

Artículo original

EFFECTO ECOTOXICOLOGICO DEL PETRÓLEO CRUDO SOBRE EL PRIMER ESTADIO DE *EMERITA ANALOGA* STIMPSON, 1857 (DECÁPODA: ANOMURA)

ECOTOXICOLOGICAL EFFECT OF CRUDE OIL ON THE FIRST STAGE OF *EMERITA ANALOGA* STIMPSON, 1857 (DECAPODA: ANOMURA)

Rosario Montes¹

¹Laboratorio de Ecología, Departamento de Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Piura (UNP)
Correo electrónico: rmontest@hotmail.com

ABSTRACT

Ecotoxicological effect of crude oil was evaluated in larvae zoea I of *Emerita analoga*. The samples were collected of the Cangrejos beach (05°08'30,02"-5°10'46,21" SL and 81°10'35,04'-81°10'24,0" WL), Piura, Peru. Environmental parameters such as temperature, oxygen, pH and salinity were recorded *in situ*. The organisms were exposed at five concentrations of crude oil: 0,65 mg·L⁻¹; 1,30 mg·L⁻¹; 2,60 mg·L⁻¹; 5,20 mg·L⁻¹ and 10,40 mg·L⁻¹ with 3 replicates, were incubated in a thermoregulator table at a temperature of 20 ± 1°C, previously calibrated, the individuals did not feed throughout assay, the test was of static type and was carried out for 4 days. A daily count of the dead organisms was made, taking a registration every 24 h. Rate of mortality and environmental parameters as temperature, oxygen, pH and salinity was registered. It was determined that the median lethal concentration CL₅₀ for the zoeas I of *E. analoga*, at 96 h of exhibition of crude oil was 1,33 mg·L⁻¹. The results show that at the maximum experimental concentration of crude oil the species presents higher mortality.

Key words: Contamination, ecotoxicology, *Emerita analoga*, petroleum, zoea.

RESUMEN

Se evaluó el efecto ecotoxicológico en larvas zoea I de *Emerita analoga*, empleando petróleo crudo. Los ejemplares fueron colectados de la playa Cangrejos (05°08'30,02"- 05°10'46,21" LS y 81°10'35,04" - 81°10'24,0" LW), Piura, Perú. Se registraron parámetros ambientales *in situ* de temperatura, oxígeno, pH y salinidad. Los organismos fueron expuestos a 5 concentraciones de petróleo crudo: 0,65 mg·L⁻¹; 1,30 mg·L⁻¹; 2,60 mg·L⁻¹; 5,20 mg·L⁻¹ y 10,40 mg·L⁻¹ con 3 repeticiones. Se incubaron en una mesa termorreguladora a temperatura de 20±1°C, previamente calibrada. Los individuos no se alimentaron durante el ensayo. La prueba fue de tipo estática y se realizó por 4 días. Se hizo un conteo diario de los organismos muertos, llevando un registro cada 24 h, registrándose la tasa de mortalidad y parámetros ambientales como temperatura, oxígeno, pH y salinidad. Se determinó que la concentración letal media CL₅₀ para las zoeas I de *E. analoga*, a 96 h de exposición de petróleo crudo fue 1,33 mg·L⁻¹. Los resultados muestran que a la máxima concentración experimental de petróleo crudo la especie presenta mayor mortalidad.

Palabra claves: Contaminación, ecotoxicología, *Emerita analoga*, petróleo, zoea.

INTRODUCCIÓN

El incremento de la producción y uso de sustancias potencialmente tóxicas y la utilización del medio acuático como sumidero de muchas de ellas, ha hecho que cada vez sea más necesario valorar los efectos de tales productos, no solo sobre el hombre, sino también sobre los organismos y los ecosistemas (Pérez 1995, Caballero 1999).

Una de las herramientas utilizadas para evaluar el efecto de los contaminantes sobre los componentes biológicos de los sistemas acuáticos son los bioensayos de ecotoxicidad (Rodríguez et al. 1993). Estos nos ayudan a conocer tempranamente, los posibles impactos sobre las comunidades debido a que son utilizados en el monitoreo y control de las perturbaciones en la biocenosis acuática, contemplando o reemplazando a los métodos analíticos complicados y costosos (Rodríguez et al. 1993, Iannacone et al. 1998).

Los bioensayos han sido recomendados por la Environmental Protection Agency (EPA 1985); así mismo son un complemento ideal de las técnicas analíticas empleadas en la evaluación ambiental, es así como las pruebas de toxicidad constituyen uno de los pilares más importantes en el proceso de evaluación de los riesgos ambientales por la acción de los vertimientos y desechos del hombre en el ambiente marino (Rodríguez et al. 1993).

