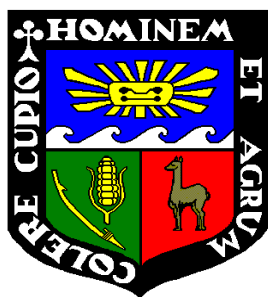


**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**



“RIESGO ECOLÓGICO DEL SULFATO DE BARIO”

Presentada por:

CHRISTIAN EDGARDO PAREDES ESPINAL

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE EN CIENCIAS AMBIENTALES**

Lima – Perú

2016

ACTA DE SUSTENTACIÓN

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos para evaluar la sustentación de tesis presentada por el alumno **CHRISTIAN EDGARDO PAREDES ESPINAL**, denominada: "RIESGO ECOLÓGICO DEL SULFATO DE BARIO", para cumplir con uno de los requisitos para optar el grado académico de *Magister Scientiae* en **CIENCIAS AMBIENTALES**.

Teniendo en consideración los méritos del referido trabajo así como los conocimientos demostrados por el sustentante, declaramos la tesis como:

APROBADO

SOBRESALIENTE




Calificada como (*):


En consecuencia, queda en condición de ser considerado APTO por el Consejo Universitario y recibir el grado académico de *Magister Scientiae*, de conformidad con lo estipulado en el Artículo 42° del Reglamento de la Escuela de Posgrado.

La Molina, 6 de enero de 2016


Mg.Sc. Juan Carlos Palma
PRESIDENTE


M.Eng. María Cristina Miglio Toledo
PATROCINADORA


Mg.Sc. Rosa Miglio Toledo
MIEMBRO


Dra. Rosemary Vela Cardich
MIEMBRO

(*) De acuerdo con el Artículo 39° del Reglamento de Tesis, éstas deberán ser calificadas con términos de: SOBRESALIENTE, MUY BUENA o BUENA.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios, quién siempre me acompaña con su infinito amor y quién también permitió que pudiera alcanzar esta etapa de mi formación profesional.

A mis padres, por su paciencia, apoyo constante y por estar pendiente de mis avances profesionales.

A mis maestros, quienes me han mostrado con su testimonio de vida, la mejor enseñanza que alguno pueda dar a los demás, en especial a la M.Eng. María Cristina Miglio Toledo por su tiempo e impulso para la elaboración de esta tesis.

Y a tantas personas que directa o indirectamente han podido ser motivación para continuar y culminar esta investigación.



Christian E. Paredes Espinal

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
	2.1.ASPECTOS GENERALES DE LOS HIDROCARBUROS	3
	2.2.BARIO	6
	2.3.SULFATO DE BARIO	9
	2.4.DATOS DE TOXICIDAD	15
	2.5.PRUEBAS ECOTOXICOLÓGICAS	18
	2.5.1. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON MICROALGAS	20
	2.5.2.PRUEBAS DE TOXICIDAD CON PLANTAS TERRESTRES	21
	2.5.3.PRUEBAS DE TOXICIDAD CON CRUSTÁCEOS	21
	2.5.4.PRUEBAS DE TOXICIDAD CON INSECTOS ACUÁTICOS	23
	2.5.5.PRUEBAS DE TOXICIDAD CON EQUINODERMOS	24
	2.5.6.PRUEBAS DE TOXICIDAD CON PECES	25
	2.6.EVALUACIÓN DE RIESGO ECOLÓGICO	26
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	29
	3.1.LUGAR DE EJECUCIÓN	29
	3.2.MATERIALES	29
	3.2.1.MATERIAL BIOLÓGICO	29
	3.2.2.OTROS MATERIALES	30
	3.2.3.REACTIVOS E INSUMOS	30
	3.2.4.EQUIPOS	31
	3.3.MÉTODOS ECOTOXICOLÓGICOS	31
	3.3.1.PRUEBAS SUBLETALES DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO EN MICROALGAS	34
	3.3.2.PRUEBAS SUBLETALES DE INHIBICIÓN DE GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO EN PLANTAS TERRESTRES	36
	3.3.3.PRUEBAS DE TOXICIDAD EN CRUSTÁCEOS	38
	3.3.4.PRUEBA DE TOXICIDAD EN UN INSECTO ACUÁTICO	41

3.3.5.	PRUEBA SUBLETAL DE INHIBICIÓN DE FECUNDACIÓN EN UN EQUINODERMO.....	42
3.3.6.	PRUEBAS DE TOXICIDAD EN PECES	43
3.4.	ANÁLISIS DE DATOS	46
3.5.	EVALUACIÓN DE RIESGO ECOLÓGICO.....	47
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
4.1.	PRUEBAS SUBLETALES DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO EN MICROALGAS.....	50
4.1.1.	Microalga epicontinental <i>Chlorella</i> sp.	50
4.1.2.	Microalga marina <i>Isochrysis</i> sp	52
4.2.	PRUEBAS SUBLETALES DE INHIBICIÓN DE GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO EN PLANTAS TERRESTRES	54
4.2.1.	Planta dicotiledónea <i>Medicago sativa</i>	54
4.2.2.	Planta monocotiledónea <i>Zea mays</i>	57
4.3.	PRUEBAS DE TOXICIDAD EN CRUSTÁCEOS.....	59
4.3.1.	Cladóceros epicontinental <i>Daphnia</i> sp.	59
4.3.2.	Decápodo marino <i>Emerita analoga</i>	61
4.3.3.	Anfípodo marino <i>Apohyale</i> sp.....	65
4.4.	PRUEBA DE TOXICIDAD EN UN INSECTO ACUÁTICO.....	66
4.4.1.	Díptero acuático epicontinental <i>Chironomus calligraphus</i>	66
4.5.	PRUEBA SUBLETAL DE INHIBICIÓN DE FECUNDACIÓN EN UN EQUINODERMO	68
4.5.1.	Equinodermo marino <i>Tetrapyqus niger</i>	68
4.6.	PRUEBAS DE TOXICIDAD EN PECES	69
4.6.1.	Pez marino <i>Odontesthes regia regia</i>	69
4.6.2.	Pez epicontinental <i>Poecilia reticulata</i>	73
4.6.3.	Pez epicontinental <i>Paracheirodon innesi</i>	77
4.7.	EVALUACIÓN DE RIESGO ECOLÓGICO.....	79
V.	CONCLUSIONES	84
VI.	RECOMENDACIONES	85
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
VIII.	ANEXOS	110

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Lotes contratados para operaciones petroleras en el Perú.....	4
Figura 2: Detalle de sistema básico de brocas y empleo de lodos de perforación..	6
Figura 3: Diagrama de flujo básico empleado en las pruebas ecotoxicológicas	33
Figura 4: Crecimiento celular (cel./mL) promedio de la microalga epicontinental <i>Chlorella</i> sp. expuesta a distintos tratamientos sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48, 72 y 96 horas.....	51
Figura 5: Concentración de inhibición media de crecimiento celular (ICp) para la microalga epicontinental <i>Chlorella</i> sp. a 24, 48, 72 y 96 horas de exposición a sulfato de bario.	51
Figura 6: Crecimiento celular (cel./mL) promedio de la prueba subletal de inhibición de crecimiento con la microalga marina <i>Isochrysis</i> sp. expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48, 72 y 96 horas..	52
Figura 7: Concentración de inhibición media de crecimiento (IC₅₀) para la microalga marina <i>Isochrysis</i> sp. a las 24, 48, 72 y 96 horas de exposición a sulfato de bario.....	54
Figura 8: Proporción promedio de germinación en la planta dicotiledónea <i>Medicago sativa</i> expuesta a a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; 0,0002; 0,002; 0,02; 0,2 y 2 g/L). *Sig. p<0,05	55
Figura 9: Crecimiento (cm) promedio foliar de la planta dicotiledónea <i>Medicago sativa</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; 0,0002; 0,002; 0,02; 0,2 y 2 g/L). *Sig. p<0,05.....	56
Figura 10: Proporción de promedio de germinación de la planta monocotiledónea <i>Zea mays</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; 0,0002; 0,002; 0,02; 0,2 y 2 g/L). *Sig. p<0,05.....	57
Figura 11: Crecimiento foliar (cm) promedio de la planta monocotiledónea <i>Zea mays</i> expuesta a diferentes concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; 0,0002; 0,002; 0,02; 0,2 y 2 g/L). *Sig. p<0,05.....	58

Figura 12: Porcentaje promedio de supervivencia del cladóceros epicontinental <i>Daphnia</i> sp. expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24 y 48 horas.	59
Figura 13: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto a las 24 y 48 horas sobre el cladóceros epicontinental <i>Daphnia</i> sp.	61
Figura 14: Porcentaje promedio de supervivencia del decápodo marino <i>Emerita analoga</i> expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48 y 96 horas.	62
Figura 15: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto a las 24, 48 y 96 horas sobre el decápodo marino <i>Emerita analoga</i>	63
Figura 16: Porcentaje promedio de supervivencia del decápodo marino <i>Emerita analoga</i> expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a los 7, 14, 20, 30 y 34 días.	64
Figura 17: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto a 1, 2, 4, 7, 14, 14, 20, 30 y 34 días sobre el decápodo marino <i>Emerita analoga</i>	64
Figura 18: Porcentaje promedio de supervivencia del anfípodo marino <i>Apholyale</i> sp. expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; 0,0002; 0,002; 0,02; 0,2 y 2 g/L). *Sig. p<0,05	65
Figura 19: Porcentaje promedio de supervivencia del díptero acuático epicontinental <i>Chironomus calligraphus</i> expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a los 4 y 10 días.	67
Figura 20: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto a los 4 y 10 días sobre el díptero acuático epicontinental <i>Chironomus calligraphus</i>.	67
Figura 21: Porcentaje promedio de fecundación del equinodermo marino <i>Tetrapygyus niger</i> expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; 0,0002; 0,002; 0,02; 0,2 y 2 g/L). *Sig. p<0,05.	68
Figura 22: Porcentaje promedio de supervivencia del pez marino <i>Odontesthes regia regia</i> expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48, 72 y 96 horas.	70
Figura 23: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario y sus formas solubles expuesto a las 24, 48, 72 y 96 horas durante la prueba de toxicidad con el pez marino <i>Odontesthes regia regia</i>.	71

