

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

Giovanna Vera¹
Jorge Tam²
Edwin Pinto²

RESUMEN

Se realizaron pruebas ecotoxicológicas para determinar los efectos del petróleo crudo, petróleo Diesel 2 y kerosene sobre el crecimiento poblacional de la diatomea *Chaetoceros gracilis*. Se determinó la concentración efectiva media (CE50%) a un tiempo de exposición de 96 horas, siendo más tóxica la solución con petróleo Diesel 2 (90 mg.L⁻¹), seguida de la solución con kerosene (98 mg.L⁻¹) y la solución con petróleo crudo (867.5 mg.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 diferentes compuestos orgánicos.

Palabras claves: Pruebas ecotoxicológicas, hidrocarburos de petróleo, *Chaetoceros gracilis*.

SUMMARY

Ecotoxicological tests were carried out to determine the effects of crude oil, Diesel 2 oil and kerosene on the population growth of the diatom *Chaetoceros gracilis*. The mean effective concentration (CE50%) at an exposure time of 96 hours was determined. The solution with Diesel 2 oil was more toxic (90 mg.L⁻¹), followed by the solution with kerosene (98 mg.L⁻¹) and the solution with crude oil (867.5 mg.L⁻¹). In addition, the effects of the different organic compounds on the intrinsic population growth rate and division rate of *Ch. gracilis* were assessed.

Key words: Ecotoxicological bioassays, oil hydrocarbons, *Chaetoceros gracilis*.

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 y Orozco, 1997). Otros registros que datan de 1995 al 2001 sobre derrames de petróleo en nuestro mar fueron publicados por Vizcarra (2002).

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.

¹ Universidad Ricardo Palma, Apdo. 1801, Lima, Perú. E-mail: gioverad@yahoo.com.

² Instituto del Mar del Perú, Apdo. 22, Lima, Perú.

En el Perú, existen pocos estudios acerca del efecto de los hidrocarburos sobre los organismos marinos nativos (Ibañez y Huanes, 1999 y Alayo, 2000). En el presente trabajo, se eligió como organismo prueba la diatomea *Chaetoceros gracilis* 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 petróleo Diesel y el kerosene) sobre el crecimiento poblacional de la diatomea *Chaetoceros gracilis* y determinar la concentración efectiva media (CE50%).

ANTECEDENTES

Los derrames de petróleo a nivel mundial son un tema cotidiano, el reporte más antiguo causado por el hombre fue en 1907, pero el más famoso fue en 1967 en Torrey Canyon con 117000 toneladas de petróleo crudo vertidos en Kuwait. En 1979, en el Golfo de México se derramaron 700 millones de litros de petróleo; en 1983 otro accidente ocurrió en las costas de la Ciudad del Cabo; en Sudáfrica se derramaron 300 millones de litros; y en Alaska se derramaron 41 millones de litros de petróleo, entre otros. Cada año se vierten aproximadamente 6 millones de toneladas de petróleo al mar (Neff 1987).

Se calcula que el mar recibe cinco millones de Tm de crudo cada año y de este tanto solo el 10% son inherentes a tanques accidentados, el resto se vincula a fuentes menos publicitadas y diferenciables por su procedencia como por ejemplo: residuos municipales e industriales, desechos de refinerías, escapes fortuitos por rotura de tuberías submarinas (carga y descarga), fallas en ensamblaje, lavado y mantenimiento descuidados de sentinas y sala de máquinas, etc. (Vizcarra, 2002).

En la explotación del petróleo se derrama cerca de la mitad en el área de perforación, lo que implica grandes pérdidas y contaminación del aire, agua y suelo. La manera tradicional de extraer o recuperar el petróleo es mediante bombeo con agua lo cual representa una pérdida considerable de agua.

Los efectos del petróleo sobre los ecosistemas marinos dependen de factores como: tipo de petróleo (crudo o refinado), cantidad, distancia del sitio contaminado a la playa, época del año, condiciones atmosféricas, temperatura media del agua y corrientes oceánicas.

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 (Ministerio de Energía y Minas 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 *et al.*, 1996a; 1996b; 1997; 1998; Guzmán *et al.*, 1997 y Cabello *et al.*, 1999).

MATERIAL Y METODOS

Material biológico

La diatomea *Chaetoceros gracilis* se obtuvo del Cepario del Laboratorio de la Línea de Investigaciones en Ecotoxicología Acuática del 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.

