en primavera, habiéndose encontrado hasta 30.000 cél/mL en Chile. Otras proliferaciones han sido citadas para Corea, China y Japón.

S. costatum es importante tanto desde el punto de vista ecológico como por su valor nutricional, como productora de ácidos grasos ω -3 (ACKMAN *et al.* 1964) y vitamina C (BROWN y MILLER

1992), por ello está siendo estudiada para determinar los factores que afectan su fisiología, como la radiación UV (WANG y CHAI 1994) o los tóxicos orgánicos (WALSH et al. 1987).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Material biológico

Para la obtención de *Skeletonema costatum* se colectaron muestras de fitoplancton de la bahía del Callao con una red de 70 mm de tamaño de poro. Se realizó el aislamiento por dilución y posterior obtención de un cultivo líquido monoclonal, para el traspaso a volúmenes mayores (PEREIRA et al. 1988).

2.2 Medio de cultivo

Se utilizó el medio de cultivo "f/2" de GUILLARD (1972) modificado, excluyendo EDTA y los metales Cu, Zn y Mo, siendo su composición la siguiente:

Nutrientes mayores

NaNO ₃	150 mg.L ⁻¹
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	5 mg.L ⁻¹
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	30 mg.L ⁻¹

Metales traza

FeCl ₃ ·6H ₂ O	0,135 mg.L ⁻¹
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,099 mg.L ⁻¹
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,119 mg.L ⁻¹

Vitaminas

Tiamina:	0,1 mg.L ⁻¹
Biotina:	0,5 mg.L ⁻¹
B ₁₂ :	0,5 mg.L ⁻¹

2.3 Cinética de crecimiento poblacional

Se realizaron dos cultivos de *S. costatum*, de cada población se tomaron dos muestras diarias para el conteo (células.mL⁻¹) en cámara NEUBAUER. Se consideraron los datos de abundancia poblacional desde el día de inoculación hasta el día de máxima abundancia, ajustándolos a un crecimiento poblacional logístico utilizando el siguiente modelo (HUTCHINSON 1981):

$$N_t = K / (1 + e^{a - r \cdot t})$$

Donde:

N_t = Abundancia de la población en tiempo t (cél.mL⁻¹)
 t = Tiempo (día)

- K = Capacidad de carga (estimada: 1,01 x abundancia máxima) (cél.mL⁻¹)
 r = Tasa de crecimiento poblacional (día⁻¹)
 a = Constante

2.4 Prueba ecotoxicológica

Se realizó una prueba ecotoxicológica, exponiendo cultivos de *S. costatum* durante 7 días a 6 concentraciones de cadmio más un control, por duplicado (3100 mg.L⁻¹, 6200 mg.L⁻¹, 12500 mg.L⁻¹, 25000 mg.L⁻¹, 50000 mg.L⁻¹ y 100000 mg.L⁻¹). Con los datos de abundancia (cél.mL⁻¹) en el momento en que la población llegó a la capacidad de carga se calculó el porcentaje de inhibición (JOUBERT 1980):

$$I = 100 (1 - N_e/N_c)$$

Donde:

- I = Porcentaje de inhibición (%)
 N_e = Abundancia de cultivo expuesto a cadmio (cél.mL⁻¹)
 N_c = Abundancia de cultivo control (cél.mL⁻¹)

Los datos de porcentaje de inhibición se ajustaron mediante una regresión probit a los datos de concentración de cadmio, utilizando el programa PROBIT (WEBER 1993), para estimar la concentración efectiva media (CE50%) que corresponde a aquella concentración que inhibe el 50% del crecimiento poblacional.

2.5 Modelo de simulación de los efectos ecotoxicológicos

El efecto ecotoxicológico del cadmio sobre el crecimiento poblacional se simuló incorporando la CE50% a un modelo de crecimiento poblacional logístico (VAN LEEUWEN *et al.* 1986):

$$dB / dt = B (b - p B) - B (d + p B) - B \ln (1 - P) / T$$

Donde:

- B = Biomasa poblacional (mg.L⁻¹)
 b = Tasa de nacimiento (día⁻¹)
 d = Tasa de mortalidad (día⁻¹)
 p = Competencia intraespecífica = (b - d)/2K
 K = Capacidad de carga (mg.L⁻¹)
 P = Reducción proporcional de biomasa = Fc (CE50%, C)
 Fc = Función de distribución normal acumulada
 C = Concentración de cadmio (mg.L⁻¹)
 T = Duración de la prueba ecotoxicológica (día)