Figura 24: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el pez marino <i>Odontesthes regia regia</i> expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles de los 5 a los 21 días.	71
Figura 25: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto desde los 5 a los 21 días durante la prueba de toxicidad con el pez marino <i>Odontesthes regia regia</i>.....	72
Figura 26: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto desde los 10 a los 13 días durante la prueba de toxicidad con el pez marino <i>Odontesthes regia regia</i>.....	72
Figura 27: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto desde los 14 a los 21 días durante la prueba de toxicidad con el pez marino <i>Odontesthes regia regia</i>.....	73
Figura 28: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental <i>Poecilia reticulata</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48, 72 y 96 horas.	74
Figura 29: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto a las 72 y 96 horas durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental <i>Poecilia reticulata</i>.	74
Figura 30: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental <i>Poecilia reticulata</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles desde los 5 a los 28 días.....	75
Figura 31: Crecimiento (cm) promedio durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental <i>Poecilia reticulata</i> de los 5 a los 28 días expuesto a diferentes concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; 0,0002; 0,002; 0,02; 0,2 y 2 g/L).....	76
Figura 32: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario y sus formas solubles expuesto desde los 5 a los 28 días durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental <i>Poecilia reticulata</i>.....	76
Figura 33: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental <i>Paracheirodon innesi</i> expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	77
Figura 34: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto a las 24, 48 y 96 horas durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental <i>Paracheirodon innesi</i>.	78

Figura 35: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental *Paracheirodon innesi* a los 6, 10, 12, 14, 15 y 16 días expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.78

Figura 36: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto a los 6, 10, 12 y 14 días durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental *Paracheirodon innesi*.79



ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Resumen de propiedades físicas y químicas del sulfato de bario.	10
Cuadro 2: Condiciones para la prueba subletal de inhibición de crecimiento con la microalga <i>Chlorella</i> sp.....	34
Cuadro 3: Condiciones para la prueba subletal de inhibición de crecimiento con la microalga <i>Isochrysis</i> sp.....	35
Cuadro 4: Condiciones para las pruebas subletales de inhibición de germinación y crecimiento con <i>Medicago sativa</i>	36
Cuadro 5: Condiciones para las pruebas subletales de inhibición de germinación y crecimiento con <i>Zea mays</i>	37
Cuadro 6: Condiciones para las pruebas de toxicidad con <i>Daphnia</i> sp.	38
Cuadro 7: Condiciones para la prueba de toxicidad con <i>Apothyale</i> sp.	39
Cuadro 8: Resumen de condiciones para las pruebas de toxicidad con <i>Emerita analoga</i>	40
Cuadro 9: Resumen de condiciones para la prueba de toxicidad con <i>Chironomus calligraphus</i>	41
Cuadro 10: Resumen de condiciones para la prueba subletal de inhibición de fecundación con <i>Tetrapygyus niger</i>	42
Cuadro 11: Resumen de condiciones para las pruebas de toxicidad con <i>Odontesthes regia regia</i>	43
Cuadro 12: Resumen de condiciones para las pruebas de toxicidad con <i>Poecilia reticulata</i>	44
Cuadro 13: Resumen de condiciones para las pruebas de toxicidad con <i>Paracheirodon innesi</i>	45
Cuadro 14: Criterios de las pruebas ecotoxicológicas para las especies evaluadas.	48
Cuadro 15: Interpretación de resultados para determinar el Riesgo Ecológico (RQ)	49
Cuadro 16: Valores de CL ₅₀ (96 horas) que pueden causar daño a los recursos vivos en ambientes marinos.....	53

Cuadro 17: Concentración efectiva media (CE₅₀) de germinación a las 24 horas y Concentración de inhibición media de crecimiento (IC₅₀) a los 10 días de la planta dicotiledónea <i>Medicago sativa</i> expuesta a sulfato de bario y sus formas solubles. ..	56
Cuadro 18: Concentración efectiva media (CE₅₀) de germinación a las 24 horas y Concentración de inhibición media de crecimiento (IC₅₀) a los 10 días de la planta monocotiledónea <i>Zea mays</i> expuesta a sulfato de bario y sus formas solubles.	59
Cuadro 19: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto por 10 días sobre el anfípodo marino <i>Apohyale</i> sp.	63
Cuadro 20: Concentración efectiva media (CE₅₀) del sulfato de bario sobre el equinodermo marino <i>Tetrapygyus niger</i>.	69
Cuadro 21: CE₅₀/CL₅₀/IC₅₀, NOEC obtenidos de las pruebas ecotoxicológicas con sulfato de bario y sus formas solubles.	81



ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Crecimiento celular ($\times 10^6$ cel./mL) de <i>Chlorella</i> sp. a las 24, 48, 72 y 96 horas expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	110
ANEXO 2: pH promedio en la prueba con la microalga <i>Chlorella</i> sp. expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.	110
ANEXO 3: Temperatura promedio en la prueba con la microalga <i>Chlorella</i> sp. expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.	111
ANEXO 4: Crecimiento celular ($\times 10^5$ cel./mL) de <i>Isochrysis</i> sp. a las 24, 48, 72 y 96 horas expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	111
ANEXO 5: pH y temperatura promedio en la prueba con la microalga <i>Isochrysis</i> sp. expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.	111
ANEXO 6: Proporción promedio de germinación de <i>Medicago sativa</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	112
ANEXO 7: Crecimiento promedio (cm) de <i>Medicago sativa</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	112
ANEXO 8: pH, temperatura, conductividad y sólidos disueltos totales promedio en la prueba con <i>Medicago sativa</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.	112
ANEXO 9: Proporción promedio de germinación de <i>Zea mays</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	113
ANEXO 10: Crecimiento promedio (cm) de <i>Zea mays</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	113
ANEXO 11: pH, temperatura, conductividad y sólidos disueltos totales promedio en la prueba con <i>Zea mays</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	113
ANEXO 12: Mortandad de <i>Daphnia</i> sp. a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24 y 48 horas.	114

ANEXO 13: pH, temperatura promedio con <i>Daphnia</i> sp. expuesta a distintos tratamientos de de sulfato de bario y sus formas solubles.....	114
ANEXO 14: Mortandad de <i>Emerita analoga</i> a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48 y 96 horas.....	114
ANEXO 15: Mortandad de <i>Emerita analoga</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48 y 96 horas.....	115
ANEXO 16: pH, temperatura y oxígeno disuelto promedio de pruebas con <i>Emerita analoga</i> expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	115
ANEXO 17: Mortandad de <i>Apohyale</i> sp. a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles y sus formas solubles a los 10 días.....	115
ANEXO 18: pH, temperatura y oxígeno disuelto promedio de pruebas con <i>Apohyale</i> sp. expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles....	116
ANEXO 19: Mortandad de <i>Chironomus calligraphus</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a los 4 y 10 días.....	116
ANEXO 20: pH, temperatura, conductividad y sólidos disueltos totales promedio de la prueba con <i>Chironomus calligraphus</i> expuesto a distintos tratamientos de sulfato y sus formas solubles de bario.	116
ANEXO 21: Óvulos no fecundados de <i>Tetrapygnus niger</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	117
ANEXO 22: pH y temperatura promedio con <i>Tetrapygnus niger</i> expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	117
ANEXO 23: Mortandad de <i>Odontesthes regia regia</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48, 72 y 96 horas.	117
ANEXO 24: pH, temperatura, oxígeno disuelto y salinidad promedio con <i>Odontesthes regia regia</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles hasta las 96 horas	118
ANEXO 25: Mortandad de <i>Odontesthes regia regia</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles de los 5 a los 21 días.	118
ANEXO 26: pH, temperatura, oxígeno disuelto y salinidad promedio con <i>Odontesthes regia regia</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles hasta los 21 días	119
ANEXO 27: Mortandad de <i>Poecilia reticulata</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48, 72 y 96 horas.....	119

ANEXO 28: Mortandad de <i>Poecilia reticulata</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles de los 5 a los 28 días.....	120
ANEXO 29: pH, temperatura, conductividad y sólidos disueltos totales promedio con <i>Poecilia reticulata</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	120
ANEXO 30: Mortandad de <i>Paracheiroduon innesi</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48 y 96 horas.....	121
ANEXO 31: pH, temperatura, conductividad y sólidos disueltos totales promedio con <i>Paracheiroduon innesi</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles hasta las 96 horas.	121
ANEXO 32: Mortandad de <i>Paracheiroduon innesi</i> a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a los 6, 10, 12 y 14 días.....	121
ANEXO 33: Temperatura promedio con <i>Paracheiroduon innesi</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	122
ANEXO 34: pH promedio con <i>Paracheiroduon innesi</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	122
ANEXO 35: Conductividad promedio con <i>Paracheiroduon innesi</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.....	123
ANEXO 36: Sólidos disueltos totales promedio con <i>Paracheiroduon innesi</i> expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.	123

RESUMEN

Se desconoce el efecto del sulfato de bario en los ecosistemas acuáticos donde se realizan actividades hidrocarburíferas y que vienen incrementándose a nivel nacional. Por tal motivo, se evaluó el riesgo ecológico del sulfato de bario empleando la respuesta ecotoxicológica de doce organismos no destinatarios a fin de conocer los posibles efectos que este compuesto pudiera estar ocasionando a los organismos relacionados a los ecosistemas marinos y epicontinentales donde se desarrollan actividades hidrocarburíferas. Las pruebas ecotoxicológicas incluyeron a las microalgas *Isochrysis* sp., *Chlorella* sp., las plantas terrestres *Medicago sativa* y *Zea mays*, los crustáceos *Daphnia* sp., *Emerita analoga* y *Apohyale* sp., al equinodermo *Tetrapygus niger*, al insecto acuático *Chironomus calligraphus*, y a los peces *Odontesthes regia regia*, *Poecilia reticulata* y *Paracheirodon innesi*. Las mediciones de los parámetros y protocolos para las pruebas como la determinación del riesgo ecológico siguieron las pautas y recomendaciones de la USEPA y otros autores. De los principales resultados ecotoxicológicos con sulfato de bario y sus formas solubles, se obtuvo un efecto negativo del sulfato de bario sobre el crecimiento celular de la microalga epicontinental *Chlorella* sp. (96 h), que registró una concentración de inhibición media (CI₅₀) de 0,1 g/L y una concentración efectiva no observable (NOEC) de 0,02 g/L. Así mismo, se obtuvo un efecto negativo del bario sobre el crecimiento foliar de la planta terrestre monocotiledónea *Z. mays* (10 d) que registró una concentración efectiva media (CE₅₀) de 0,0011 g/L y una NOEC de 0,0002 g/L. Finalmente, se concluye que existe alto riesgo ecológico (RQ) del sulfato de bario (RQ = 1,224) y sus formas solubles (RQ = 37 500) empleando la respuesta ecotoxicológica de doce organismos no destinatarios.

