

EFFECTO DEL CADMIO SOBRE EL CRECIMIENTO POBLACIONAL DE LA DIATOMEA MARINA *Chaetoceros gracilis* SCHUTT **

EFFECT OF CADMIUM ON THE POPULATION GROWTH OF THE MARINE DIATOM *Chaetoceros gracilis* SCHUTT

Giovanna Vera^{1*}, Jorge Tam¹, Edwin Pinto¹ y José Angulo²

RESUMEN

El fitoplancton constituye la base de las cadenas tróficas en el medio marino, por lo que es importante conocer los posibles efectos de los contaminantes en las poblaciones algales. En el presente trabajo se evaluó el efecto del Cadmio en el crecimiento poblacional de la diatomea *Chaetoceros gracilis*. La microalga fue cultivada en un medio Guillard "f/2" modificado, y fue expuesta a diferentes concentraciones de cadmio entre 50 a 100000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cadmio, las cuales produjeron un efecto inhibitorio del 20% al 99% en el crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis*. En base a la relación dosis (cadmio)-respuesta (inhibición) se obtuvo una concentración efectiva media (CE50%) de 591 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cadmio.

Palabras clave: Ecotoxicología, contaminación, cadmio, diatomea, *Chaetoceros gracilis*.

ABSTRACT

Phytoplankton constitutes the base of the trophic webs in the marine environment, so it is important to know the possible effects of pollutants on the algal populations. In the present paper the effect of cadmium on the population growth of the diatom *Chaetoceros gracilis* was assessed. The microalgae were cultured in the a modified "f/2" Guillard medium, and were exposed to different concentrations of cadmium between 50 and 100000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, which produced an inhibitory effect from 20% to 99% on the population growth of *Chaetoceros gracilis*. Based on the dose (cadmium)-response (inhibition) relationship, a mean effective concentration (EC50%) equal to 591 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of cadmium was obtained.

Key words: Ecotoxicology, pollution, cadmium, diatom, *Chaetoceros gracilis*.

INTRODUCCIÓN

El creciente impacto ambiental de las actividades humanas, principalmente el vertido de sustancias químicas liberadas al ambiente por procesos productivos, ha favorecido el desarrollo de una disciplina basada en la

toxicología y la ecología. la ecotoxicología, la cual ha sido recomendada como herramienta indispensable en las evaluaciones de impacto ambiental y en la obtención de autorizaciones gubernamentales para realizar actividades productivas, tanto por los expertos del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (COPPS/PNUMA, 1985) como por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1980 en Larraín, 1995). *Chaetoceros gracilis* es una especie que forma parte de la flora fitoplanctónica del mar Peruano (Ochoa et al., 1999), es de fácil manejo en laboratorio, tamaño pequeño y ciclo de vida corto, por lo que posee características ventajosas para la conducción de pruebas de toxicidad. Por tales motivos, se planteó como objetivo de la

1* Línea de Investigación de Ecotoxicología Acuática, Instituto del Mar del Perú (IMARPE), Esq. Gamarra y Gral. Valle, Callao, Perú. giovannavera@mixmail.com.

2 Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Ingeniería Pesquera, Av. Francia 726, Miraflores.

** Este estudio forma parte de los trabajos que realiza la Línea de Investigación en Ecotoxicología Acuática (LIEA), para establecer estándares de calidad ambiental y límites máximos permisibles.

presente investigación evaluar los efectos inhibitorios del metal cadmio en el crecimiento poblacional de la diatomea *Chaetoceros gracilis*, y determinar su concentración efectiva media (CE50%).

Las pruebas ecotoxicológicas con *Ch. gracilis* permitirían establecer relaciones importantes con respecto a las concentraciones presentes en las aguas marinas, con el fin de predecir los efectos ecotoxicológicos en los niveles tróficos superiores.

ANTECEDENTES

El cadmio es un metal tóxico vertido al ambiente como desecho de minas de zinc, plomo o cobre, y por diversas industrias como baterías, pigmentos, termoplásticos, etc. (Henry y Heinke, 1999). El cadmio, que precede al mercurio en toxicidad, ocasiona graves problemas en la salud humana debido a su no biodegradabilidad, por lo que su incorporación en el fitoplancton es considerada el primer nivel de su bioconcentración en la cadena trófica acuática (Campos, 1987). De acuerdo a los valores de cadmio señalados por Valcárcel et al. (1974), se observa que en algunos lugares de la costa del Perú, como Atico, La Planchada y Mollendo, se ha excedido la concentración máxima aceptable en la Clase VI (preservación de fauna acuática) de la Ley General de Aguas del Perú (*El Peruano* 1969).