La ecuación logística modificada se integró numéricamente usando el algoritmo de Runge-Kutta (SPAIN 1982).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Cinética de crecimiento poblacional

Los promedios diarios de abundancia de *Skeletonema costatum* obtenidos en los dos cultivos en medio "f/2" de GUILLARD (1972) se presentan en la Tabla 1. También se presentan los datos de CASTELLVI (1971), quién cultivó *S. costatum* en un medio enriquecido con nitratos y fosfatos: agua de mar (750 mL), agua destilada (250 mL), NaNO_3 (0,1 g) y K_2HPO_4 (0,02 g). Los parámetros de la curva de crecimiento poblacional obtenidos con los datos de abundancia, se presentan en la Tabla 2. Los datos observados y simulados según el modelo de crecimiento logístico se muestran en la Figura 1.

Tabla 1. Datos de abundancia de cultivos de *Skeletonema costatum*.

Tiempo (días)	Abundancia (cél.mL ⁻¹)		
	Cultivo 1	Cultivo 2	Castellvi (1971)
1	3.750	73.750	12.690
2	158.750	12.500	76.667
3	1.375.000	625.000	505.333
4	1.075.000	2.700.000	653.333
5	700.000	650.000	789.333
6	45.000	150.000	816.000
7			845.333

Tabla 2. Tasa de crecimiento poblacional (r) y capacidad de carga (K) de cultivos de *Skeletonema costatum*.

	Cultivo 1	Cultivo 2	Castellvi (1971)	Promedio
r (día ⁻¹)	5,26	2,87	1,40	3,18
K (cél/mL)	1.388.750	2.727.000	853.787	1.656.512
A	11,63	8,58	4,87	8,36

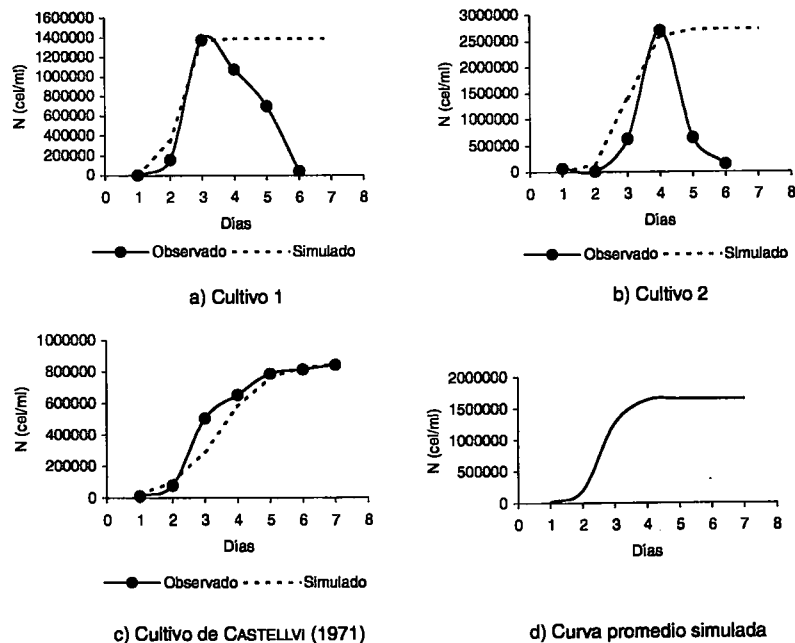


FIGURA 1. Curvas de crecimiento poblacional de *Skeletonema costatum* en dos cultivos con medio "f/2" de Guillard modificado (a y b), un cultivo en medio enriquecido (c) y la curva promedio según el modelo logístico (d).

En promedio, la curva de crecimiento poblacional de *Skeletonema costatum* está representado según el siguiente modelo (Fig. 1d) :

$$N_t = 1656512 / (1 + e^{8,36 - 3,18 t})$$

La tasa de crecimiento poblacional de *S. costatum* en el presente estudio fue mayor a la obtenida por CASTELLVI (1971), posiblemente debido a que el medio "f/2" de GUILLARD modificado proporciona más elementos nutritivos, como por ejemplo la vitamina B₁₂ que es naturalmente producida por bacterias y que mejora notablemente el crecimiento de *S. costatum* (FOGG 1965).