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 petróleo 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 para lograr una densidad inicial promedio de 30000 cél.mL⁻¹, ésta densidad corresponde al final de la fase de exponencial. Las muestras de microalgas para el conteo, se colectaron en viales de 5 mL, al inicio y cada 24 horas, durante 96 horas. 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 horas, 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.

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 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 (CE50%) 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 exponencial, usando los datos del control mediante la siguiente fórmula (Rabinovich, 1978):

$$r = \frac{\ln \left(\frac{N_{t2}}{N_{t1}} \right)}{(t_2 - t_1)}$$

Donde:

r = Tasa intrínseca de crecimiento poblacional (día⁻¹)
 Nt1 = Densidad celular en día t1 (cél.mL⁻¹)
 Nt2 = Densidad celular en día t2 (cél.mL⁻¹)

La tasa de división por día se calculó a través de la fórmula:

$$D = 1/T$$

Donde:

D = Tasa de división (div.día⁻¹)
 T = Tiempo de división (días)

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 horas 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 (Fig. 1).

La tasa intrínseca del crecimiento poblacional (r) para el control fue de 1.001 día⁻¹ mientras que para las células expuestas al petróleo crudo estuvo entre 0.75 a 0.89 día⁻¹. La tasa de división por día (D) para el control fue de 1.45 div.día⁻¹, mientras que para las poblaciones expuestas al petróleo estuvo en rango de 1.08 a 1.28 div.día⁻¹ (Tab. 3). Se obtuvo una CE50% de 867.5 mg.L⁻¹ (Fig. 2).

Petróleo Diesel

Concentraciones de petróleo Diesel mayores de 196, 280 y 400 mg.L⁻¹ inhibieron el crecimiento de la población expuesta en 97 %, 100 % y 100 %, respectivamente, dentro de las 24 horas de exposición, no se observó recuperación celular (Fig. 3).

La tasa intrínseca del crecimiento poblacional (r) para el control fue de 0.84 día⁻¹ mientras que para las poblaciones expuestas a diferentes concentraciones del petróleo Diesel estuvo entre 0.30 a 0.85 día⁻¹. La tasa de división por día (D) para el control fue de 1.21 div.día⁻¹, mientras que para las poblaciones expuestas al petróleo estuvo en rango de 0.44 a 1.23 div.día⁻¹ (Tab. 3). Se obtuvo una CE50% de 90 mg.L⁻¹ (Fig. 4).

Kerosene

Concentraciones de kerosene de 640 y 320 mg.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 mg.L⁻¹ causaron una inhibición entre el 8 % al 29 % (Fig. 5).

La tasa intrínseca del crecimiento poblacional (r) para el control fue de 0.81 día⁻¹ mientras que para las poblaciones expuestas a diferentes concentraciones del kerosene comercial estuvo entre 0.38 a 0.78 día⁻¹. La tasa de división por día (D) para el control fue de 1.17 div.día⁻¹, mientras que para las poblaciones expuestas al kerosene estuvo en rango de 0.55 a 1.12 div.día⁻¹ (Tab. 3). Se obtuvo una CE50% de 98 mg.L⁻¹ (Fig. 6).

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.

Los hidrocarburos alifáticos en el petróleo son relativamente no tóxicos. Los alifáticos de bajo peso molecular desde metano hasta octano son completamente volátiles y son rápidamente perdidos desde la preparación petróleo-agua por evaporación. Algunos de estos componentes pueden producir efectos narcóticos en animales marinos en concentraciones cerca a su solubilidad acuosa (Crisp *et al*, 1967).

Los alifáticos de alto peso molecular son tan insolubles que no es posible disolverlos con suficiente agua de mar para causar toxicidad en organismos marinos y éstos finalmente se acumulan en los sedimentos.

En las pruebas realizadas en el presente trabajo se determinó que el efecto inhibitorio del petróleo crudo, el petróleo Diesel 2 y el kerosene se encuentran dentro de las primeras 24 horas de exposición, siendo más tóxico el petróleo Diesel 2 debido a que presenta mayor concentración de fracciones volátiles, algo muy semejante ocurre con el kerosene, ésto apoyaría a Craddock (1977 en Neff 1987) quien señala que la toxicidad aguda se incrementa conforme aumenta la concentración de hidrocarburos aromáticos.