Sánchez y Hollemweguer (1991), en evaluaciones de la contaminación marina realizadas entre 1984 a 1988, encontraron niveles de cadmio en moluscos bivalvos (almejas y mejillones) en la zona de Pisco entre 0,6 y 1,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, y en Tacna entre 0,7 y 1,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. En Chimbote, los mejillones y almejas presentaron valores elevados de cadmio, de 2,9 a 6,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y de 1,9 a 2,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente.

Jacinto et al. (1997) mencionan que en evaluaciones realizadas en la bahía de Ferrol, la concentración de cadmio en el bivalvo *Semimytilus algosus* (3,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) superó el valor establecido por la FAO (1983 en Jacin-

to et al., 1997). También se determinó la presencia de cadmio, cobre y plomo, aunque en bajas concentraciones, en la concha de abanico *Argopecten purpuratus*.

En el Perú se han realizado pocos estudios de toxicidad con metales usando especies de fitoplancton. Se ha estudiado el efecto del cromo (Alayo y Iannacone, 1999) y del cadmio (Tam et al., 2001) en la diatomea *Skeletonema costatum*. Otros organismos han sido usados en pruebas ecotoxicológicas con metales, por ejemplo, el cobre con *Argopecten purpuratus* (Sánchez y Tupayachi, 1988), cobre y cadmio con zoeas de *Emerita analoga* (Sánchez et al., 1998) y metales hídricos usando al camarón juvenil *Cryphiops caementarius* (Bustamante, 1978).

La ecología de *Chaetoceros gracilis* es poco conocida. Es una diatomea céntrica (Clase Coscinopiscophyceae), de forma rectangular, cuyas dimensiones son de 5 a 7 mm de diámetro por 7 a 10 mm de longitud. No forman cadenas en su medio natural ni en medio de cultivo artificial. Son ovales en su sección transversal y tienen los extremos planos. A cada extremo del frústulo se encuentra un par de espinas (setas). Su pared está compuesta de pectina y sílice, y presenta cloroplastos de tamaño y número variable. Generalmente se reproducen por división sucesiva transversal al eje longitudinal del individuo, o sea en el plano valvar. También forman auxosporas y microsporas, dependiendo de las condiciones a las cuales desarrollan (Mogollón, 1987). *Ch. gracilis* es una especie nerítica, no muy común, registrada al Sur de California y Baja California, en el Golfo de California, en el mar Artico, en los mares de Groenlandia, Báltico y Mediterráneo (Cupp, 1943). Su presencia también ha sido registrada en el mar Peruano (Ochoa et al., 1999).

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

La diatomea *Chaetoceros gracilis* se obtuvo del Cepario del Laboratorio de

Tabla 1. Composición de medio de cultivo para *Chaetoceros gracilis*.

Macronutrientes	Concentración en el medio
NaNO ₃	75 mg.L ⁻¹
Na ₂ HPO ₄ .H ₂ O	5 mg.L ⁻¹
Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	10 mg.L ⁻¹
Micronutrientes	
Fe Cl ₃ .6 H ₂ O	3,1500 mg.L ⁻¹
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,0105 mg.L ⁻¹
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,1800 mg.L ⁻¹

Microalgas del Área de Cultivos Marinos del IMARPE. Esta alga es usada habitualmente en el Área de Ecofisiología Acuática como alimento proporcionado a organismos reproductores de bivalvos, crustáceos y larvas de equinodermos que se utilizan en diferentes pruebas ecotoxicológicas.

Cultivo de la microalga

Las cepas de *Ch. gracilis* se mantuvieron en agar agar y en fase líquida en un medio Guillard "f/2" modificado (Guillard, 1975 en González et al., 1995), en el cual se excluyeron las vitaminas, EDTA y los metales Cu, Zn y Mo. La composición del medio de cultivo utilizado se presenta en la Tabla 1.