Palabras clave: Concentración de inhibición media, concentración efectiva media, concentración efectiva no observable, pruebas ecotoxicológicas, riesgo ecológico, sulfato de bario.

ABSTRACT

The effect of barium sulfate in aquatic ecosystems related to where hydrocarbon activities are performed nationally is unknown. Therefore, the environmental risk of barium sulfate was undertaken using the ecotoxicological response of twelve non-target organisms in order to know the effects that this compound may be cause to organisms related to marine and continental ecosystems where hydrocarbon activities are developed. Ecotoxicological tests included the microalgae *Isochrysis* sp., and *Chlorella* sp., terrestrial plants *Medicago sativa* and *Zea mays*, crustaceans *Daphnia* sp., *Emerita analoga*, and *Apohyale* sp., the echinoderm *Tetrapygnus niger*, the aquatic insect *Chironomus calligraphus*, and fishes *Odontesthes regia regia*, *Poecilia reticulata*, and *Paracheirodon innesi*. Measurements of parameters and bioassays protocols as the environmental risk assessment followed the USEPA guidelines and recommendations and other authors. Mainly ecotoxicological results with barium sulfate and soluble forms, showed a negative effect of barium sulfate on cell growth of epicontinental microalgae *Chlorella* sp. (96 h), which recorded a mean inhibition concentration (IC₅₀) of 0,1 g/L and an unobservable effective concentration (NOEC) of 0,02 g/L. Likewise, a negative effect of barium on leaf growth of monocot terrestrial plant *Z. mays* (10 d) which recorded a median effective concentration (EC₅₀) of 0,0011 g/L and NOEC of 0,0002 g/L. Finally, it concludes that there is high environmental risk (RQ) of barium sulfate (RQ = 1,224) and soluble forms (RQ = 37 500) using the ecotoxicological response of twelve non-target organisms.

Keywords: barium sulfate, environmental risk, ecotoxicological tests, mean inhibition concentration, median effective concentration, no observable effective concentration.

I. INTRODUCCIÓN

Frente al incremento de las actividades de hidrocarburos en el país, se elaboró un Reglamento, Cronograma y Procedimiento de Aprobación de los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) de agua (DS N° 002-2008-MINAM) y Límites de Máximos Permisibles (LMP) que incluía al elemento bario en sedimentos marinos y continentales (DS N° 033-2007-PCM). Aunque se conocen los valores aceptables de este elemento en sus formas solubles y volátiles, poco se ha investigado sobre los valores de sus formas insolubles y sedimentables, especialmente del sulfato de bario, compuesto muy empleado en las actividades de exploración y explotación petrolera en el Perú, así como su efecto tóxico en los organismos que habitan principalmente los ecosistemas acuáticos.

La amenaza principal que trasciende del empleo del sulfato de bario a pesar de su aparente difícil biodisponibilidad como sustancia tóxica para el hombre y para la mayoría de organismos, radica en que este compuesto debido a su densidad tiende a acumularse en los fondos oceánicos o suelos continentales, donde se realiza la extracción de petróleo. Motivo por el cual, el elemento bario disociado, podría ser incorporado progresivamente en la dieta de los organismos, principalmente bentónicos, que habitan estos ecosistemas acuáticos. Se desconocen la disponibilidad y los efectos que pudieran estar causando el dinamismo de este elemento en distintas comunidades en sus distintos niveles tróficos.

Actualmente, se vienen empleando en casi todo el mundo, ensayos ecotoxicológicos como sistemas efectivos de alerta ambiental que orientan a la toma de decisiones nacionales en la protección de sus recursos naturales en busca del desarrollo sostenible de los países. El fundamento de estos ensayos ecotoxicológicos es la determinación de valores límites de las sustancias tóxicas en el ambiente, empleando a los sistemas biológicos como sensores ambientales.

Son numerosos los compuestos químicos que entran al ambiente como resultado de diversas actividades antrópicas y pueden ocasionar impactos adversos para la salud humana y del entorno. Dada la abundancia de estos compuestos, y la enorme cantidad de sus efectos adversos potenciales, para los investigadores y para los gobiernos es necesario contar con una sistemática, con bases científicas, que permitan evaluar cuantitativamente y cualitativamente los riesgos inherentes a dichos contaminantes, así como jerarquizar los peligros potenciales (Albert 1997).

El objetivo de esta investigación fue determinar el riesgo ecológico del sulfato de bario, empleando la respuesta ecotoxicológica de doce organismos no destinatarios.



II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ASPECTOS GENERALES DE LOS HIDROCARBUROS

Los hidrocarburos, petróleo y gas natural, tienen una importancia muy grande para el funcionamiento de la economía mundial, ya que suministran aproximadamente el 65 % de la energía que requiere el total de actividades industriales, el transporte, el comercio, el entretenimiento y el hogar (Antezana 2008).

El Perú tiene aproximadamente 70 millones de hectáreas repartidas en 16 cuencas sedimentarias con potencial hidrocarburífero. Los estudios efectuados han identificado gran potencial hidrocarburífero en zonas como la cuenca del Titicaca y en el Zócalo Continental, además de la cuenca de Talara y la Amazonía (SNMPE 2014).

De acuerdo con lo señalado en el Marco Macroeconómico Multianual (MMM) 2015 - 2017 elaborado por el Ministerio de Economía y Finanzas (MEF) (aprobado el 27 de agosto de 2014 por el Consejo de Ministros), el Sector Minería e Hidrocarburos, crecería un 8,1 %.

La Agencia Internacional de Energía (AIE) elevó su previsión de la demanda de crudo mundial en 1,6 millones de barriles de petróleo por día (bpd) en el 2015, un aumento de 260 000 bpd (barriles por día) respecto a la previsión de setiembre de 2015, debido al sólido crecimiento económico y a que los consumidores respondieron a los bajos precios. Se trata del mayor crecimiento de la demanda en 5 años y representa un alza significativa del consumo respecto al aumento de apenas 0,7 millones de bpd en el 2014. La AIE agregó que la fortaleza macroeconómica apoyará un crecimiento de la demanda por encima del promedio de 1,4 millones de bpd en 2016, por encima del alza de 410 000 bpd entregado en su estimación anterior.

En la Figura 1 se muestran los lotes contratados para operaciones petroleras en el país (MINEM 2016). Así mismo, Finer (2008) y Finer y Orta-Martínez (2010) muestran en su estudio las actividades de exploración y explotación de gas y petróleo en la Amazonía Peruana pueden alcanzar los 132 pozos de perforación.

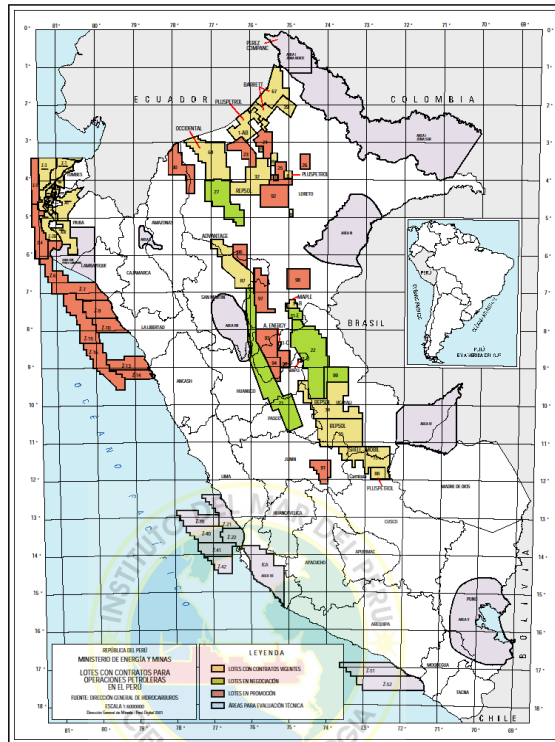


Figura 1: Lotes contratados para operaciones petroleras en el Perú.
FUENTE: MINEM (2016)

Las principales fuentes de contaminación del aire, el agua y el suelo en la producción de petróleo y gas natural son:

- los vertidos de petróleo
- las emanaciones de gas en tierra o en el mar,
- ácido sulfhídrico presente en el petróleo,
- emanaciones de gas a la atmósfera,
- productos químicos peligrosos presentes en el lodo de perforación que contaminan el agua o la tierra (sulfato de bario),
- productos de la combustión de los incendios de pozos de petróleo. (Kraus 1998)

El lodo de perforación es un líquido compuesto de agua o petróleo y arcilla con aditivos químicos (por ejemplo, formaldehído, cal, hidrácido de sodio, sulfato de bario). A menudo se añade soda cáustica para controlar el pH (acidez) del lodo de perforación y neutralizar aditivos del lodo y líquidos de terminación potencialmente peligrosos. El lodo de perforación se inyecta en el pozo bajo presión desde el tanque de mezcla en la plataforma de perforación, por el interior de la tubería de perforación hasta la barrena (Kraus 1998).

Este lodo de perforación es un líquido con propiedades reológicas controladas que se hace circular hacia la parte inferior de la sarta de perforación, a través de una broca y hacia la parte superior del ánulo de la tubería/agujero hacia la superficie (Figura 2). La función principal del lodo de perforación es llevar los cortes de perforación hacia la superficie; sin embargo, también sirve para otras funciones. El fluido para producir lodo de perforación puede ser agua dulce, agua salada o petróleo. Se añaden químicos al fluido basándose en características medidas para mantener las propiedades deseadas de acuerdo con lo definido en el programa de lodos. Las sustancias químicas más comunes son el sulfato de bario, bentonita, soda cáustica, cloruro de sodio, cloruro de potasio, así como polímeros orgánicos (DGAA 1997).