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

concentraciones del petróleo. Igualmente ocurre en los trabajos realizados en otras condiciones de temperatura y salinidad realizada por D' Croz (1988) quien determinó un crecimiento celular después del 2do día tendiendo a igualar el crecimiento del cultivo control y después del 3er 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.

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

- Petróleo crudo: Microalga (*Chaetoceros gracilis*) > Pez (*Orthopristis ruber*) > Pez (*Mugil curema*) > Bivalvo
- Petróleo Diesel: Microalga (*Chaetoceros gracilis*) > Pez (*Mugil curema*) > Bivalvo
- Kerosene: Microalga (*Chaetoceros gracilis*) > Pez (*Mugil curema*) > Bivalvo

En el Perú, la Ley General de Aguas vigente (El Peruano 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 mg.L⁻¹ para hidrocarburos acuosos totales (HAT) (ADEC 2003).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las soluciones con petróleo crudo, petróleo Diesel 2 y kerosene produjeron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento poblacional de la diatomea *Chaetoceros gracilis*, siendo las concentraciones efectivas media (CE50%) de 867.5, 90.0 y 98.0 mg.L⁻¹, respectivamente. Este efecto inhibitorio fue mayor dentro de las 24 horas, 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.

Chaetoceros gracilis fue la especie más sensible a los derivados aromáticos del hidrocarburo de petróleo (petróleo crudo, petróleo Diesel, kerosene), por lo que puede ser utilizada como organismo prueba para evaluar la toxicidad de otros compuestos orgánicos, 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.

LITERATURA CITADA

- ALAYO, M. 2000. Ensayos ecotoxicológicos con petróleo crudo, Diesel 2 y Diesel 6, para la evaluación comparativa de dos subespecies del rotífero *Brachionus plicatilis* MÜLLER, 1786.
- ALAYO, M., J. IANNAcone Y A. ARRASCUE. 2004. Sensibilidad al cromo: microbiopruebas con las diatomeas marinas *Isochrysis galbana* Parke y *Chaetoceros gracilis* Schütt. Ecol. Aplicada. 3:154-161.
- CABELLO, R., 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):24 p.
- CRISP, D. J., O. CHRISTHIE AND A. GHOBASHY. 1967. Comp. Biochem. Physiol. 22:629.
- D' CROZ, L., J. TORRES Y J. GÓMEZ. 1988. Efecto del crudo venezolano (BCF-24) sobre el crecimiento de la diatomea marina tropical *Chaetoceros gracilis* (Thomas,1966).
- ADEC (Alaska Department of Environmental Conservation). 2003. Water quality standards. 18 AAC 70.
- GONZÁLEZ, M., O. PARRA Y A. CIFUENTES. 1995. Técnicas de cultivo de microalgas en laboratorio. p. 219-250. En: Alveal, K. y M. E. Ferrario. (Eds.). Manual de métodos ficológicos. Universidad de Concepción. 863 p.
- GUZMÁN, M. 1995. Evaluación de la Contaminación Marina frente a la bahía de Paíta. Inf. Prog. Inst. Mar Perú. (7):16 p.
- GUZMÁN, M., J. CHÁVEZ, O. MORÓN, S. SÁNCHEZ Y G. FLORES. 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. AND L. HUANES. 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., J. CHÁVEZ, C. MARTÍNEZ Y M. GUZMÁN. 1996. Evaluación de la calidad del medio marino en el área de Paíta (setiembre, 1995). Inf. Prog. Inst. Mar Perú. (39):3-12.
- JACINTO, M. E., R. CABELLO, M. GUZMÁN, O. MORÓN, P. VILLANUEVA Y J. CÓRDOVA. 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., J. CHAVEZ, O. MORÓN, S. SÁNCHEZ Y J. SOLIS. 1998. Evaluación de la calidad del medio marino en bahía Supe-Paramonga en enero 1997. Inf. Prog. Inst. Mar Perú. (80):15-35.
- JACINTO, M. E., M. GUZMÁN, O. MORÓN, E. DELGADO Y J. CÓRDOVA. 1997. Evaluación de la calidad del medio marino en la Bahía de Ferrol, Chimbote. Octubre 1995. Inf. Prog. Inst. Mar Perú. (49):3-30.
- 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. 2006. Mapas del Perú: Hidrocarburos. En línea: http://www.minem.gob.pe/hidrocarburos/mapas_inicio.asp.
- NEFF, J. 1987. Biological Effects of Oil in the Marine Environment. Chem. Engineering Progress. Nov.:27- 33.
- OCHOA, N., O. GÓMEZ, S. SÁNCHEZ Y E. DELGADO. 1999. Diversidad de diatomeas y dinoflagelados marinos del Perú. Bol. Inst. Mar Perú. 18(1-2):1-14.
- QUEVEDO, J., J. SEGOVIA, J. PÉREZ Y W. ZURBURG. 1983. Efectos del petróleo y algunos dispersantes en juveniles del Cococoro, *Orthopristis ruber* (Pisces: Pomadasyidae). Bol. Inst. Oceanogr. de Venez. Univ. de Oriente. 22(1 y 2):177-184.
- RABINOVICH, J. E. 1978. Ecología de poblaciones animales. Monografía OEA. Washington. (21):114 p.
- SÁNCHEZ, G. Y R. OROZCO. 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. 74 p.
- VERA, G., J. TAM, E. PINTO Y J. ANGULO. 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. 525 p.