Preparación de las soluciones de cadmio

Se prepararon 7 diluciones de cadmio (CdCl₂) a partir de una solución stock de 1000

ppm; adicionalmente se consideró una prueba control sin cadmio que contenía solamente el medio de cultivo (agua de mar estéril y nutrientes) y el inóculo de microalgas. Se realizaron tres réplicas por cada concentración. Las concentraciones de cadmio fueron 50, 100, 1600, 6250, 10000, 25000 y 100000 µg.L⁻¹, y fueron seleccionadas teniendo en cuenta los resultados obtenidos en las pruebas realizadas por Rodríguez y Rivera (1995) y Aoyama et al. (1987). La prueba fue de tipo estático, es decir, las concentraciones fueron añadidas al medio por única vez al inicio de la prueba.

Pruebas ecotoxicológicas

Las pruebas se realizaron en matraces de 250 ml, con aireación continua. Después de preparar las soluciones de cadmio, se inocularon 10 mL de microalgas para lograr una

Tabla 2. Densidades celulares de *Chaetoceros gracilis* (células/mL) expuesta a diferentes concentraciones del metal Cadmio, al quinto día de crecimiento poblacional.

	Cadmio (µg/L)							
	100000	250000	10000	6250	1600	100	50	0 (control)
Réplica 1	75000	175000	1025000	1525000	3225000	3925000	5100000	6450000
Réplica 2	50000	100000	1250000	1650000	3375000	5050000	5500000	7000000
Réplica 3	50000	125000	1250000	1200000	3050000	5000000	5375000	6575000
Promedio	58333	133333	1100000	1458333	3216667	4658333	5325000	6675000
% Inhibición	99	98	84	78	52	30	20	0

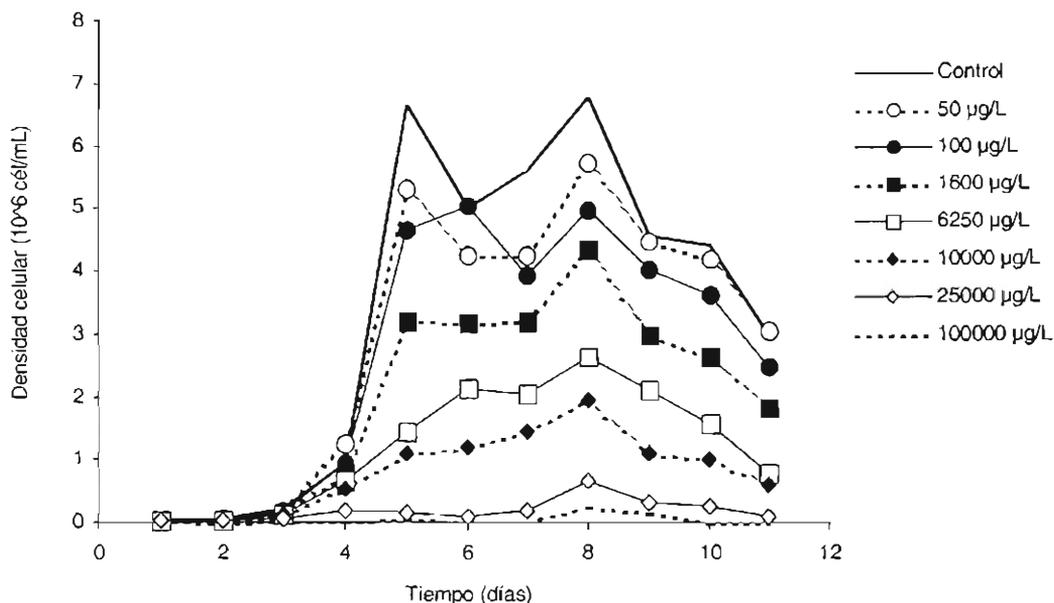


Figura 1. Crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* a diferentes concentraciones del metal cadmio.

densidad inicial promedio de 31406 células mL⁻¹, esta densidad corresponde al final de la fase de inducción. Las muestras de microalgas para el conteo se colectaron en viales de 10 mL, al inicio y cada 24 horas, durante 11 días. Se colectaron las muestras tanto de los controles como de las diferentes concentraciones de cadmio. Las muestras fueron preservadas en lugol y el conteo se realizó lo antes posible dentro de las 24 horas siguientes, utilizando una cámara de Neubauer. Las pruebas se realizaron en un ambiente con aire acondicionado a una temperatura de 20 °C ± 1 °C.