Después, el lodo asciende por entre la superficie exterior de la tubería de perforación y las paredes del agujero y vuelve a la superficie, donde se filtra y recicla. El lodo de perforación se utiliza para refrigerar y lubricar la barrena, lubricar la tubería y expulsar del agujero de perforación los fragmentos de roca triturados. El lodo de perforación se utiliza también para controlar el flujo que sale del pozo, al revestir las paredes del agujero y oponer resistencia a la presión del gas, petróleo o agua que encuentre la barrena. Se pueden inyectar chorros de lodo a presión en el fondo del agujero para facilitar la perforación. (Kraus 1998)

Las actividades de la industria hidrocarburífera impactan no sólo sobre los ecosistemas naturales, sino también afectan a las comunidades humanas situadas en zonas de extracción o de potencial explotación. La mayoría de zonas con riesgo por contaminación hidrocarburífera están ubicadas en la Amazonía, que ya se encuentra lotizada para actividades de exploración, perforación y explotación del recurso - petrolero. Muchas de estas zonas se encuentran cercanas a las principales ciudades, pueblos y comunidades nativas, y circundando áreas naturales de protección, donde se hace necesario que las

normativas con un buen soporte técnico científico puedan armonizar las distintas actividades antropogénicas con las funciones ecológicas propias de dichos ecosistemas. Así por ejemplo, Martínez et al. (2007) mencionan que en el Perú existen comunidades nativas al noreste amazónico como la Achuar que conviven de manera negativa con las actividades de extracción petrolera desde 1970.

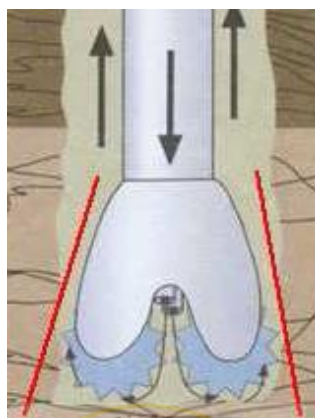


Figura 2: Detalle de sistema básico de brocas y empleo de lodos de perforación.

FUENTE: DGAA (1997).

2.2. BARIO

El elemento químico bario ocupa el decimoctavo lugar en abundancia en la corteza terrestre, en donde se encuentra en un 0,04 %. Este es un metal plateado-blancuzco que puede ser encontrado en el medioambiente, donde existe de forma natural. Aparece combinado con otros elementos químicos, como el azufre, carbón u oxígeno. Debido a su uso extensivo en las industrias, éste ha sido liberado al ambiente en grandes cantidades (Emsley 2001, Wright 2003, Greenwood y Earnshaw 1997). Holmes (1981) reporta que es un elemento que permite detectar un aporte antropogénico.

El bario disuelto en el agua se combina rápidamente con los iones sulfato o carbonato, que ocurren naturalmente en el agua, y se transforman luego a formas que duran mucho tiempo en el ambiente y que se encuentran con mayor frecuencia en los análisis del agua natural (ATSDR 2016).

La ingestión de una cantidad muy alta de estos compuestos de bario solubles en agua o en el contenido estomacal produce alteraciones del ritmo cardíaco o parálisis. Algunas personas que no recibieron tratamiento médico enseguida después de ingerir cantidades altas de este elemento, fallecieron. Algunas personas que ingieren cantidades más bajas durante un período breve pueden sufrir vómitos, calambres estomacales, diarrea, dificultad para respirar, alteraciones de la presión sanguínea, adormecimiento de la cara y debilidad muscular (ATSDR 2016).

En la normativa nacional actual (DS N°002-2008-MINAM) sobre los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua, en la Categoría 1, Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable; Subcategoría A1, sobre Aguas que pueden ser potabilizadas con desinfección; Subcategoría A2, Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional; Subcategoría B1, Aguas destinadas para la recreación de contacto primario; Categoría 4, Conservación del ambiente acuático, en lagunas y lagos, y en ríos de la costa y sierra, se toman en consideración niveles máximos de bario disuelto en medios acuáticos de hasta 0,7 mg/L. Mientras que, en la Categoría 1, Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable; Subcategoría A3, Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento avanzado; Categoría 4, Conservación del ambiente acuático, en ríos de la selva y en estuarios de los ecosistemas marino costeros consideran niveles máximos de bario disuelto en medios acuáticos de hasta 1 mg/L.

En los Estándares de Calidad Ambiental para Suelo (DS N°002-2013-MINAM), se considera valores de entre 500 a 2 000 mg/kg de bario total por materia seca de suelo.

Así mismo, la Guía para la Evaluación de Impactos en la Calidad de las Aguas Superficiales por Actividades Minero Metalúrgicas, elaborada por el Ministerio de Energía y Minas en el 2007 señala, en base a la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2004), no sobrepasar el valor de 0,7 mg/L de bario en los efluentes provenientes de dichas actividades. Así mismo, el CCME (Consejo Canadiense de Ministros del Ambiente, de sus siglas en inglés) (2007) recomienda no sobrepasar el valor de 1 mg/L de bario en sus actividades minero metalúrgicas.

Las concentraciones de bario en agua dulce acuática está en el rango de 7 a 15 mg/L, mientras que en agua de mar, en valores cercanos a 6 mg/L, según Schroeder (1972). Sin embargo, el promedio de bario puede variar en agua de mar, por ejemplo en Norteamérica llegan a valores entre 43 a 57 mg/L (Durum 1960, Kopp 1969, Kopp y Kroner 1970, Schroeder 1970, Bradford 1971). Bernat et al. (1972) encontró rangos de concentración de bario entre 5,2 y 25,2 mg/L en el Océano Pacífico.

El flujo de bario soluble en el Océano Pacífico varía aproximadamente a razón de 0,4 a 0,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{año}$, mientras que en ríos se ha calculado una razón de 0,6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{año}$ (Dehairs et al 1980). Además, existe una correlación positiva respecto a dicho flujo y la composición de carbón orgánico que indican procesos naturales de paleoproduktividad a nivel de los fondos marinos (Dymond et al 1992, Gonnee y Paytan 2006, Sun et al 2013).

Mientras que los valores de bario en sedimentos en el estado norteamericano de Iowa registraron rangos entre 450 y 3 000 mg/kg, según estudios realizados por Tsai et al (1978). El Departamento de Calidad Ambiental del Estado de Óregon de los Estados Unidos (1998), en su Guía para la Evaluación de Riesgo Ecológico, muestra valores referenciales de los niveles de bario y sus compuestos expuestos en suelo y agua superficial en receptores terrestres como plantas (500 mg/kg), invertebrados (3 000 mg/kg), aves (85 mg/kg), mamíferos (638 mg/kg), organismos acuáticos (0,004 mg/kg), aves acuáticas (150 mg/kg) y mamíferos acuáticos (39 mg/kg).

Como resultado de las operaciones de producción de petróleo desde el año 1971 a abril de 2009, el vertimiento diario de grandes volúmenes de agua de formación sin tratamiento adecuado y directamente al medio natural (quebradas) ha producido cambios drásticos en el medio paisajista principalmente y considerando los resultados obtenidos de manera similar con respecto a valores mayores a los LMP con los realizados por el OSINERG en julio 2003, se concluyó que de los campos petroleros en 34 existían contaminantes suficientes en cantidades mayores a los LMP para poner en riesgo la existencia de la flora y fauna en el Lote 1-AB y afectar las fuentes hídricas y por lo tanto, a las comunidades nativas asentadas en los ríos cercanos a las instalaciones del Lote 1-AB. Así mismo, en el mes de noviembre del año 2003, OSINERG realizó otra visita especial al Lote 8 y pudo verificar la afectación de una extensión aproximada de 100 hectáreas de suelos de bosques humedales debido, a las altas concentraciones de bario en las aguas de producción, así como a las altas temperaturas

(muchas veces más de 80°C) con que se vertían aproximadamente 77 000 barriles al día en Pavayacu. (OSINERGMIN 2009).

Por otro lado, se conoce que el bario es un catión soluble y fuertemente hidratante, basta que se libere su forma soluble de un sedimento para que se movilice en alguna matriz acuosa y pueda generar efectos nocivos (McBride 1994).

Menzie et al. (2008) confirman la importancia de diferenciar los distintos compuestos de bario, ya que la solubilidad marcaría una diferencia en la bioacumulación y riesgo a distintos organismos de los ecosistemas. Refiere, además, la toxicidad de su forma de sulfato hacia invertebrados, plantas y toda vida silvestre.

2.3. SULFATO DE BARIO

El sulfato de bario es un mineral relativamente común, de bajo precio y producido en más de 40 países. China ha emergido como el principal exportador de sulfato de bario en el mundo (2 a 3 millones de toneladas), le sigue Marruecos (300 mil toneladas), y Turquía (120 mil toneladas). Estados Unidos es el principal importador (1 a 2 millones de toneladas de sulfato de bario) principalmente de China (89%), India (8%) y otros (3%). Otros importadores son Alemania (250 mil toneladas), Reino Unido (100 mil toneladas), Venezuela (150 mil toneladas) y Japón (100 mil toneladas) (Instituto Geológico y Minero de España 2005). El Perú produce entre 76 y 75 mil toneladas de sulfato de bario, según reportes del 2012 y 2013 del United States Geological Survey, Mineral Commodity Summaries (2015).

Se desconoce la cantidad de sulfato de bario empleada a nivel nacional, pero puede reconocerse que el incremento de producción hidrocarburífera a nivel nacional podría incrementar su empleo tanto de la producción nacional o de la importada que indudablemente son de uso necesario para la extracción del recurso petrolífero y que estarían siendo vertidos en muchas de las zonas concesionadas para esta actividad por las autoridades del sector.

Según la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades de los Estados Unidos (ATSDR, por sus siglas en inglés), el sulfato de bario, es empleado por la industria petrolera e industrias de gas para fabricar lodos de perforación (ATSDR 2016).

Además, Kemmer y McCallion (1997) mencionan que es un componente terciario presente en aguas naturales que contienen bicarbonato y sulfato, y su solubilidad está por debajo de 0,1 mg/L y rara vez en concentraciones mayores a 0,05 mg/L.

Las propiedades físicas y químicas de sulfato de bario según la ATSDR (2016) se resumen en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Resumen de propiedades físicas y químicas del sulfato de bario.