La producción mundial anual del petróleo es de unos 2,700 MM de Tn aproximadamente la mitad de ese volumen se transporta por el mar y se calcula que más de 1,5 MM de Tn de este aceite se pierde en operaciones de carga y descarga. Además, se suele utilizar agua marina como lastre para los tanques cisternas, vaciando esta agua contaminada al mar. Otros buques bombean el petróleo de desecho hacia los mares en forma de desperdicio de sentina; otras pérdidas son ocasionadas en accidentes de petroleros y en las plataformas de explotación, así como en conducciones subacuáticas y por escapes marinos (Cotoruelo 1995).

Los hidrocarburos son responsables de la muerte por asfixia de muchos animales acuáticos, que al cubrir la piel y las branquias les impide el intercambio gaseoso, también interfiere en la fotosíntesis del fitoplancton, al formar una capa impermeable en el agua, obstaculizando el ingreso de la luz (Botello 1978, Niñerola 1995, Tait 1986).

En el norte del Perú, frente a la costa, existen zonas de extracción de petróleo en el mar, mediante pozos ubicados en la plataforma; y en varios puertos de nuestro país se llevan a cabo labores de embarque y/o desembarque de petróleo crudo. En ambos casos se producen derrames de petróleo, mayormente en forma accidental, provocando un serio problema de contaminación del ambiente (Guzmán 1995).

El ambiente marino presenta una alta biodiversidad, siendo los crustáceos los organismos que han sido objeto de numerosos bioensayos con metales pesados, pesticidas y herbicidas (Epifanio 1971, Bustamante 1978, Amín et al. 1998, Sánchez et al. 1998, Iannacone et al. 1998, Sánchez et al. 2000, Iannacone & Alvariano 2003, Iannacone & Alvariano 2005). Sin embargo, investigaciones sobre los efectos que causa el petróleo crudo sobre estos organismos son escasos; teniéndose conocimiento que a lo largo de la costa del Perú cuya longitud es de 2,864 km, existe contaminación marina, que a pesar de la legislación existente y del desarrollo de programas para la protección del medio ambiente marino, sigue siendo alta. En cuanto a trabajos de ecotoxicología en nuestro país con hidrocarburos tenemos a los de Ibañez & Huanes (1999) y Alayo & Iannacone (2002).

Se tiene conocimiento que en los pueblos de la costa peruana, muchos recursos bióticos de origen marino constituyen principales fuentes de alimentación, siendo uno de estos recursos alimenticios *Emerita analoga*, cuya importancia radica en ser un alimento que se incluye en la dieta de los hogares pobres, debido a su bajo costo y su fácil captura. Su calidad nutritiva esta determinada por su elevado contenido tanto de

proteínas como de grasas, y además, por constituir una fuente de calcio almacenado en su caparazón (Pesantes 1975).

En la costa del norte del Perú, *E. analoga* es utilizada en el consumo humano directo, así como también sirve de carnada en la pesca con cordel; por otro lado, forma parte de la dieta alimentaria de aves y porcinos al transformarse en harina (Sánchez & Alamo 1974). Asimismo *E. analoga*, considerado un consumidor primario se comporta como elemento importante dentro de la red trófica al constituir alimento de peces y aves marinas (Sánchez & Alamo 1974). Por estas razones se consideró de importancia la realización del presente trabajo, a fin de conocer la concentración letal media de petróleo crudo en larvas zoea I de *E. analoga* a 96 h de exposición.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Biológico

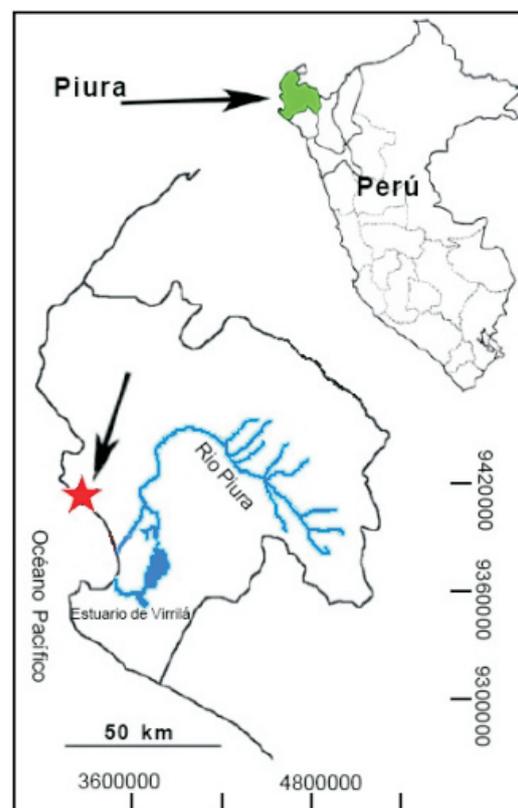
Los ejemplares de *E. analoga* “muy

muy” (hembras ovígeras) fueron colectados de la playa Cangrejos (05°08'30.02" - 05°10'46.21" LS y 81°10'35.04" - 81°10'24.0" LW), Piura, Perú. Se registraron los parámetros físico - químicos del agua de mar al momento de la colecta como temperatura, oxígeno, pH y salinidad. Los ejemplares fueron transportados en baldes de 40 L a los cuales se le colocó 5 - 7 cm de arena en el fondo y agua de mar, con aireación a batería para evitar el estrés durante el transporte al Laboratorio de Ecología de la Universidad Nacional de Piura.