Se registraron parámetros tales como temperatura (°C), pH con un potenciómetro ESD MODEL 60, luminosidad con un luxómetro LUTRON LX-101 (lux) y salinidad con un refractómetro SPARTAN A 366 ATC (ups).

Análisis de datos

El diseño experimental comprendió 8 tratamientos (7 concentraciones + 1 control) y 3 repeticiones por cada tratamiento. La relación dosis-respuesta se obtuvo a partir de los datos de concentración como variable inde-

pendiente 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 = Porcentaje de inhibición del crecimiento (%)

Ne = Densidad celular expuesta a cadmio (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 establece la concentración de cadmio que determina una inhibición del 50% del crecimiento poblacional.

Adicionalmente, se estimó la tasa intrínseca de crecimiento poblacional exponencial, usando los datos del control mediante la si-

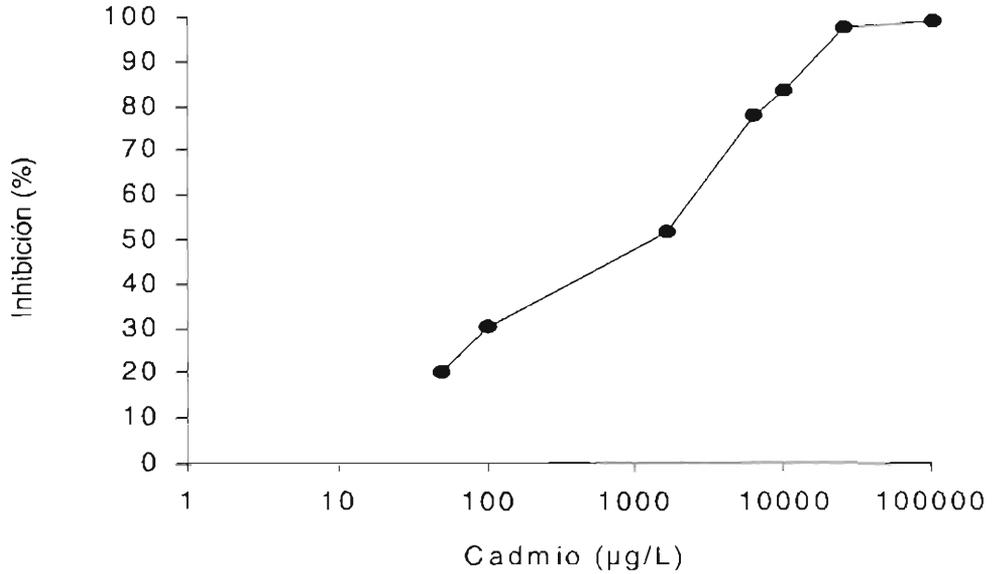


Figura 2. Porcentaje de inhibición (al quinto día) del crecimiento poblacional de la diatomea *Chaetoceros gracilis* expuesta a diferentes concentraciones de cadmio (en escala logarítmica).

guiente fórmula (Rabinovich, 1978):

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

Donde:

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

Nt1 = Densidad celular en día t1 (cél.mL⁻¹)

Nt2 = Densidad celular en día t2 (cél.mL⁻¹)

RESULTADOS

Los resultados del conteo promedio diario de la abundancia poblacional se muestran en la Tabla 1 y Fig. 1. El porcentaje de inhibición a diferentes concentraciones se grafica en la Fig. 2. La concentración efectiva media (CE50%) para la diatomea *Chaetoceros gracilis* fue estimada en 591 µg.g⁻¹.

En la prueba control la especie *Chaetoceros gracilis* obtuvo una densidad celular promedio máxima de 6675000

cel.mL⁻¹ al quinto día de sembrada. En este punto, el efecto inhibitorio del crecimiento algal para las concentraciones entre 50 y 100 µg.L⁻¹ fue de 20% (5325000 cel.mL⁻¹) y 30% (4658333 cel.mL⁻¹) de la población, respectivamente. Concentraciones mayores a 1500 µg.L⁻¹ inhibieron el crecimiento en más del 50 % de la población algal, obteniéndose en la dilución con mayor concentración de cadmio (100000 µg.g⁻¹) una densidad promedio de 58333 cel.mL⁻¹.