N° Registro CAS	7727 - 43 - 7
Peso molecular (g/mol)	233,4
Punto de fusión (°C)	1 580
Punto de ebullición (°C)	1 149
Solubilidad en agua (g/L)	0,00222 a 0°C
	0,002448 a 20°C
	0,00413 a 100°C
Gravedad específica	4,5 a 15 °C

FUENTE: ATSDR (2016)

El límite propuesto por la OSHA (2015) para polvos de sulfato de bario en el aire del trabajo es de 1,5 mg/m³ y 5 mg/m³ para la fracción respirable. NIOSH (2015) también recomienda límites de 10 mg/m³ para polvos de sulfato de bario y 5 mg/m³ para la fracción respirable.

Por otro lado, la Resolución Directoral N° 0127-97/DCG, establece el significado de los contaminantes del mar y los criterios para su identificación. En esta se define a los lodos o fangos con el término “hidrocarburos”. Así mismo, se exponen los niveles de efectos

adversos o toxicidad en los recursos vivos del medio marino mediante un índice referenciado según la concentración letal media (CL₅₀) determinado con los organismos prueba expuestos por 96 horas. Para CL₅₀ superiores a 1 000 mg/L, se le considera “No peligrosa”; entre 100 y 1 000 mg/L, “Prácticamente atóxica”; entre 10 y 100 mg/L, “Ligeramente tóxica”; entre 1 y 10 mg/L, “Moderadamente tóxica”; y menores de 1 mg/L, “Sumamente tóxica”.

El proceso químico de liberación o proceso de disociación de bario a partir de sulfato de bario, se muestra a continuación:



Dehairs et al (1980) muestran, a partir de varias observaciones, que son los procesos bioquímicos y no puramente químicos, los que están involucrados en la formación de sulfato de bario en la columna de agua de mar. Estos procesos pueden darse en columnas de sedimentos, dentro de microorganismos y bajo efectos de zonas hidrotermales (Torres et al. 1996, Dymond et al. 1992, 1996). Así mismo, ellos demostraron que la tasa de carbono orgánico y bario dependen fuertemente de la profundidad. Menores flujos de carbono orgánico, otorgan mayores flujos de este elemento, y que éste decrece con la profundidad. Recomiendan el empleo de la relación bario: sulfato de bario como indicador de productividad biológica en el mar.

González-Muñoz et al. (2012) mostraron la posible formación de sulfato de bario por bacterias marinas de los géneros *Idiomarina* y *Marinobacter*. Dehairs et al. (1980) y Bishop (1988) mencionan que los cristales de sulfato de bario son más abundantes especialmente a profundidades entre los 500 y 1 500 m, donde la mayoría de materia orgánica es regenerada. Bolze et al. (1974) explican la movilización del bario contenido en sulfato de bario por procesos de sulfato reducción de bacterias anaeróbicas. González-Muñoz et al. (2012) explican la formación natural de sulfato de bario a partir de bario disuelto por algunas bacterias marinas.

A pesar de que el sulfato de bario bajo condiciones aeróbicas tiende fácilmente a formar sales relativamente estables, por lo que no suele ser considerado una sustancia tóxica

(Brumsack y Gieskes 1983), puede estar accesible a organismos bentónicos que pueden verse afectados y a su vez acarrear su biodisponibilidad en niveles tróficos superiores. Por otro lado, bajo condiciones anaeróbicas permiten la solubilización del sulfato de bario en bario soluble a raíz de la participación bacteriana, por lo que se hace reducir los riesgos de toxicidad en zonas donde persisten fangos, en especial en zonas de explotación petrolera en el continente, sin desmerecer las posibilidades de interacción bacteriana en zonas marinas donde existe el riesgo de sedimentación y acumulación de materia orgánica, proporcionando en ambos casos las condiciones óptimas para la proliferación de comunidades bacterianas del tipo sulfato reductoras (Bolze et al 1974, Senko et al 2004, González-Muñoz et al 2012). Miller et al. (1977) mencionan que la asociación de formaciones sedimentarias de sulfato de bario puede concentrar zonas de biogénesis por la presencia de ácidos grasos asociados a estos sustratos.

La Ley N° 26221, autoriza el empleo del sulfato de bario en las actividades hidrocarburíferas en el país. De acuerdo a la Resolución Directoral N° 030-96-EM/DGAA, los LMP de bario en efluentes líquidos de las actividades de hidrocarburos, tomados en cualquier momento, es de 5,0 mg/L, mientras que el promedio anual no debe exceder los 3,0 mg/L. Mientras que el Decreto Supremo 032-2004-EM, permite el empleo del sulfato de bario en la exploración y explotación del recurso hidrocarburífero como aditivo en los lodos de perforación.

Según Daugherty (1951), niveles de 7 500 mg/L de sulfato de bario no han generado muertes en distintos organismos que incluyen peces marinos, crustáceos y moluscos, asociados a las operaciones con lodos de perforación.

El Reglamento para la Protección Ambiental en las Actividades de Hidrocarburos (DS. 015-2006-EM) en su artículo 73, menciona que los lodos con base acuosa y las partículas contenidas en ellos, pueden ser descargados sin tratamiento por debajo de los 10 m de la superficie del mar o lago.

La fuente principal de sólidos en el fluido de perforación es el sulfato de bario, seguido por las arcillas que adicionan modificaciones en la viscosidad. Una descarga de sulfato de bario

puede afectar potencialmente a las poblaciones de invertebrados y a la estructura de la comunidad bentónica. Este sulfato de bario generalmente posee varios contaminantes traza asociados como mercurio, cadmio, arsénico, cromo, cobre, plomo, níquel y zinc. (USEPA 1999)

Tagatz et al. (1978) y Cantelmo et al. (1979) mencionan que el sulfato de bario puede afectar negativamente la colonización de organismos bentónicos. Lepland et al. (2008) detectan acumulaciones sedimentarias de sulfato de bario y niveles de bario en arrecifes coralinos cercanos a actividad hidrocarburífera.

El origen de la contaminación por sulfato de bario no sólo se realiza por actividades hidrocarburíferas. Los desechos hospitalarios también incluyen aquellos desechos líquidos que son vertidos en la gran mayoría de los casos a la red cloacal sin tratamiento previo. El sulfato de bario es empleado como contrastante durante la radiación X a nivel estomacal. Igualmente, ocurre con los derivados de sulfato de bario empleados en la industria de la pintura, soldaduras, entre otras aplicaciones, los cuáles de alguna manera llegan a los alcantarillados sin ningún tratamiento y son vertidos en ríos que terminan en las costas de las ciudades acumulándose progresivamente (Tirado 2003). Se denomina baritosis a los cuadros clínicos resultado de la exposición de formas insolubles de bario. Seaton et al. (1986), Doig (1976), Pendergrass y Greening (1953) también reportan varios casos reportados de baritosis en trabajadores expuestos a sulfato de bario.

Lepland et al. (2008) reportaron la acumulación de hasta 2 cm de altura de sulfato de bario y procesos de dispersión de restos de hidrocarburos hasta de 4 km a la redonda, en zonas de coral próximas a zonas de exploración con perforación petrolera con un año de ejecución de actividad. Igualmente, Jesús-Navarrete (1993) mostró en un estudio la colecta de sedimentos de dos años de antigüedad en zonas adyacentes a la explotación de hidrocarburos que fueron consideradas como elevadas y asociadas directamente a dichas actividades.

Menzie et al. (2008) mencionan la importancia de conocer las especies químicas del sulfato de bario en su dinámica ambiental, antes que analizar el riesgo de la presencia de bario en el mismo. Corroboran la importancia del factor solubilidad del elemento para ser considerado

tóxico pero no reducen las posibilidades de que bajo ciertas condiciones puede liberarse del sulfato de bario, incluso determinan que no existe una correlación en su toxicidad respecto a su concentración en el suelo.

Por otro lado, no sólo la disponibilidad de bario a partir de sulfato de bario puede ocasionar daños directos, sino también el efecto físico que ocasiona sobre la granulometría y el grado de percolación de oxígeno en el agua de poro, y éstas podrían estar afectando potencialmente las comunidades meiobentónicas como lo presentan Cantelmo et al (1979).

La USEPA (1997) eliminó al sulfato de bario de la categoría de los compuestos tóxicos de bario. Ellos concluyeron que el sulfato de bario no generaba un efecto tóxico como se muestra en las secciones EPCRA 313(d)(2)(A), (B) o (C) del documento 62 FR 366 1997. Sin embargo, afirman que solamente se halla bajo forma sedimentable en condiciones anaeróbicas de cuerpos de agua estancada alejadas de la superficie y en aguas interiores (condiciones que no pueden causar toxicidad o permitir una exposición humana del ion). La USEPA atribuye la baja toxicidad del sulfato de bario, a su baja solubilidad (2,4 mg/L a 25 °C), de su fuerte afinidad del ion al sulfato, y de su baja disponibilidad de este ion.

La guía ambiental del MEM menciona que la inhibición de su forma en sulfato incrementa a medida que la temperatura disminuye, especialmente a los 5 °C (MEM 2007).

En los Estados Unidos se adopta como norma el “Clean Water Act”, la cual regula las descargas de materiales en los cursos de agua y mares territoriales de los EEUU. Entre los lineamientos que controlan la disposición de los recortes o fluidos de perforación está la prohibición de descargar aceite libre (detectado mediante prueba de espesor de película), límites en el contenido de cadmio y mercurio en el sulfato de bario de los lodos, prohibición de descarga de lodos/recortes que contengan diésel y prohibición de descarga directa de todo lodo/recorte en las primeras 3 millas de costa (Silva 1999).

Otros autores, consideran que existe riesgo considerable cuando los componentes comunes de los lodos de perforación pueden solubilizar el bario, generando descargas peligrosas (Doyle 1994).

2.4. DATOS DE TOXICIDAD

Se muestra a continuación una recopilación de evidencias sobre daños y enfermedades ocasionadas por el sulfato de bario y sus formas solubles, tanto en poblaciones humanas como los efectos en otras poblaciones de organismos mediante diversas pruebas de toxicidad.