S. costatum cultivado en laboratorio presentó una mayor tasa de crecimiento poblacional (r) que en ambiente natural, la cual de acuerdo a MARGALEF (1986) varía entre 0,6-1,2 día⁻¹. Por otro lado, la capacidad de carga de *S. costatum* fue menor a la de otras especies cultivadas en laboratorio, como *Isochrysis galbana* que alcanza concentraciones de más de dos millones de células por mililitro (CISNEROS 1996).

3.2 Prueba ecotoxicológica

Los porcentajes de inhibición obtenidos a partir de las abundancias al quinto día de exposición al cadmio se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Porcentajes de inhibición (I) de cultivos de *S. costatum* expuestos a diferentes concentraciones (C) de cadmio, obtenidos en la prueba ecotoxicológica.

C (mg.L ⁻¹)	I (%)
3100	73,8
6200	93,3
12500	97,2
25000	99,4
50000	99,7
100000	99,9

En base a estos valores se estimó una concentración efectiva media (CE50%) de cadmio para *S. costatum* de 1424 mg.L⁻¹. Las microalgas pueden tener valores muy variables de CE50%. Por ejemplo, con *Chlorella vulgaris* WREN Y MCCARROLL (1990) encontraron una CE50% = 50000 mg.L⁻¹ de cadmio; en cambio VYMAZAL (1987) informó de una CE50% = 60 mg.L⁻¹ de cadmio usando la misma especie. AOYAMA Y OKAMURA (1984) determinaron una CE50% entre 1960 - 2600 mg.L⁻¹ usando *Chlorella elipsoidea*. En base a los datos de RODRÍGUEZ Y RIVERA (1995) se puede estimar una CE50% = 1860 mg.L⁻¹ de cadmio usando *Tetraselmis suecica*. En aguas peruanas, VERA *et al.* (no publicado) encontraron una menor CE50% = 600 mg.L⁻¹ de cadmio usando *Chaetoceros gracilis*. ALAYO Y IANACONE (1999) informan de una CE50% a 96 h de 122 mg.L⁻¹ de cromo usando *S. costatum* con aireación. Para la protección de la vida acuática, las concentraciones de cadmio en cuerpos de agua deben ser menores a estos valores de CE50%. En general, HALL *et al.* (1998) mencionan que una concentración máxima de 17 mg.L⁻¹ de cadmio permitiría proteger al menos el 90% de las especies de fitoplancton marino el 90% del tiempo.

3.3 Simulación de los efectos ecotoxicológicos del cadmio

La simulación de los efectos ecotoxicológicos del cadmio, consistió en una comparación del crecimiento poblacional en biomasa de una población de *S. costatum* libre de cadmio, y poblaciones simuladas expuestas a concentraciones de 1000 mg.L⁻¹, 1500 mg.L⁻¹ y 3100 mg.L⁻¹ de cadmio, asumiendo que la microalga absorbe y retiene todo el cadmio del medio.

Para convertir los datos de abundancia (cél.mL⁻¹) a biomasa (mg.L⁻¹) se consideró un volumen celular de 400 μm^3 .cél.L⁻¹ (STRICKLAND *et al.* 1969) y densidad protoplásmica de 1,05 g.mL⁻¹, lo cual resulta en una biomasa inicial de 12,6 mg.L⁻¹ con una capacidad de carga de 696 mg.L⁻¹. La tasa de mortalidad poblacional fue estimada ($d = 1,07 \text{ dia}^{-1}$) en base a los datos de declinación poblacional del cultivo 1 a partir del día 3, asumiendo un modelo de decaimiento exponencial.

En la Figura 2, se observan las simulaciones del crecimiento poblacional a diferentes concentraciones de cadmio. A una concentración de 1000 mg.L⁻¹ de cadmio la población alcanza el 64 % de la capacidad de carga, sin embargo al incrementar la concentración a 3100 mg.L⁻¹ de cadmio, la biomasa poblacional de equilibrio se reduce a un 6 % de la capacidad de carga. La simulación a esta concentración concuerda con los datos observados en la prueba ecotoxicológica de laboratorio.