Usando las densidades celulares del control en los días 1 y 5 correspondientes a la fase de exponencial de *Chaetoceros gracilis*, se obtuvo una tasa intrínseca de crecimiento poblacional de 1.24 d⁻¹.

DISCUSIÓN

Los valores de toxicidad del cadmio usando la diatomea *Chaetoceros gracilis* en el presente trabajo fueron similares a los obtenidos con *Dunaliella salina* cuya concentración efectiva media fue de 500 a 1000 µg.L⁻¹ (Rodríguez y Rivera, 1995). Por otro lado,

Tabla 3. Condiciones recomendadas para conducir una prueba ecotoxicológica con *Chaetoceros gracilis*.

Parámetro	Condiciones
Temperatura (°C)	20
Salinidad (ups)	34,5 - 36,0
pH	7,31 - 8,59
Fotoperíodo (L:O)	24 : 00
Intensidad lumínica (lux)	3420
Duración de exposición (días)	5
Volumen de cámaras experimentales (mL)	250
Medio de cultivo	Guillard "f/2" modificado
Densidad del inóculo (cél / mL)	30000
Número de concentraciones	7
Número de réplicas / concentración	3
Variable a medir	Inhibición del crecimiento poblacional
Aceptabilidad de la prueba	Máxima inhibición del crecimiento poblacional del 20% en la prueba control

Ch. gracilis tuvo una sensibilidad mayor comparada con las diatomeas *Skeletonema costatum* cuya CE50% fue de 1424 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Tam et al., 2001) y *Tetraselmis suecica* cuya CE50% estuvo entre 5000 a 10000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Rodríguez y Rivera, 1995). En el presente estudio se obtuvieron resultados más precisos que en Rodríguez et al. (1995) debido al mayor número de concentraciones investigadas.

De este modo, se puede establecer los siguientes grados de sensibilidad de especies de microalgas con respecto al cadmio: *Chaetoceros gracilis* < *Dunaliella salina* < *Skeletonema costatum* < *Tetraselmis suecica*. Las diferencias de sensibilidad al cadmio entre las diferentes especies de microalgas, dependerían de las características de la pared y membrana celular (e. g. permeabilidad), de los mecanismos de detoxificación (e.g. almacén en cuerpos polifosfato), de la gravedad de la acción tóxica (e. g. bloqueo de enzimas, deformación de tilacoides y mitocondria) y del grado de bioconcentración (Vymazal, 1987).

Cabe destacar que la prueba ecotoxicológica usando *Chaetoceros gracilis* debe realizarse durante 5 días debido al tiem-

po que tarda en alcanzar la capacidad de carga, posteriormente la densidad disminuye por falta de nutrientes. El período de incubación varía según la especie de microalga, siendo como mínimo de 3 días (72 horas) para *Skeletonema costatum* (ISO, 1995), hasta 8 días para *Selenastrum capricornutum* (Joubert, 1980), aunque la mayoría recomienda 4 días (96 horas) como período de incubación.

La tasa de crecimiento poblacional de *Chaetoceros gracilis* (1.24 d^{-1}) es comparable al rango superior señalado por Margalef (1986) para *Chaetoceros socialis* (1.3 d^{-1}).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El cadmio produce un efecto inhibitorio en el crecimiento poblacional de la diatomea *Chaetoceros gracilis*, y la concentración efectiva media (CE50%) de cadmio es de 591 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Chaetoceros gracilis es una especie sensible al cadmio, que puede utilizarse como organismo prueba para evaluar la toxicidad de otros metales, siguiendo las condiciones re-

comendadas en la Tabla 2. En ausencia de cadmio, *Chaetoceros gracilis* tiene un rápido crecimiento poblacional ($1,24 \text{ d}^{-1}$).

Se recomienda ampliar las investigaciones con respecto a la incorporación de metales en organismos fitoplanctónicos, a diferentes temperaturas y salinidades, así como también estudiar la transferencia del cadmio en los niveles superiores de la cadena trófica.

Agradecimientos: Se agradece a la Blga. Carla Aguilar por sus valiosos comentarios sobre el cultivo de diatomeas, y al Tco. José Ortega por su apoyo durante el trabajo de laboratorio.