En el laboratorio se les acondicionó con un flujo de agua de mar fresca por un tiempo de 30 min. Luego se separaron las hembras ovígeras en dos acuarios: uno para las inmaduras y otro para las maduras, colocándolas en acuarios de 30 L provistos de fondo de arena y con aireación constante y renovación de agua diariamente.

Cuando las hembras ovígeras se encontraban con las ovas maduras (color gris) se trasladaban a otro acuario para inducir la

Figura 1. Ubicación de la playa Cangrejos (estrella) en la Región de Piura, Perú.



eclosión de las larvas con alimento. Las larvas zoea I al eclosionar fueron colocadas en otro acuario para luego ser utilizadas en las pruebas de toxicidad dentro de las 24 h, las cuales fueron seleccionadas de acuerdo al buen estado general y movilidad de las mismas (Ruppert & Barnes 1996, López et al. 2001).

P troleo

El ensayo para las zoeas I se realizó en peceras de 250 mL de capacidad. El petróleo crudo (PC) se diluyó con agua de mar, se mezcló en una pera de decantación de 1L 3 g de petróleo crudo y se aforó hasta 1000 mL, se selló y agitó vigorosamente a mano durante 30 min, a partir de la cual se prepararon las concentraciones para los ensayos ecotoxicológicos. Se realizaron pruebas preliminares para determinar los rangos de las concentraciones ha utilizarse en las pruebas de ecotoxicidad est ticas siguiendo las recomendaciones de la APHA (1989). La prueba definitiva aguda consistió en cinco concentraciones (0,65; 1,30; 2,60; 5,20 y 10,40 mg·L⁻¹) y un control o testigo, con tres repeticiones. Por cada concentración se colocaron 10 individuos.

Pruebas ecotoxicológicas

Cada dilución o concentración preparada era vertida en los diferentes acuarios. Éstos se disponían al azar sobre la mesa termorreguladora para que la temperatura vaya homogeniz ndose en cada acuario. Cuando la temperatura fue homogénea para todos los acuarios, se colocaron 10 individuos por acuario, esto quiere decir que se trabajo con 30 individuos por concentración incluyendo el control. Se mantuvo bajo control al inicio y final de cada ensayo y una vez expuestos los organismos a las diferentes concentraciones se incubaron a temperatura de 20±1 C, Salinidad de 35 ‰, Oxígeno disuelto en el orden de 8,5±0,5 ppm, pH de 6,65±0,5 y fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad. Los datos de temperatura fueron tomados con un termómetro marca DBGM calibrado a 100 C, oxígeno con un oxímetro

marca Isy modelo 52, pH mediante un potenciómetro marca WTW y salinidad con un salinómetro marca Vista A366 ATC. Los individuos no se alimentaron durante los ensayos.

La prueba de respuesta letal directa fue de tipo est tica y de corto periodo (96 h). Se hizo un conteo diario de los organismos muertos, los cuales fueron retirados de los acuarios, llevando un registro cada 24 h. Durante la prueba sólo se acept  un 10% de mortalidad en los controles, si esto no se cumple se descartaba la prueba.

Tratamiento de datos

Se utilizó el modelo estadístico EPA probit versión 1,5 (Weber 1993), para el cálculo de la CL₅₀ y los límites de confianza al 95% a las 96 h de exposición. Estos valores fueron derivados del análisis de regresión Probit del logaritmo de la concentración del tóxico en mg·L⁻¹ y del porcentaje de mortalidad. Sólo los ensayos que resultaron con 90% de sobrevivientes en comparación con el control, se usaron para estimar la CL₅₀, según los protocolos propuestos por la APHA (1989) para bioensayos con invertebrados.

La eficacia de las concentraciones se evaluó a través del análisis de varianza (ANVA) de una vía con modelo aditivo lineal de un diseño en bloques completamente aleatorizado (DBCA), previa transformación de los datos a raíz cuadrada del arcoseno, con el fin de ajustar los datos a la distribución normal y permitir la homogeneidad de las varianzas, con el propósito de analizar las diferencias de las concentraciones de petróleo entre las repeticiones y finalmente entre los tiempos de exposición en las larvas zoea I de *E. analoga*. En caso de existir diferencia significativa entre las concentraciones se realizó una Prueba de Diferencia mínima significativa LSD. Para la estadística inferencial se recurrió a los programas estadísticos de computación Statgraphics versión 5,0 y SPSS versión 13,0 para Windows 2007.