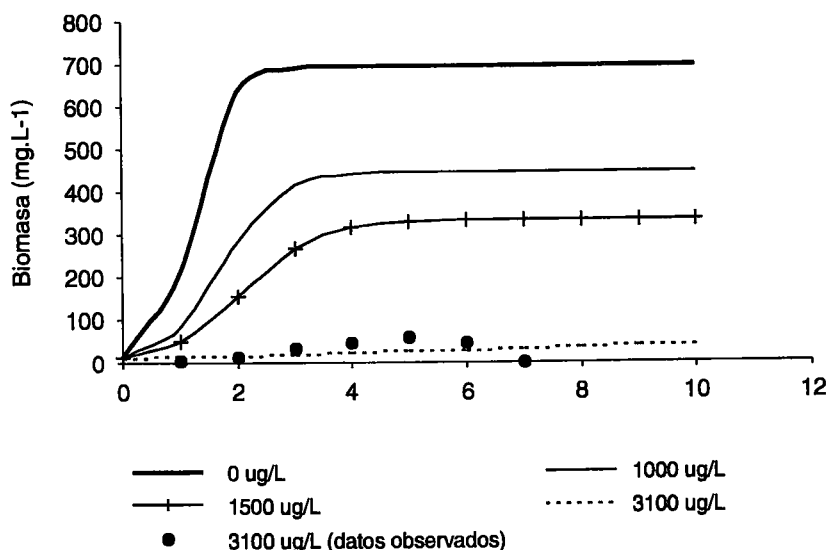


FIGURA 2. Simulaciones del crecimiento poblacional de *S. costatum* a diferentes concentraciones de cadmio.

La Ley de Aguas (EL PERUANO 1969) establece como límite 0,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de cadmio para aguas de zona de preservación de fauna acuática y pesca recreativa o comercial, mientras que la Agencia de Protección Ambiental sugiere como criterio de calidad crónico en agua marina un valor de 9,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (USEPA 1999). En el Perú las concentraciones de cadmio varían alrededor de 2,1 mg.L⁻¹ (GUILLÉN *et al.* 1986), con mayores concentraciones en Ilo (VALCARCEL *et al.* 1974), lo que sugiere que el límite legal podría ser menos estricto. Por otro lado, cabe destacar que en el medio natural la biomasa de microalgas es mucho menor que en laboratorio, por lo que una reducción poblacional por efecto del cadmio sería muy perjudicial para el sustento de los

herbívoros. Por otro lado, el cadmio se transmitiría a través de la red trófica bioacumulándose en filtradores, como copépodos y bivalvos, lo que pondría en riesgo la salud humana.

La simulación del crecimiento poblacional con modelos numéricos a partir de parámetros ecotoxicológicos permite entender el efecto de los cambios autoecológicos sobre el comportamiento demoeológico de la especie (WALLER *et al.* 1971), lo cual a su vez servirá de nexa para explicar la estructura y función de las comunidades marinas.

4. CONCLUSIONES

1. *Skeletonema costatum* cultivada en laboratorio tuvo una tasa de crecimiento poblacional de 3,18 día⁻¹ y una capacidad de carga de 1.656.512 cél/mL. La concentración efectiva media de cadmio fue de 1424 mg.L⁻¹.

2. El efecto ecotoxicológico de un incremento a 3100 mg.L⁻¹ en la concentración de cadmio consistió en una reducción de la biomasa poblacional en equilibrio, de hasta un 6 % de la capacidad de carga.

3. El modelo de simulación permitió evaluar el efecto ecotoxicológico del cadmio sobre el crecimiento poblacional, integrando información autoecológica (*i.e.* concentración efectiva media) con el comportamiento demoeológico (*i.e.* crecimiento poblacional).

5. RECOMENDACIONES

1. Es necesario realizar simulaciones de los efectos ecotoxicológicos en condiciones reales fuera del laboratorio, considerando modelos más complejos que incluyan variabilidad en la entrada, salida y transformación del cadmio en el organismo, así como la variación espacial del metal y de los organismos.

2. Se recomienda estudiar el efecto ecotoxicológico en niveles tróficos superiores, para evaluar el riesgo ecológico de la bioacumulación de metales sobre recursos comerciales, como la concha de abanico.

6. Agradecimientos

Se agradece a la Blga. Srta. CARLA AGUILAR por sus valiosas sugerencias sobre el cultivo de microalgas, y al Técnico Sr. JOSÉ ORTEGA por su apoyo en el trabajo de laboratorio.