LITERATURA CITADA

- Alayo, M. y J. Iannacone. 1999. La microalga marina *Skeletonema costatum* como bioensayo alternativo para la evaluación del cromo. VIII Congreso Latinoamericano sobre Ciencias del Mar, 17-21 de octubre. Trujillo-Perú.
- Aoyama, I.; H. Okamura and M. Yagi. 1987. The interaction effects of toxic chemical combinations on *Chlorella ellipsoidea*. Toxicity Assessment: an International Quarterly. 2: 341-355.
- 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 pp.
- Campos, H. 1987. Los metales pesados, su contaminación y sus efectos tóxicos. Contaminación Ambiental, Medellín (Colombia), 9 (17), pp. 63-70.
- CPPS/PNUMA. 1985. Procedimiento para efectuar bioensayos y pruebas de toxicidad en organismos marinos del Pacífico Sudeste. Formulario F.02 CONPACSE I e Instructivo. Ecuador, 34 pp.
- Cupp, E. 1943. Marine Plankton Diatom of the West Coast of North America. University of California Press Berkeley and Los Angeles, 143-144 pp.
- El Peruano. 1969. D.L. 17752. Ley General de Aguas. 24 de julio.
- González, M.; O. Parra y A. Cifuentes. 1995. Técnicas de cultivo de microalgas en laboratorio. pp. 219-250. En: Alveal, K. y M. E. Ferrario. (Eds.). Manual de métodos ficológicos. Universidad de Concepción, 863 pp.
- Henry, J. G. y G. W. Heinke. 1999. Ingeniería ambiental. Prentice Hall Hispanoamericana. México D. F., 778 pp.
- ISO. 1995. Water quality-Marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*. ISO10253: 1995(E).
- 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.
- Larraín, A. 1995. Criterios ecotoxicológicos para evaluar alteraciones ambientales y establecer parámetros de control: importancia de los bioensayos de toxicidad. Cien. Tecn. Mar CONA. (N.º Esp.): 39-47.
- Margalef, R. 1986. Ecología. Omega. España. 951 pp.
- Mogollón, S. 1987. Aislamiento y cultivo de microalgas de ambientes marinos y dulceacuícolas. Trabajo de Tesis para optar el título de Ingeniero Pesquero. Universidad Nacional Federico Villarreal.
- 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.
- Rabinovich, J. E. 1978. Ecología de poblaciones animales. Monografía OEA. Washington. (21): 114 pp.
- Rodríguez, L. y D. Rivera. 1995. Efecto del cobre y cadmio en el crecimiento de *Tetraselmis suecica* (Kyllin) Butcher y *Dunaliella salina* Teodorosco. Estudios Oceanológicos. 14:61-74.
- Sánchez, G. & E. Hollemweguer. 1991. Research and Monitoring of Marine Pollution in Peru: 1984-1988. Regional Cooperation on Environmental Protection of Marine and Coastal Areas of the Pacific Basin, UNEP. Regional Seas Reports and Studies 134: 35-41.
- Sánchez, G. y M. Tupayachi. 1988. Pruebas preliminares sobre toxicidad aguda del cobre en la concha de abanico (*Argopecten purpuratus*). 191-194 p. En: Salzwedel, H. y A. Landa (Eds). Recursos y dinámica del ecosistema de afloramiento peruano. Bol. Ext. Inst. Mar Perú-Callao.
- Sánchez, G.; R. Orozco y M. Jacinto. 1998. Estado de la Contaminación Marina en el Litoral Peruano en 1994 y 1995. Informe Inst. Mar Perú. (136):7-22.
- Tam, J.; G. Vera; E. Pinto y R. Melgar. 2001. Modelo de simulación de los efectos ecotoxicológicos del cadmio sobre el crecimiento de la

- microalga *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve. Inf. Prog. Inst. Mar Perú. (130): 3-14.
- Valcárcel, G.; F. Valdez y R. Vernal. 1974. Investigación sobre la contaminación de las aguas en el litoral peruano. Min. Pesquería del Perú. Dir. Gen. Invest. Científica y Tecnológica (16): 249.
- Vymazal, J. 1987. Toxicity and accumulation of cadmium with respect to algae and cyanobacteria: a review. Toxicity assessment: an international quarterly. 2: 398-415.
- Weber, C. I. 1993. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. EPA600/490027F, 293 pp.