RESULTADOS

En la Fig. 2, están indicados los datos obtenidos de las diferentes concentraciones y tiempos de exposición con PC en las zoeas I de *E. analoga*. Se observa que a las 24 h de estar sometidos los especímenes en la concentración más baja ($0,65 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) por lo menos un ejemplar había muerto (3,33%) y, en la concentración más alta ($10,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) superaba los 10 ejemplares (36,67%). En tales circunstancias la mortalidad se incrementaba con el tiempo de exposición hasta llegar al 100% de los especímenes afectados en la concentración de $10,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a las 96 h de exposición.

La evolución de los porcentajes de mortalidad obtenidos en las diferentes concentraciones de PC en relación a los tiempos de exposición, evidenció una mortalidad en las concentraciones. Así, a $1,30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ se incrementó desde 10,00%, 23,33%, 33,33% hasta 46,67%; a concentración de $2,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ fue alcanzado a partir de 20%, 40%, 50% hasta 73,33% y, a la concentración de $5,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, con porcentajes de mortalidad desde 26,67%, 43,33%, 56,67% hasta 93,33% respectivamente. Sin embargo, el efecto más notorio se observó en la concentración de $10,4$

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, donde la mortalidad superó el 50% a las 48 h y el 100% a las 96 h de exposición respectivamente.

El valor de CL_{50} (Fig. 3), a 96 h de exposición fue de $1,33 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, siendo sus límites de confianza inferior de $0,95 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y el superior $1,73 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Los análisis estadísticos ANVA para las repeticiones revelaron que no existen diferencias significativas entre ellos ($F=0,08$; $P=0,92$). La ANVA para los tratamientos mostró que existen diferencias significativas entre ellos ($F=33,23$; $P<0,01$). Mediante la prueba de Diferencia mínima significativa (LSD) se encontró que todos los tratamientos son diferentes.

DISCUSIÓN

De los muchos contaminantes que entran al mar, el petróleo es considerado por algunos como el que tiene mayor potencial para alterar el medio natural. Informes sobre efectos de numerosos derrames de crudo en el ambiente marino indican la necesidad de más información básica sobre cómo el petróleo crudo y sus componentes afectan a los organismos en los diferentes niveles de la cadena trófica en los ecosistemas acuáticos (Michalik & Gordon 1971). Muchos estudios

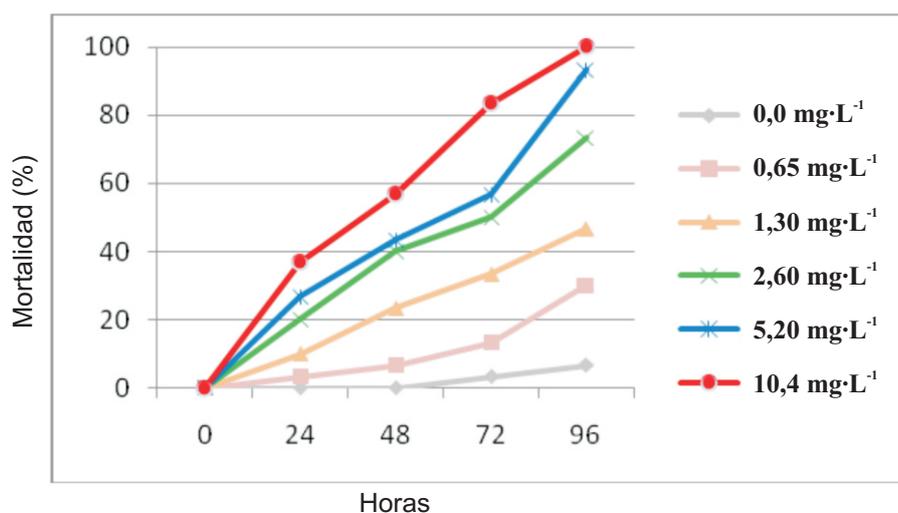


Figura 2. Porcentaje de mortalidad en larvas zoea I de *E. analoga* frente a petróleo crudo durante 96 h.