Dallas y Williams (2001) mencionan que las dosis de bario en la ingesta humana han incrementado en casi una unidad logarítmica de 0,07 mg/kg/d a 0,6 mg/kg/d. Sin embargo, mencionan el amplio rango de efectividad de absorción del bario en distintos tejidos de animales en prueba. Se desconoce el uso como contraste para radiodiagnóstico del sulfato de bario, sin embargo, la capacidad de absorción de bario a partir de los alimentos naturales es de hasta un 91 % y de 9 ± 6 % de absorción de medicamentos conteniendo bario (Lisk et al. 1988).

Bligh (1960), Claval et al. (1987) y Mauras et al. (1983) demostraron incrementos estadísticamente significativos en la absorción de bario en sangre y orina a partir de dosis de sulfato de bario de contraste digestivos para radiodiagnósticos. Por otro lado, la necrosis aguda tubular es aparentemente causada por la precipitación de sulfato de bario, obstruyéndose los túbulos renales (USEPA 2005).

En estudios toxicológicos, McCauley y Washington (1983) y Stoewsand et al. (1988) mencionan que en un estudio con ratas absorbieron bario en sangre y otros tejidos a partir de sulfato de bario. Los niveles de acidez alcanzados en el estómago proporcionaron el pH adecuado para permitir la solubilidad del sulfato de bario y poner a disposición el bario dentro del organismo.

Uchiyama et al. (1995) obtuvieron diagnósticos confirmados de bronconeumonía y bronquitis en más del 50 % de conejos sometidos a sulfato de bario del 85 % de pureza a partir de simples dosis intertraqueales.

Lee et al. (1999) muestran en un estudio el efecto negativo del sulfato de bario en asociación con otros componentes del fluido de perforación sobre la tasa de crecimiento y supervivencia de las vieiras *Placopecten magellanicus*. También, Barlow et al. (2001) muestran el efecto adverso del sulfato de bario en las ctenidias de las especies de bivalvos *Cerastoderma edule* y *Macoma balthica*.

Brannon et al. (1979) muestran los efectos a nivel del exoesqueleto, hepatopáncreas y músculo abdominal en el camarón *Palaemonetes pugio* expuestos a sulfato de bario. También, Strachan et al. (2012) muestran los efectos letales del sulfato de bario en cuatro especies de bivalvos: *Modiolus modiolus*, *Venerupis senegalensis*, *Dosinia exoleta* y *Chlamys varia*, donde también, demostraron efectos letales en un 100 % en un ensayo con bivalvos expuestos a sulfato de bario, causando efectos en las superficies de sus branquias por daño físico directo.

Wytttenbach et al. (1991) mostraron como algunas plantas podían incorporar bario en su organismo a partir de suelos con sulfato de bario, aunque aún no está bien establecido como es que pueden lograr su absorción y translocación del bario absorbido desde las raíces a los demás órganos de la planta.

Lamb et al. (2013) manifiestan mediante un estudio en la lombriz *Eisenia foetida* y la lechuga *Lactuca sativa* los efectos negativos de suelos contaminados con sulfato de bario.

Lira et al. (2011) muestran también efectos negativos en un nemátodo marino a concentraciones de cercanos a 3 mg/L de bario en experimentos realizados en microcosmos. Así mismo, existen reportes de asociación del elemento radio durante la liberación de bario soluble a partir de sulfato de bario en el empleo de lodos de perforación asociados a la actividad hidrocarbúrfera (Phillips et al 2010, Veguería et al 2002).

2.5. PRUEBAS ECOTOXICOLÓGICAS

El PNUMA (Programa de las Naciones Unidas para el Ambiente) considera como criterio para la evaluación de las sustancias, no sólo la exposición humana o los efectos indeseables

de las sustancias sobre la salud, sino también toman en cuenta el potencial de las sustancias para causar daño a largo plazo en los organismos vivos en general, en los ecosistemas y en los ámbitos regional y global (Albert 1997).

Existen diversos organismos de protección ambiental como la Environment Canada, USEPA, y de estandarización, como la Sociedad Americana para Pruebas y Materiales (ASTM, por sus siglas en inglés), OECD, Asociación de Comunidades de Analistas de los Estado Unidos (AOAC, por sus siglas en inglés), Organización Internacional de Normalización (ISO, por sus siglas en inglés) que han concretado la elaboración e implementación de sistemas de diagnóstico, base para la generación de estrategias ecosistémicas de protección ambiental (Albert 1997).

La determinación instrumental química de elementos y compuestos tóxicos propuesta por diversos organismos de protección ambiental internacional suele ser muy costosa; además no da más que una referencia de medición puntual. Por tal motivo, muchas instituciones en todo el mundo, como la USEPA de los Estados Unidos vienen desarrollando hace muchos años nuevas estrategias de monitoreo ambiental para determinar el grado de contaminación en el medio ambiente empleando organismos biológicos (Biesinger et al. 1987, Horning y Weber 1985). Así mismo, se han establecido centros de investigación en otras partes del mundo como Canadá, China, India, Japón y distintos países en Europa (Alemania, Irlanda, Reino Unido, Francia, Italia, España, Inglaterra), pero también se han desarrollado iniciativas en países latinoamericanos como en Brasil, Argentina, Chile y Venezuela, quienes cuentan con laboratorios especializados en líneas de ecotoxicología referenciales en anfibios, cladóceros, bivalvos, entre otros (RACUA 2012).

Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas (Castillo 2004).

De manera general, estos bioensayos, también llamados pruebas de toxicidad, pueden ser definidos de acuerdo a su duración: corto, mediano o largo plazo; el método utilizado para incorporar la muestra al sistema de bioensayo: estático, con renovación (completa o parcial), de flujo continuo; el propósito para el cual son utilizados: control de calidad de vertidos,

evaluación de compuestos específicos, toxicidad relativa, sensibilidad relativa, entre otros (Castillo 2004).

La ecotoxicología es la rama de la ciencia definida por Butler en 1978, que estudia y analiza los efectos de agentes físicos y químicos sobre organismos vivos, con particular atención a poblaciones y comunidades de ecosistemas definidos. Su rama aplicada tiene como objetivo el desarrollo de protocolos de ensayo para ser utilizados como herramientas de predicción tempranas que permitan definir umbrales permisibles, con niveles de incertidumbre aceptables, y que sirvan de guía a las entidades reguladores para la toma de decisiones (Day et al. 1988).

La ecotoxicología busca estimar las concentraciones y/o dosis en las que un agente físico o químico logra producir efectos adversos en los organismos vivos. A pesar de que pareciera simple determinar la concentración, por ejemplo, a la que muere el 50 % de una población muestral; son muchas las variables que deben ser evaluadas y controladas, para determinar el riesgo de una sustancia en el ambiente y finalmente en el hombre. Por mencionar algunos criterios, las distintas vías en que puede interactuar un agente tóxico, su acción en los organismos y la defensa del mismo organismo a la noxa, para entender lo complejo que puede resultar comprender el efecto de un tóxico en los seres vivos. (Herkovits 2001)

Muchos métodos están disponibles para evaluar los efectos de tóxicos en una amplia variedad de organismos acuáticos. Por ejemplo, las pruebas con microalgas son ampliamente usadas en estudios de impacto ambiental. Su taxonomía es muy bien conocida, a pesar que su identificación requiere considerable entrenamiento. Las pruebas con microalgas son simples, rápidas y baratas como lo son las pruebas con peces e invertebrados. Los invertebrados están presentes en la mayoría de ambientes acuáticos, son relativamente fáciles de coleccionar, su taxonomía está bien establecida, son rápidamente adaptables a las condiciones de laboratorio y son altamente sensibles a químicos. Así mismo, por muchos años los peces fueron los candidatos usados en pruebas de toxicidad de ambientes acuáticos. Finalmente, varios procedimientos han sido propuestos para estandarizar estas técnicas para la determinación de la ecotoxicidad por la USEPA, Asociación Americana de Salud Pública (APHA, por sus siglas en inglés), OECD e ISO (Wong et al. 1995).

En Latinoamérica existen algunas experiencias de ejercicios de intracalibración e intercalibración empleando baterías de bioensayos, que incluyen artrópodos, para la evaluación de tóxicos de referencia con el fin de determinar el grado de repetibilidad, precisión o variabilidad de estas pruebas ecotoxicológicas (Forget et al. 2000)

French-McCay (2004) por ejemplo desarrolló y validó un modelo de efectos biológicos letales y subletales para estimar el impacto de derrame de petróleo en agua y sedimentos.

Sánchez (2002) incorpora el empleo de bioensayos ecotoxicológicos en una evaluación de riesgo ecológico por contaminación agraria, empleando como modelo, microalgas, dafnias y quironómidos.

Los bioensayos marinos son necesarios para evaluar la calidad de muestras de agua y sedimento marino, con el fin de determinar su toxicidad potencial (Hill et al. 1993). Así mismo, DelValls et al. (1998, 2000) recomendaron el empleo de bioensayos con anfípodos y larvas de peces para bioensayos con sedimentos. En ambientes estuarinos, se ha demostrado el alto potencial de los anfípodos y los erizos para pruebas de rutina de toxicidad aguda en evaluaciones ambientales.

Los sedimentos constituyen auténticos archivos históricos que dan origen y transporte de contaminantes a las cuencas hidrográficas. (Yamada et al. 2011) La mayoría de contaminantes hidrofóbicos se acumulan en sedimentos y en la biota (Miglioranza et. al. 2003). En el Perú, como en muchos otros países latinoamericanos, no existen monitoreos sobre la calidad de los sedimentos que permitan evaluar el impacto ambiental de diferentes actividades antrópicas (Rendina 2002). Los bioensayos del agua y sedimentos marinos son indispensables para determinar la toxicidad potencial de los mismos (Hill et al. 1993)

El Departamento de Ecología de la Universidad del Estado de Washington (2003) estableció ciertos criterios de toxicidad en sedimentos marinos, donde por ejemplo, se establece como estándar de calidad de sedimentos aceptable, si no se supera el 25 % de mortandad de anfípodos expuestos por 10 días frente a su blanco; mientras que para los niveles máximos permitidos en sedimentos impactados, cuando no se supera el 30 % de mortandad. Así

mismo, para el caso de pruebas con larvas de equinodermos, estas logren una supervivencia de más de 85 % para niveles de estándares óptimos y para niveles de zonas impactadas, mortandades mayores al 70 %. Para ambientes epicontinentales, además, recomienda el empleo de bioensayos con anfípodos de 10 y 28 días, y quironómidos de 10 a 21 días.