7. Referencias

- ACKMAN, R. G., P. M. JANGAARD, R. J. HOYLE Y H. BROCKERHOFF. 1964. Origin of marine fatty acids. I. Analyses of the fatty acids produced by the diatom *Skeletonema costatum*. J. Fish. Res. Bd. Canada. 21:747-756.
- ALAYO, M. y J. IANNAONE. 1999. La microalga marina *Skeletonema costatum* como bioensayo alternativo para la evaluación de cromo. En: A. TRESIERRA Y C. CULQUICHICÓN (eds.) Libro de Resúmenes Ampliados VIII Congreso Latinoamericano sobre Ciencias del Mar. COLACMAR. 17-21 octubre 1999. Trujillo. Vol. II: 874-875.
- AOYAMA, I. y H. OKAMURA. 1984. Toxicity evaluation of heavy metals in phytoplankton. En: D. LIU Y B. J. DUTKA (eds.) Toxicity screening procedures using bacterial systems: 433-444.
- AOYAMA, I., H. OKAMURA Y M. YAGI. 1987. The interaction effects of toxic chemical combinations on *Chlorella ellipsoidea*. Toxicity Assessment: an International Quarterly. 2:341-355.

- BOZEMAN, J., B. KOOPMAN Y G. BITTON. 1989. Toxicity testing using immobilized algae. *Aquatic Toxicology*. 14:345-352.
- BROWN, M. R. Y K. A. MILLER. 1992. The ascorbic acid content of eleven species of microalgae used in mariculture. *J. Applied Phycol.* 4:205-215.
- CASTELLVI, J. 1971. Contribución a la biología de *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve. *Inv. Pesq.* 35(2):365-520.
- CISNEROS, R. 1996. Cultivo masivo de la microalga nativa *Isochrysis* sp., como fuente de alimento de post-larvas de moluscos bivalvos. *Inf. Prog. Inst. Mar Perú.* 36:65-71.
- DELGADO, E., F. CHANG, P. VILLANUEVA Y S. SÁNCHEZ. 1995. Fitoplancton durante el crucero de evaluación de recursos pelágicos (13 febrero - 5 abril 1995) BIC SNP-1. *Inf. Inst. Mar Perú* 116:81-91.
- EL PERUANO. 1969. DL. 17752. Ley General de Aguas. 24 Julio 1969.
- FOGG, G. E. 1965. Algal cultures and phytoplankton ecology. Univ. Wisconsin Press. 126 pp.
- GUILLARD, R. L. 1972. Phytoplankton for feeding marine invertebrates. En: W.L. SMITH Y M.H. CHANLEY (eds.). *Culture of marine invertebrates animals*. Plenum Press: 33-60.
- GUILLÉN, O., R. AQUINO Y M. JACINTO. 1986. Distribución de trazas de metales en el Puerto del Callao. *Bol. Inst. Mar Perú.* 10:1-20.
- HALL, L., M. SCOTT Y W. KILLEN. 1998. Ecological risk assessment of copper and cadmium in surface waters of Chesapeake Bay watershed. *Env. Tox. Chem.* 17:1172-1189
- HARWOOD, M., C. BLAISE and P. COUTURE. 1989. Algal interactions with the genotoxic activity of selected chemicals and complex liquid samples. *Aquatic Toxicology*, 14:263-276.
- HOLLEMEWUEGER, E. y G. SÁNCHEZ, 1991. Research and monitoring pollution in Peru 1984-1988. Regional Cooperation on Environmental Protection of Marine and Coastal Areas of the Pacific Basin. UNEP, 1991. Regional Seas Reports and Studies 134:35-41.
- HUTCHINSON, G. E. 1981. Introducción a la ecología de poblaciones. Blume. 492 pp.
- INTERNATIONAL STANDARD. 1995. Water quality - marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricoratum*. ISO 10253:1-7.
- JACINTO, M. E. y M. GUZMÁN. 1998. Análisis comparativo del contenido metálico en sedimentos y organismos en Bahías con fuerte influencia antropogénica. Resúmenes del Seminario Internacional sobre el Estado del Medio Ambiente Marino y Costero en el Pacífico Sudeste. Ecuador.
- JOUBERT, G. 1980. A bioassay application for quantitative toxicity measurements using the green algae *Selenastrum capricornutum*. *Water Res.* 14:1759-1763.
- LABBE, A. Y A. ALVIAL. 1994. Proliferaciones fitoplanctónicas nocivas. Manual para el acuicultor. Fundación Chile. 187 pp.