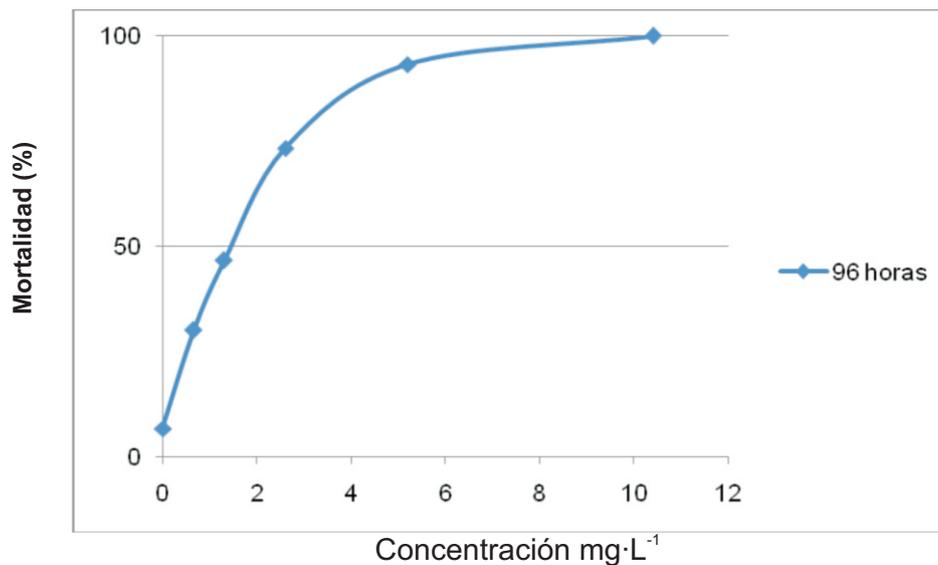


Figura 3. Concentración de mortalidad en larvas zoea I de *E. analoga* frente a petróleo crudo a 96 h.

han indicado que la contaminación por petróleo es potencialmente peligrosa para los organismos vivos a todos los niveles (D' Croz et al. 1988).

El potencial de invertebrados como organismos bioindicadores en ensayos de toxicidad está ampliamente demostrado (Alayo & Iannacone 2002). Por tales razones los crustáceos juegan un papel importante en el proceso ecológico, siendo *E. analoga* un organismo representativo de nuestras costas, de fácil disponibilidad y manejo, cumple un rol principal en el segundo nivel trófico del ecosistema de las playas arenosas, debido a que contribuyen en la producción secundaria como alimento de invertebrados depredadores y vertebrados, lo cual hace un buen instrumento para medir la toxicidad de contaminantes que se vierten en las playas (hidrocarburos, efluentes metálicos, doméstico, etc.) (Sánchez & Vera 2001).

Al entrar en contacto el petróleo con el mar, se forma una delgada película en la superficie, la cual se dispersa por acción del oleaje y los vientos, sobre esta película actúan factores físicos que resultan de la pérdida por evaporación, emulsificación, disolución de las

fracciones ligeras y adsorción sobre materia orgánica particulada, además del hundimiento de residuos no flotantes. (Cotoruelo 1995, Figueruelo & Marino 2001).

Los hidrocarburos están formados por una numerosa mezcla de compuestos los cuales difieren en solubilidad, resultando importante considerar el acuerdo general que existe en la literatura acerca de la mayor toxicidad que poseen los productos refinados de los hidrocarburos sobre los crudos (Anderson et al. 1974; La Roche et al. 1979). Según Figueruelo & Marino (2001), los hidrocarburos aromáticos, concretamente el benceno y tolueno, son los más tóxicos después los cicloalcanos y olefinas, siendo los alcanos los de menor toxicidad y dentro de estos los de menor tamaño molecular los más tóxicos. Asimismo, Cotoruelo (1995) y Wauquier (2004) manifiestan que el benceno presenta una solubilidad alta en el agua, los naftenos y las parafinas, la más baja, esta solubilidad en el agua disminuye al aumentar el peso molecular.

El efecto nocivo de los hidrocarburos disueltos en las aguas superficiales para los seres vivos es máximo en el caso de los

aromáticos (Orozco et al. 2003), las parafinas son digeridas por las bacterias con relativa facilidad y convertidos en biomasa (Cotoruelo 1995). La toxicidad de los hidrocarburos parece que procede de su incorporación (disolución) a la parte lipídica de las membranas celulares, afectando el mecanismo de intercambio de sustancias entre el interior y el exterior de la célula. En condiciones extremas puede disolver y producir lisis de la membrana celular (Figueruelo & Marino 2001).

Se ha descrito como efecto general a la exposición a hidrocarburos efecto en la muda; así como también retrasos en el desarrollo larval. Inhibición en la muda en exposiciones a hidrocarburos han sido reportados para numerosas especies de crustáceos, asociando estas respuestas a la interferencia de este tipo de compuesto sobre las vías metabólicas normales de los ácidos grasos y a disrupciones energéticas en general (Amin & Comoglio 2002).

El efecto observado para estimar la CL_{50} en las zoeas I fue ausencia del latido cardíaco, esto tras la observación durante 10 segundos bajo el estereoscopio, también ha sido posible observar fallas en la natación como otro indicador de daño, tal como lo manifiesta Carls & Rice (1984); Amin & Comoglio (2002), observando una rápida pérdida en las habilidades natatorias de las larvas de nauplios de *Balanus amphitrite* y *Balanus variegatus* expuestos a querosene. Asimismo, Blundo (1978), comprobó que el benceno, tolueno, naftaleno afectan al fototactismo y natación de las larvas de *Balanus eburneus*.

La CL_{50} hallado para las zoeas I (Fig. 3) fue de $1,33 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, valor concordante con Botello (1978), quien determinó que concentraciones mayores a $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ producen muerte de gran cantidad de especies fitoplanctónicas, así como en larvas y huevecillos de crustáceos y peces, los cuales flotan junto con el plancton. Orozco et al. (2003), manifiestan que concentraciones de $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ inhibe el crecimiento del fitoplancton y

concentraciones mayores a $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mata las larvas y especies jóvenes de crustáceos y moluscos, valores muy concordantes con el presente estudio.