La Directiva 92/32/CEE de la Comunidad Económica Europea (1992) relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas en materia de clasificación, embalaje y etiquetado de sustancias peligrosas, establece en su Anexo 3 la caracterización ecotoxicológica con ensayos en peces, dafnias y microalgas.

Así mismo, la Oficina de Evaluación de Peligros a la Salud Ambiental (OEHHA, por sus siglas en inglés, US), incluye en sus evaluaciones de riesgo ecológico, métodos de pruebas toxicológicas que incluyen plantas terrestres e invertebrados terrestres (OEHHA 2009).

2.5.1. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON MICROALGAS

Pruebas de ecotoxicidad con microalgas han sido realizadas por numerosos investigadores (Lewis 1993, Corradi y Gorbi 1993, Mallick y Mohn 2003). Las ventajas relativas del uso de una microalga en particular dependen del cultivo, crecimiento, manipulación, sensibilidad y abundancia en la naturaleza (Lewis 1993, Gorbi et al. 2001).

Las microalgas marinas *Skeletonema* y *Phaeodactylum* son las más sensibles para la evaluación de químicos y lodos de perforación en Francia (Bjørnstad et al. 1993). Varias especies de microalgas marinas han sido propuestas para determinar calidad de agua marina como *Thalassiosira* spp., *Dunaliella* spp. e *Isochrysis* sp. (Pawlisz et al. 1997, Silva et al. 2001). Las microalgas marinas *Isochrysis galbana* Parke y *Chaetoceros gracilis* A. Henckel son también utilizadas como alimentos de varias especies zoológicas de la cadena trófica marina (Otero et al. 1997, Aranda y Suárez 1998, Browne et al. 1998, Podemsky y Culp 2001, Vera et al. 2001, Gibson 2003, Mann y Harding 2003, Yap et al. 2004).

2.5.2. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON PLANTAS TERRESTRES

La alfalfa (*Medicago sativa*) es una leguminosa (dicotiledónea) muy empleada en estudios de bioremediación y de ecotoxicología por su importancia comercial y por la importancia de mantener simbiosis tipo micorrizas que colaboran en la fijación de nitrógeno en el suelo otorgándole mayor fertilidad a los suelos donde se implantan.

El maíz (*Zea mays*) es una especie de gramínea anual (monocotiledónea) originaria de América e introducida en Europa en el siglo XVII y que de acuerdo con la Guía de Pruebas de Efectos Ecológicos OPPTS 850.4100 (USEPA 2012), es recomendada para bioensayos de germinación de semillas y crecimiento de plantas.

2.5.3. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON CRUSTÁCEOS

Daphnia magna, o pulga de agua, es el crustáceo cladócero más comúnmente utilizado en ensayos ecotoxicológicos, por ser de fácil establecimiento en el laboratorio y de corto ciclo vital (Dodson y Hanazato 1995, Gutiérrez et al. 1989).

Andreotti et al. (2006) realizaron pruebas con cladóceros para determinar la toxicidad de sedimentos del río salado en Argentina.

Los anfípodos son los primeros en desaparecer en un ecosistema contaminado y son indicadores sensibles de contaminación de sedimentos (Bellan-Santini 1980, Swartz et al. 1982).

Los anfípodos han sido empleados en métodos de evaluación de la toxicidad de sedimentos asociados a contaminantes por la USEPA desde junio de 1994, siendo recomendados actualmente para realizar evaluaciones ecotoxicológicas y de biodegradación principalmente en las actividades hidrocarburíferas. Normas europeas incluyen pruebas con anfípodos como uno de los bioensayos recomendables para evaluación de sedimentos contaminados (Chapman et al. 1992, Ré et al. 2007).

Caeiro et al. (2009) recomiendan para evaluar el riesgo ecológico, evaluar la toxicidad en muestras de sedimento marino con anfípodos y erizos de mar. Kemble et al. (1999) emplearon anfípodos y quironómidos para evaluar la toxicidad de sedimentos. McGee et al. (1999) evaluaron sedimentos contaminados en Maryland empleando pruebas ecotoxicológicas con anfípodos.

En un estudio de toxicidad en agua y sedimento de la bahía de Chesapeake (Hall Jr. et al. 2002) se efectuó un monitoreo de sedimentos marinos para evaluar la calidad de dichos ecosistemas desde 1991 al 1999. Se introdujo cinco anfípodos por envases de un litro con 200 mL de solución prueba y alimentados con pellets molido por 20 días. Y en un ensayo con dafnias se empleó 10 réplicas con un neonato por envase de 30 mL y 15 mL de contenido de solución prueba, alimentándolas diariamente con *Skelotonema capricornicum* por 8 días.

Casado-Martínez et al. (2006) también emplearon bioensayos con anfípodos expuestos a sedimentos para determinar su toxicidad. De Backer et al. (2009) abren la posibilidad de conocer los efectos crónicos del rol de la bioturbación en procesos sedimentarios a partir de estudios con anfípodos y los efectos de las partículas de fondo. Peters et al. 2002 proponen una batería de pruebas de bioensayos marinos empleando anfípodos por 10 días de supervivencia. Así mismo, Marín et al. (2005) valoraron la contaminación por metales en sedimentos empleando anfípodos en la Laguna Costera del Mar Menor en España.

Muchas formas larvales y postlarvales de crustáceos marinos han sido empleadas para evaluar la ecotoxicidad de metales pesados, por constituir los estadios más sensibles de su ciclo de vida (Marino- Balsa et al. 2000).

Emerita analoga o “muy muy” es un crustáceo macrozoobentónico característico del intermareal e infralitoral de las playas de arena de las Costas del Pacífico Sur de América, a la vez que es un eslabón importante en las tramas tróficas de este sistema (Oliva et al. 1992, Alvitres et al. 1999, Contreras et al. 2000).

Pérez (1999) emplea crustáceos Hippidae para evaluar los niveles de mercurio de las playas arenosas en Venezuela.

Valdovinos et al. (2002) proponen a *Emerita analoga* como especie biomonitora de contaminación por metales y emplean tiempos de 24 h hasta 10 días para evaluar la toxicidad aguda.

Según Wenner (1987), las poblaciones de *E. analoga* han sido empleadas en biomonitoreos de calidad ambiental. Mientras que Burnett (1971), Rossi et al. (1978) y Wenner (1987) mencionan que esta especie puede incluso acumular metales pesados e hidrocarburos de petróleo del ambiente. *E. analoga* ha sido empleada como especie bioindicadora de importancia ecotoxicológica para el monitoreo de algunos metales pesados (Hernández et al, 2000, Valdovinos y Zúñiga 2002, Iannacone y Alvariño 2003), de efluentes pesqueros y de ficotoxinas (Bretz et al. 2002, Ferdin et al. 2002, Powell et al. 2002) en el ecosistema marino.

2.5.4. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON INSECTOS ACUÁTICOS

La lombriz roja, *Chironomus calligraphus* (Diptera: Chironomidae), es una especie de mosca característica de los ambientes acuáticos naturales y de origen antropogénico del Perú; presenta como ventaja principal su abundante y permanente disponibilidad del material biológico utilizado, así como su importancia en las cadenas tróficas (Iannacone y Alvariño 2005). Además, son fáciles de mantener en cultivos en condiciones de laboratorio, presentan ciclo corto de vida y se conoce que son sensibles a metales pesados y pesticidas (Iannacone et al. 2002, 2005).

La APHA (1998) recomienda el empleo de insectos quironómidos para la realización de bioensayos de toxicidad aguda y crónica acuática mediante protocolos estandarizados (Meregalli et al. 2002, Lahr et al. 2003). Las especies de la familia Chironomidae son muy utilizadas en bioensayos para determinar el grado de toxicidad de diversas sustancias químicas en ambientes acuáticos, midiendo su supervivencia y otros efectos subletales (Iannacone et al. 2005). *Chironomus calligraphus* es un díptero muy empleado en fase larvaria para evaluaciones ecotoxicológicas en sedimentos (Aparecido et al. 2006).

2.5.5. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON EQUINODERMOS

El erizo negro *Tetrapygus niger* (Echinodermata: Arbaciidae), es un invertebrado perteneciente al intertidal rocoso marino de Perú y Chile (Rodríguez 2003). En esta especie se han realizado una serie de trabajos en fisiología y en biología molecular (Medina et al. 2001).

Se han realizado bioensayos de fertilización y embrionación evaluando el efecto de diversas sustancias químicas en el agua y sedimentos en diferentes especies de erizos marinos: *Arbacia spatuligera*, *Paracentrotus lividus*, *Psammechinus miliaris*, *Sphaerechinus granularis*, *Tripneustes gratilla* (Larrain et al. 1999, Ghirardini et al. 2001, Coteur et al. 2003, Vásquez 2003, De Nicola et al. 2004, Pesando et al. 2004, Bellas et al. 2005).

Arévalo et al. (2001) emplearon el bioensayo de fertilización con erizos de mar para fiscalizar las actividades de liberación de lastres de embarcaciones en Chile.

Casado-Martínez et al. (2006) emplearon bioensayos de fertilización con erizos de mar expuestos a lixiviados de sedimentos para determinar su toxicidad.

Shim et al. (2006) compararon resultados de toxicidad con fertilización de erizo expuestos a distintos compuestos orgánicos.

Salamanca et al. (2009) emplearon bioensayos con erizos de mar para evaluar material dragado de dos puertos de España.

Carr et al. (2006) recomendaron en pruebas de fertilización con erizos incluir un blanco no fecundado de óvulos a la solución problema, para reducir el efecto de dicha sustancia en mayor tiempo a la viabilidad del óvulo.

Marín (2007) empleó en su tesis doctoral, bioensayos con erizo de mar para evaluar la toxicidad de agua de mar del Cabo de Palos.

2.5.6. PRUEBAS DE TOXICIDAD CON PECES

Los peces han sido utilizados ampliamente en todo el mundo para conocer los efectos de distintas sustancias, y han sido los primeros modelos de estudio para conocer los efectos antropogénicos de las actividades económicas. En el Perú, uno de los primeros trabajos realizado en peces expuesto a metanol usando *Mugil cephalus* fue desarrollado por Zambrano (1983).