Tabla 1. Composición del Medio de cultivo f/2 Guillard (1975 en Gonzáles *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	ZnSo4. 7H2O	2.2 g .(100 mL) ⁻¹	0.000022	7.65 x 10 ⁻⁸
	1	CoCl2. 6H2O	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

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 horas
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%)

Tabla 3. Tasa intrínseca del crecimiento poblacional (r), tasa de división por día (D) y concentración efectiva media (CE50%) obtenidas en las pruebas ecotoxicológicas.

Agentes tóxicos	r (día ⁻¹)	D (div.día ⁻¹)	CE50% (mg.L ⁻¹)
Petróleo crudo	0.75-0.89	1.08-1.28	867.5
Kerosene comercial	0.38-0.775	0.55-1.12	98
Diesel 2	0.30-0.85	0.44-1.23	90

Tabla 4. Concentración efectiva media (CE50%, 96 h) de hidrocarburos de petróleo y derivados usando diferentes especies acuáticas.

Organismo prueba	Estadio	Agente tóxico	CE50% (mg.L ⁻¹)	Autor
<i>Orthopristis ruber</i>	Juvenil	Petróleo liviano	680	Quevedo <i>et al.</i> (1983)
<i>Mugil cephalus</i>	Juvenil	Kerosene industrial	628.6	Ibañez y Huanes (1999)
<i>Mugil curema</i>	Juvenil	Petróleo crudo liviano Wax	1350	Aguilera y Huq (1982 en Ibañez y Huanes 1999)
<i>Mugil curema</i>	Juvenil	Petróleo crudo oficina	1350	Aguilera y Huq (1982 en Ibañez y Huanes 1999)
<i>Mugil cephalus</i>	Juvenil	Petróleo Diesel 2	694	Ibañez y Huanes (1999)
<i>Moluscos bivalvos</i>		Petróleo crudo	1000-100000	Neff (1987)
<i>Moluscos bivalvos</i>		Petróleo Diesel/Kerosene	30000-40000	Neff (1987)
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Adulto	Petróleo crudo	867.5	Presente estudio
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Adulto	Petróleo Diesel 2	90	Presente estudio
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Adulto	Kerosene	98	Presente estudio