Por otro lado, dentro de los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs), los que tienen 4 y 7 ciclos bencénicos como el 3,4-benzopireno, 1,2-benzoantraceno y el 3,4-benzofluorantreno son productos del procesamiento pirrolítico de crudos que llegan a enlazarse covalentemente con el ADN y producir cuadros carcinogénicos y mutagénicos. Producen una acusada toxicidad sobre los organismos acuáticos, esta toxicidad aumenta con el peso molecular y se ha llegado a determinar que los valores de la concentración letal en peces usando tres tipos de hidrocarburos son para el Naftaleno una CL_{50} entre $0,1 - 8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, para el Acenafteno CL_{50} entre $0,6 - 3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y para el Fenantreno CL_{50} entre $0,04 - 0,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ respectivamente (Orozco et al. 2003).

Debido a estos problemas ambientales ocasionados por los HAPs, las diferentes legislaciones limitan su presencia en distintos tipos de aguas, siendo los límites en aguas potables en los países de la Unión Europea, fijados en $0,01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para el Benzo(a)pireno y de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para el conjunto de HAPs medidos. Estos límites son propuestos por la Organización Mundial de la Salud para aguas de bebida (Orozco et al. 2003).

El petróleo utilizado, categorizado como un petróleo pesado con una densidad específica de 0,878 (29,5 °API), según manifiestan muchos autores presenta una toxicidad que es menor en comparación a los petróleos medianos, livianos y sus productos refinados. El petróleo liviano (40 °API) en *Orthopristis ruber*, mostro una CL_{50} a 96 h de exposición era de $680 \text{ m}\cdot\text{L}^{-1}$ (Quevedo et al 1993). Ibañez & Huanes (1999), determinaron una CL_{50} de $628,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en *M. curema*, utilizado el mismo contaminante; por otro lado Aguilera & Huq (1992), reportaron que el crudo liviano (39 °API) en *M. curema*, presentó una CL_{50} de $1350 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a 96 h de

exposición. Probablemente el valor determinado un poco más bajo pueda deberse principalmente a la sensibilidad de los peces frente a los distintos crudos y a su composición química que presentan.

Evans et al. (1996), trabajando con petróleo crudo, determinaron una CL_{50} de $0,07 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en larvas de *Penaeus monodon* a 24 h de exposición (Jackson et al. 1981) y en larvas de *Ocyropsis quadrata*, encontraron una CL_{50} de $0,19 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a 24 h de exposición, valores diferentes del presente estudio ($1,33 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en las zoeas I, determinado a 96 h de exposición, comprobándose que la toxicidad de petróleo disminuye en función del tiempo de exposición y en dependencia de la sensibilidad de las especies.

Anderson et al. (1974), encontraron que para ejemplares adultos de *Palaemonetes pugio* y *Penaeus aztecus* expuestos a petróleo crudo, presentaron una CL_{50} de $6,86 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y $7,78 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente a 96 h de exposición y Phan et al. (1994), con *Promysis atlanta*, determinaron una CL_{50} $7,38 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a 96 h. Resultados que varían con el presente estudio, esto puede deberse a que la composición química del petróleo utilizado es un crudo pesado, por lo tanto la presencia de los compuestos aromáticos es menor en relación a los crudos livianos más tóxicos sobre los organismos.

Alayo & Iannacone (2002) al realizar ensayos ecotoxicológicos con petróleo crudo, Diesel 2 y Diesel 6, con dos subespecies de rotíferos, reportaron como valores CL_{50} para *Brachionus plicatilis rotundiformis* a 24 h de exposición $0,13$; $0,65$ y $4,20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ respectivamente, y para *B. plicatilis hepatotomus* los valores determinados de CL_{50} a 24 h fueron de $0,23$; $1,36$ y $3,47 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para petróleo crudo, diesel 2 y diesel 6, respectivamente. La toxicidad para ambas subespecies a 24 h de exposición siguen el patrón petróleo crudo > diesel 2 > diesel 6, resultados que son corroborados por Phan et al. (1994), al mencionar la gran toxicidad que presenta el petróleo crudo

frente a los organismos marino. El diesel 2 es menos tóxico (Ibañez & Huanes 1999), debido a la composición química que presenta cada uno de ellos. Si bien es cierto no se trabajó con diesel 2 y diesel 6, queda demostrado que los productos refinados del petróleo ejercen efectos distintos dependiendo de su composición química.

El efecto tóxico de los hidrocarburos, se encuentra en función a su densidad ($^{\circ}\text{API}$), presencia de algunos compuestos aromáticos cíclicos enlazados con las cadenas hidrocarbonadas, como también de productos adicionales agregados o formados en el proceso de refinado que conducirá a su toxicidad. Del mismo modo se encontró diferencia significativa entre los tiempos de exposición en las diferentes concentraciones de petróleo, determinándose que la mortalidad no es la misma a través de este factor.