- MAKI, A. W., L. D. GEISSEL Y H. E. JOHNSON. 1975. Toxicity of the lampricide 3-Trifluoromethyl-4-nitrophenol (TFM) to 10 species of algae. *Investigations in fish control*. Washington.
- MARGALEF, R. 1986. Ecología. Omega. 1114 pp.
- PANIÁGUA, J., L. BUCKLE, C. GRANADOS Y D. LOYA. 1989. Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas. *Inf. Especial. OC-89-01. México.* 63 pp.
- PATRICK, R. 1978. Effects of trace metals in the aquatic ecosystem. *Am. Sci.* 66:185-191.
- PEREIRA, S. A., I. A. NASCIMENTO Y D. H. SMITH. 1988. Aislamiento y mejores condiciones de cultivo de diatomeas de la Bahía de Todos los Santos. *Larvicultura de camarones peneidos*. Vol. I.
- RODRÍGUEZ, L. Y D. RIVERA. 1995. Efecto del cobre y cadmio en el crecimiento de *Tetraselmis suecica* (Kytlin) Butcher y *Dunaliella salina* Teodoresco. *Estudios Oceanológicos*. 14:61-74.
- ROJICKOVA, R., D. DVORAKOVA Y B. MARSALEK. 1998. The use of miniaturized algal bioassay in comparison to the standard flask assay: 235-241. John Wiley and Sons.
- SATHYA, K. Y K. BALAKRISHNAN. 1988. Physiological response of diatom *Nitzschia palea* (Kutz) W. Sm. to sub-lethal levels of copper. *Indian J. Marine Science*. 17:322-325.
- SPAIN, J. D. 1982. BASIC microcomputer models in biology. Addison-Wesley. 354 pp.
- STAUBER, J. Y T. FLORENCE. 1990. Mechanism of toxicity of zinc to the marine diatom *Nitzschia closterium*. *Marine Biology* 105: 519 - 524.
- STOCKNER, J. Y N. ANTIA. 1976. Phytoplankton adaptation to Environmental Stresses from Toxicants, Nutrients and Pollutans - a warning. *J. Fish. Res. Board Can.* 33:2089-2096.
- STRICKLAND, J.D., R. EPFLEY Y B. R. DE MENDIOLA. 1969. Poblaciones de fitoplancton, nutrientes y fotosíntesis en aguas costeras peruanas. *Bol. Inst. Mar Perú* 2(1). 45 pp.
- USEPA. 1999. Water quality criteria - Republications. EPA2256864.
- VALCARCEL, G., F. VALDEZ Y R. VERNAL. 1974. Investigación sobre la contaminación de las aguas en el litoral peruano. Dirección General de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Ministerio de Pesquería. Lima. 249 pp.
- VAN LEEUWEN, C. J., M. RIJKEBOER Y G. NIEBEEK. 1986. Population dynamics of *Daphnia magna* as modified by chronic bromide stress. *Hydrobiologia*. 133:277-285.
- VERA, G., J. TAM, E. PINTO Y J. ANGULO. 2000. Pruebas ecotoxicológicas con cadmio usando la diatomea *Chaetoceros gracilis* Schutt. Área de Ecofisiología Acuática. DGIO. IMARPE. (no publicado).
- VYMAZAL, J. 1987. Toxicity and accumulation of cadmium with respect to algae and cyanobacteria: a review. *Toxicity Assessment: An International Quarterly* 2:387-415.
- WALLER, W. T., M. L. DAHLBERG, R. E. SPARKS Y J. CAIRNS, JR. 1971. A computer simulation of the effects of superimposed mortality due to pollutants on populations of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* 28:1107-1112.
- WALSH, G., M. YODER, I. McLAUGHLIN Y E. LORES. 1987. Responses of marine unicellular algae to brominated organic compounds in six growth media. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 14: 215- 222.
- WALSH, G. E. Y S. V. ALEXANDER. 1980. A marine algal bioassay method: results with pesticides and industrial wastes. *Water, Air and Soil Pollution*. 13:45-55.
- WANG, K. S. Y T. J. CHAI. 1994. Reduction in omega-3 fatty acids by UV-B irradiation in microalgae. *J. Applied Phycology*. 6:415-421.
- WEBER, C. I. 1993. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. EPA600/490027F. 293 pp.
- WREN, M. J. Y D. MCCARROLL. 1990. A simple and sensitive bioassay for the detection of toxic materials using a unicellular green alga. *Environ. Pollut.* 64:87-91.