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

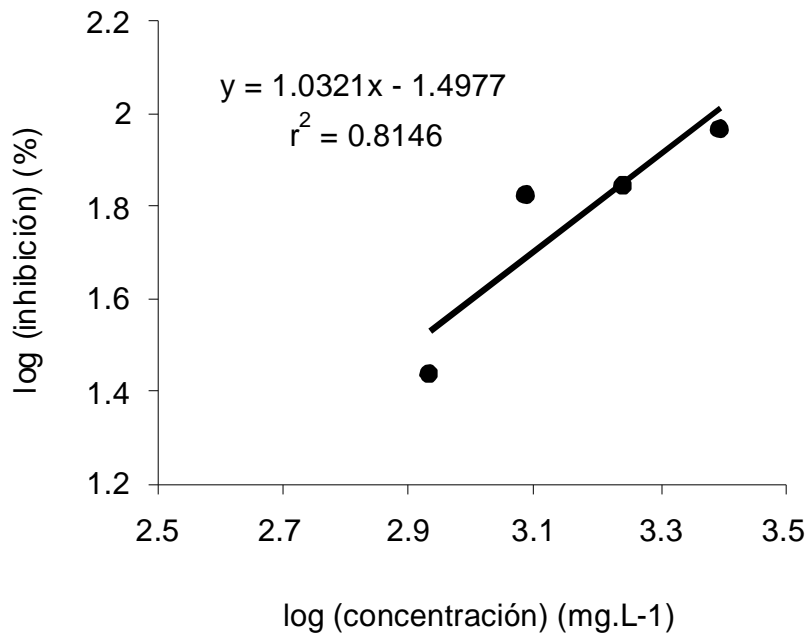


Figura 2. Curvas de crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* expuesta a diferentes concentraciones de petróleo crudo (mg.L⁻¹).

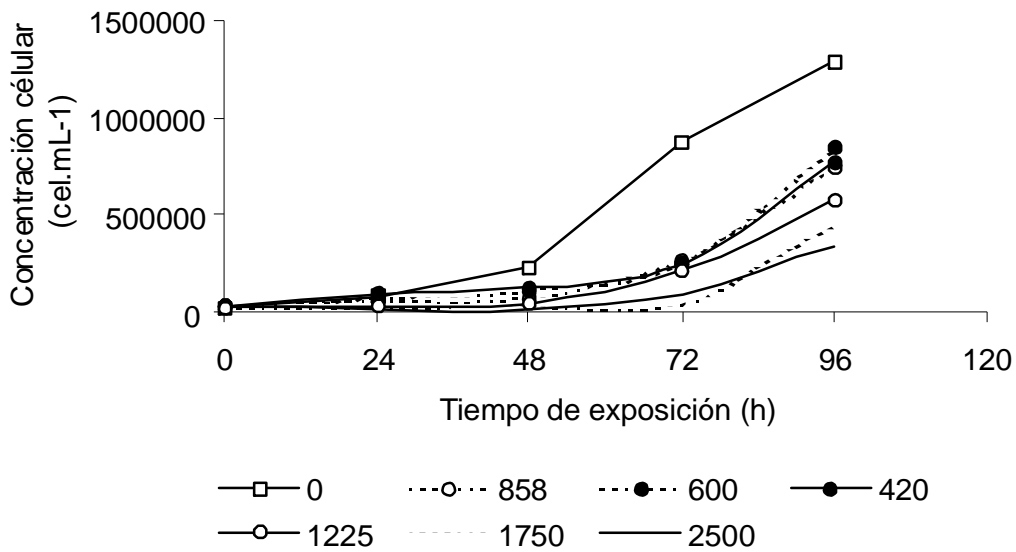


Figura 3. Porcentaje de inhibición del crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* expuesta por 96 horas a una solución con petróleo Diesel 2.

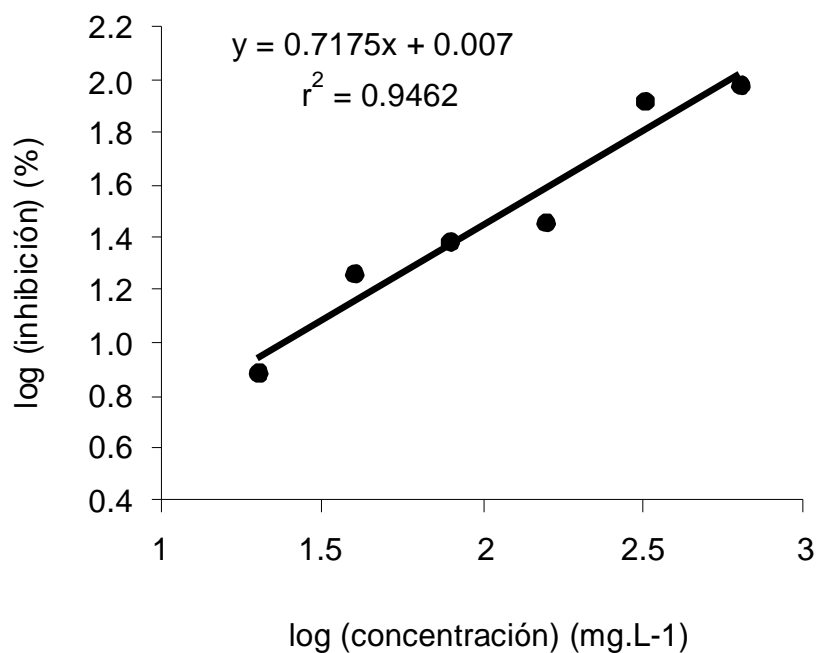


Figura 4. Curvas de crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* expuesta a diferentes concentraciones de petróleo Diesel 2 (mg.L⁻¹).