CONCLUSIÓN

La concentración letal media (CL_{50}) de petróleo crudo fue para las zoeas I de $1,33 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a 96 h de exposición. El efecto del petróleo crudo sobre *E. analoga* puede ser usado como prueba para evaluar la toxicidad de compuestos orgánicos.

AGRADECIMIENTO

Al Ing. Juan Peralta Gallardo, por su apoyo en el análisis de la muestra de petróleo y al Ing. Javier Vilela Merino por su apoyo en la colección y manejo de las especies en los bioensayos ecotoxicológicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilera, A. & Huq, M. 1992. Tolerancia de la Lisa *Mugil curema* (Pisces: Mugilidae) a varios niveles de crudos venezolanos. Bol. Inst. Ocean. Univ. Oriente, 21:123-128.
- Alayo, M. & Iannacone, J. 2002. Ensayos ecotoxicológicos con Petróleo Crudo, Diesel 2 y Diesel 6, para la evaluación

- comparativa de dos subespecies del roífero *Brachionus plicatilis* Müller, 1786 (Rotífera: Monogononta). Gayana, 66: 45-58.
- Anderson, J.; Neff, J.; Cox, B. & Taten, H. 1974. Characteristics of dispersions and water soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans and fish. Marine Biol., 27: 75-88.
- Amín, O. & Comoglio, L. 2002. Toxicidad del petróleo diesel en el primer estadio larval de la centolla (*Lithodes santolla*) y del centollón (*Paralomis granulosa*). Rev. Biol. Mar. Oceanog., 37: 137-144.
- Amín, O.; Rodríguez, E.; Hernando, M.; Comoglio, L.; López, L. & Medesani, D. 1998. Effects of lead and cadmium on hatching of the southern king crab *lithodes santolla* (Decápoda, Anomura). Invert. Reprod. Develop., 33:81-85.
- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), WPCF (Water Pollution Control Federation). 1989. *Standard methods for examination of water and wastewater*. Washington, DC, American Health Association. 17 ed.
- Blundo, R. 1978. The effects of the water soluble fractions of N° 2 fuel oil and three aromatic hydrocarbons on the behavior and survival of barnacle larvae. Contrib. Mar. Sci., 21: 25-38.
- Botello, A. 1978. Presencia e importancia de hidrocarburos fósiles en el medio ambiente marino: Anal. Inst. Ciencias Mar Limnol., 5: 13-20.
- Bustamante, F. 1978. *Bioensayos de contaminantes metálicos hídricos y su efecto en el camarón juvenil Cryphiops caementarius*. Tesis Ing. Pesquera. Univ. Nac. Agraria LA Molina. Lima, Perú. 91 p.
- Caballero, C. 1999. *Empleo del caracol de agua dulce Physa venustula Gould como herramienta ecotoxicológica para la evaluación de riesgos ambientales por plaguicidas*. Tesis para optar el título de biólogo, Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima, Perú. 113 p.
- Carls, M. & Rice, S. 1984. Toxic contributions of specific drilling mud components to larval shrimp and crabs. Rev. Mar. Env. Research, 12:45-62.
- Cotoruelo, L. 1995. *Orígenes de la Contaminación Marina*. En: Lucena, J. & Pérez, A. Aulas del Mar. Contaminación Marina: Bases Ecológicas, Evaluación de Impactos y Medidas Correctoras. Edit. Universidad de Murcia. 456 pp.
- 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.
- Evans, L.; Tsvetnenko, E. & Tsvetnenko, Y. 1996. *Ecotoxicology studies in north west australian marine organisms*. Final report, Curtin Ecotoxicology program, Energy Research and Development corporation.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1985. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms*. 3° ed. Peltier, W & Weber, C.
- Epifanio, C. 1971. Effects of dieldrin in seawater on the development of two species of crab larvae, *Leptodius floridanus* and *Panopeus herbstii*. Mar. Biol., 11: 356-362.
- Figueroa, J. & Marino, M. 2001. *Química Física del Medio Ambiente*. Ed. Reverté Ed. México. 335 p.
- Guzmán, M. 1995. Evaluación de la Contaminación marina frente a la bahía de Paita. Inf. Prog. Inst. Mar Perú, 7: 1-20.
- Iannacone, J.; Alvarino, L. & Dale, W. 1998. Pruebas ecotoxicológicas como herramienta para la evaluación del Impacto Ambiental. Bol. Lima. (Perú), 113: 53-68.
- Iannacone, J. & Alvarino, L. 2003. Efecto Ecotoxicológico agudo del mercurio sobre larvas del "muy muy" *Emerita analoga* (Decapoda:Hippidae) procedentes de cuatro localidades de Lima. Ecol Apl., 2: 111-115.

- Iannacone, J. & Alvarino, L. 2005. Selectividad del Insecticida cartap empleando ensayos con organismos no destinatarios. *Ecol. Apl.*, 4: 91-104.
- Ibáñez, J. & Huanes, L. 1999. *Bioensayos de toxicidad letal de gasolina 84°, Kerosene industrial, Petrodiesel N°2 y Petróleo industrial N°6 en "lisa" Mugil cephalus L.* II Congreso Peruano de Ecología, Medio ambiente y Desarrollo, Huancayo –Perú. 13 p.
- Jackson, L.; Bidleman, M & Vernerg, W. 1981. Influence of reproductive activity on toxicity of petroleum hydrocarbons to ghost crabs. *Mar. Poll. Bull.*, 12: 63-65.
- La Roche, G.; Eisler, R. & Tarzwell, C. 1979. Bioassay procedures for oil and oil dispersant toxicity evaluation. *Journal WPCF*, 42: 1982-1989.
- Lépez, I.; Furet, L. & Aracena, O. 2001. Población de *Emerita analoga* (Stimpson 1857) en playas Amarilla y Rinconada, Antofagasta: Aspectos Abióticos. Bióticos y concentración de cobre. *Gayana*, 65: 55-76.
- Niñerola, S. 1995. *Contaminación por Hidrocarburos*. CGS. Orden Environmental and Energy services. 53 p.
- Michalik, P. & Gordon, D. 1971. *Concentration and distribution of oil pollutants* Halifax Harbour. *Marine Ecol. Lab. Bedford Inst., Dartmouth, N. S. tech. Rep. N° 284*.
- Orozco, C.; Pérez, A.; Gonzáles, N.; Rodríguez, F. & Alfayate, J. 2003. *Contaminación Ambiental, Una visión desde la Química*. Edit. Thomson. Madrid, España. 678 pp.
- Phan, V.; Gomez, V. & Passos, M. 1994. Avaliação prévia da toxicidade de um efluente simulado derivado de petróleo sobre *Promysis atlántica* (Crustacea, Mysidacea). *Bol. Inst. Ocean. Univ. Sao Paulo*, 42: 129-141.
- Pérez, A. 1995. *El Papel de la Ecotoxicología en la investigación y control de la polución marina*. En: Lucena, J. & Pérez, A. *Aulas del Mar, Contaminación Marina: Bases Ecológicas, Evaluación de Impactos y Medidas Correctoras*. Ed. Universidad de Murcia. 456p
- Pesantes, M. 1975. Análisis bacteriológico de *Emerita analoga* (Stimpson) "muy muy" recolectadas en las caletas de Huanchaco y Huanchaquito. Tesis de Bachiller en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo –Perú. 45 p.
- Quevedo, J.; Segovia, J.; Pérez, J. & Zurbug, W. 1993. Efectos del petróleo y algunos dispersantes en juveniles del corocoro *Orthopristis ruber* (Piscis: Pomasyidae). *Bol. Inst. Ocean. Univ. Oriente.*, 22: 177-184.
- Rodríguez, J.; Correa, M. & Escalpéz, M. 1993. *Aplicación de técnicas de bioensayo a problemas de contaminación ambiental*. AIDIS; Colegio de Ingenieros de Venezuela. Congreso Venezolano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Caracas 20 – 25 de junio. p: 7.
- Ruppert, E. & Barnes, R. 1996. *Zoología de los Invertebrados*. 6° ed. Edit. McGraw-Hill Interamericana. 1114 pp.
- Sánchez, G. & Álamo, V. 1974. Algunos aspectos de la biología del "muy muy" (*Emerita analoga*). *Inst. Mar. Inf. Callao-Perú*. 167: 1-26.
- Sánchez, G.; Orozco, R. & Jacinto, M. 1998. Estado de la contaminación Marina en el litoral peruano en 1994 y 1995. *Inf. Inst. Mar Perú*, 136:7-22.
- Sánchez, G.; Tam, J. & Vera, G. 2000. Pruebas ecotoxicológicas de efluentes pesqueros para determinar la calidad de agua de mar en la Bahía de Paracas (Pisco-Perú). *Inf. Prog. Inst. Mar Perú*, 130:13-22.
- Sánchez, G. & Vera, G. 2001. *Manual Introductorio de ecotoxicología acuática*. *Inf. Inst. Mar Perú*, 161:1-40.
- Tait, R. 1986. *Elementos de ecología marina*. 2° Ed. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza – España. 178 p.

Wauquier, J. 2004. *El refinado del petróleo, petróleo crudo, productos petrolíferos y esquemas de fabricación*. Ed. Díaz de Santos. Madrid, España. 463 p.

Weber, C. 1993. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving*

waters to freshwater and marine organisms. EPAA60049002. 293 pp.

Fecha de recepción: 16 de noviembre del 2008.

Fecha de aceptación: 30 de diciembre del 2008.