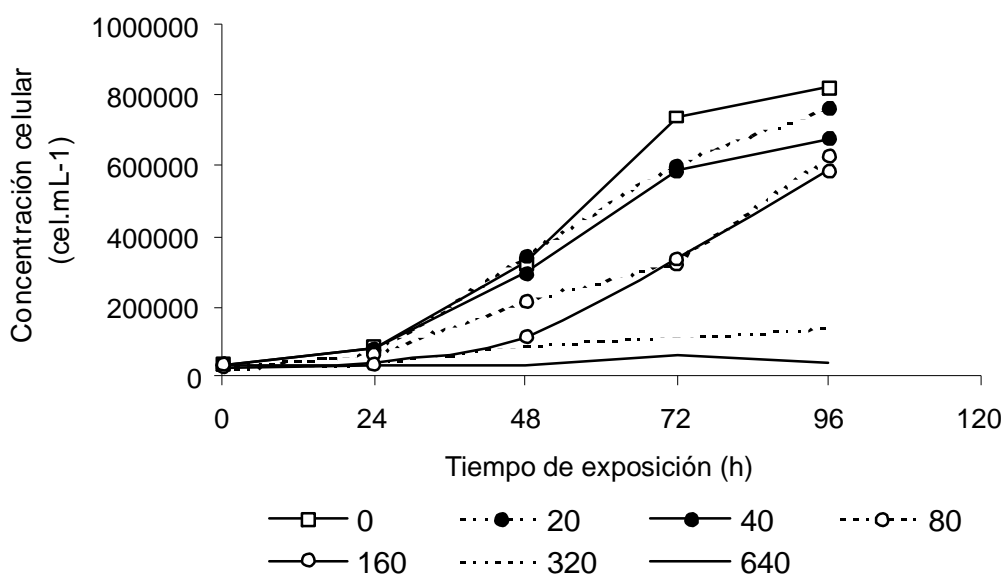


Figura 5. Porcentaje de inhibición del crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* expuesta por 96 horas a una solución con kerosene comercial.

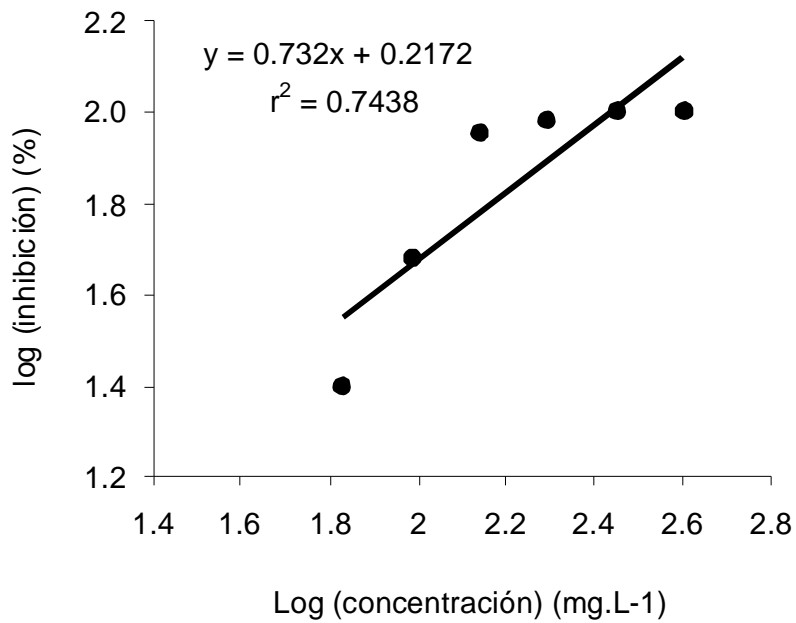


Figura 6. Curvas de crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* expuesta a diferentes concentraciones de kerosene comercial (mg.L⁻¹).