Vera et al. (2001) realizaron un estudio con cadmio y cromo usando postlarvas del pejerrey *Odontesthes (Austromenidia) regia regia*. Luego, Sánchez (2012) emplea larvas y postlarvas de pejerrey *Odontesthes regia regia* para evaluar efluentes utilizados de plantas industriales pesqueras ubicadas en Paita, Chimbote, Callao y Paracas desde 1997 a 1999.

Otros estudios han sido desarrollados en pejerrey sobre aspectos autoecológicos por Mejía et al. (1970), Villavicencio y Muck (1984) y Coayla et al. (1991), y sobre aspectos demoeológicos por Veliz e Insil (1988), Guevara-Carrasco et al. (1991) y Fupuy (1999).

Ebrahimpour et al. (2010) probaron mediante un bioensayo agudo estático con peces expuestos a metales en influencia con la dureza del agua de dilución empleada en el bioensayo, mostrando indirectamente la dinámica y disponibilidad de los metales estudiados respecto a las variaciones de pH.

Poecilia reticulata o "guppy" (Poeciliidae) es una especie exótica de pez ornamental invasora e introducida en Perú para el control biológico de larvas de *Anopheles pseudopunctipennis* (Diptera: Culicidae) y de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (Iannacone y Alvariano 1998). Es considerada una especie de importancia ornamental por la acuarofilia mundial (Balón 2004). Se han realizado en *P. reticulata* diversos estudios en el ámbito del aprendizaje y del comportamiento reproductivo (Iannacone y Alvariano 1998, Brosnan et al. 2003, Croft et al. 2003, Grether et al. 2003), así como modificaciones en el comportamiento por acción de pesticidas organofosforados (Selvi et al. 2004).

Paracheirodon innesi o "neón tetra" (Characidae), es una especie amazónica, domesticada y conocida por los acuaristas a nivel mundial (Balón 2004). En esta especie se han realizado varios estudios fisiológicos con relación a adaptaciones cromáticas por variaciones de luminosidad a nivel de la piel y ocular (Hayashi et al. 1993), así como efectos de la calidad del agua (pH, dureza y metales pesados), factores nutricionales (vitaminas) y formas parasitarias (*Ichthyophthirius multifiliis*) sobre la fisiología de *P. innesi* (Schmahl et al. 1992, Pannevis y Earle 1994, González et al. 1998, Tao et al. 2002).

2.6. EVALUACIÓN DE RIESGO ECOLÓGICO

Paustenbach (1989) ha encaminado la práctica de la evaluación del riesgo ambiental en las pasadas décadas. Mientras que las evaluaciones formales de riesgo a la salud humana en la parte ocupacional han sido conducidas desde los años 30, una tendencia cada vez mayor de su aspecto ambiental ha sido dirigida por el Consejo de Investigación Nacional de los Estados Unidos desde los 80. Así mismo, definió riesgo como la probabilidad de que ocurra un efecto adverso a nivel individual o poblacional, por la exposición a una concentración o dosis específicas de un agente peligroso. A su vez, la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos define la evaluación de riesgos como la caracterización de los efectos potencialmente adversos para la salud en los humanos, a causa de la exposición a los peligros ambientales (Eden 1997).

La Evaluación de Riesgo Ecológico (ERA, por sus siglas en inglés), es un buen mecanismo para la toma de decisiones en este campo, la cual se aplica como metodología en los Estados Unidos, USEPA (1998), y en los países de la Comunidad Europea, Directiva 414, CEE. Los principales criterios de riesgo, incluyen volúmenes de producción, formas de exposición y población y/o ecosistemas expuestos (Eden 1997).

Son numerosos compuestos químicos los que entran al ambiente como resultado de diversas actividades antropogénicas y pueden ocasionar impactos adversos para la salud humana y el entorno. Dada la abundancia de estos compuestos, y la enorme cantidad de sus efectos adversos potenciales, para los investigadores y para los gobiernos es necesario contar con una sistemática con bases científicas, que permitan evaluar cuantitativamente y

cualitativamente los riesgos inherentes a dichos contaminantes, así como jerarquizar los peligros potenciales (Eden 1997). La habilidad de medir el transporte de químicos y destinos y exposición de organismos mediante pruebas ecotoxicológicas es crítica en el último avance de la evaluación de riesgo ecológico (USEPA 1992, Suter 1993, Maughan 1993, Cheng y Ford 2009).

Costa (2009) muestra las principales preocupaciones recogidas de la comunidad científica iberoamericana reunidas en el 2008 en donde precisa que las evaluaciones de sedimentos contaminados son típicos para la caracterización de impactos potenciales en la biota acuática dentro del proceso de evaluación de riesgo ecológico que evalúan los efectos ecológicos adversos que pueden generarse con la exposición de uno o más estresores. Bailer et al. (1993) ha extendido sus trabajos en evaluar la relación dosis – respuesta y diseños experimentales en sistemas de prueba de toxicidad acuática incluyendo estos métodos (Faustman 1996). Sin embargo, ante toda duda o falta de completo entendimiento de los efectos y causas de un potencial impacto ambiental, el principio precautorio impulsa una toma de acción que impida su desarrollo (Edujje 2000).

El potencial nocivo de una sustancia tóxica puede ser contrarrestado por el sistema biológico a través de diferentes estrategias, tales como reacciones metabólicas de detoxificación, excreción de tóxicos. Por tanto, la toxicidad aparente evaluada en un ensayo biológico es el resultado de la interacción entre la sustancia y el sistema biológico.

DelVals et al. (2000) hicieron notar las ventajas de realizar estudios en mesocosmos a diferencia de los realizados a nivel de laboratorio y su dificultad de interpretación de resultados por el número de variables del medio ambiente.

El objetivo de la ERA es cuantificar la distribución de posibles efectos ecológicos sobre los ecosistemas por la exposición de uno o más estresores (factores de riesgo) (Calow 2003).

El procedimiento de la ERA esta generalmente, caracterizada por un conjunto de conceptos, incluyendo el escenario de riesgo, la probabilidad de riesgo y los destinos de riesgo que pueden también estar dado por tres cuestionamientos de lo que puede suceder; lo que

probablemente ha de suceder y cuáles son finalmente las medidas puntuales de las ocurrencias (Helton, 1993; Bedford y Cooke, 2001). Esto se ha vuelto un paradigma estándar para la predicción del riesgo. Como lo sugieren Van Leeuwen y Hermans (1995), la gestión de riesgos, especialmente la gestión de la exposición ambiental a sustancias químicas deberían incluir medidas tales como la identificación de peligros, evaluación de la exposición, evaluación de los efectos, la caracterización y la clasificación del riesgo, análisis de riesgos y beneficios, la reducción del riesgo, y su monitoreo y vigilancia.

USEPA (1998) propusieron un proceso de la ERA más genérico, que consiste en la formulación del problema, análisis, caracterización del riesgo, gestión del riesgo y la comunicación.

Los estudios que incorporan organismos propios de las cadenas tróficas de los ecosistemas han sido reconocidos como un componente crítico de la ERA. La información derivada de estos análisis sobre las complejas relaciones entre especies y su variación en el tiempo y el espacio dentro de una cadena trófica, es actualmente empleado en la modelación acumulativa de efectos de tóxicos químicos y otros estresores en el ambiente, a menudo en la determinación de su significancia ecológica de riesgo. (De Ruiter et al. 1996, Preziosia y Pastorok 2008).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

Los ensayos se desarrollaron en el Laboratorio de Ecofisiología Animal de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), ubicado en Jirón Chepén s/n en El Agustino; en el Laboratorio de Consulting Assessment Environmental and Ecological SAC (CAEE SAC), ubicado en Calle Pedro D'Onofrio 254 en Breña; y en el Laboratorio de Ecotoxicología Acuática del Instituto del Mar del Perú (IMARPE), ubicado en Esquina Gamarra y General Valle s/n en Chucuito, Callao.

3.2. MATERIALES

3.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO

- Microalga del género *Isochrysis*.
- Microalga del género *Chlorella*.
- “Alfalfa” *Medicago sativa* var *sierra alta*.
- “Maíz” *Zea mays* var. *amilacea*.
- “Pulga de agua” *Daphnia* sp.
- Anfípodo del género *Apohyale*.
- “Muy muy” *Emerita analoga*.
- Díptero quironómido *Chironomus calligraphus*.
- “Erizo negro” *Tetrapygyus niger*.
- “Pejerrey” *Odontesthes regia regia*.
- “Guppy” *Poecilia reticulata*.
- “Neón tetra” *Paracheirodon innesi*.



3.2.2. OTROS MATERIALES

- Acuarios de 4 L, 20 L, 100 L
- Baldes plásticos de 4 L
- Bidones de 20 L
- Bulbos de látex
- Cajas de tecnopor
- Cámara de Neubauer
- Cámara de Sedgewick Rafter
- Espátulas
- Filtros de membrana de policarbonato de 50 μm
- Geles refrigerantes
- Manguera de látex 5 m
- Matraces aforados de 100 mL
- Pipetas Pasteur descartables
- Pipetas volumétricas y graduadas de 1 mL, 5 mL y 10 mL
- Probetas 100 mL, 500 mL y 1 000 mL
- Recipientes plásticos de varias medidas
- Vasos de precipitado de 50 mL, 250 mL y 500 mL

3.2.3. REACTIVOS E INSUMOS

- Ácido clorhídrico (HCl: 1 N; 0,1 N) 100 mL
- Acondicionador de acuario 500 mL
- Agua destilada
- Algas deshidratadas en hojuelas 500 g
- Arena fina desinfectada de río 10 kg
- Cloruro de cadmio (ClCd) 10 g
- Cloruro de potasio (KCl) 100 g
- Dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 10 g
- Hidróxido de sodio (NaOH: 1 N; 0,1 N) 100 mL
- Lejía

- Medio de cultivo CHU 10 500 mL
- Medio de cultivo Guillard f/2 500 mL
- Sulfato de bario (BaSO_4) 500 g
- Sulfato de cobre (SO_4Cu_2) 10 g

3.2.4. EQUIPOS

Balanza analítica (Sartorius)

Bombas de recirculación de agua

Cámara fotográfica (Nikon)

Microscopio compuesto (Zeiss)

Microscopio estereoscópico (Menji)

Multiparámetro (Hanna)

Sistemas de aireación (Blower)

Sistemas de filtración de agua (Bomba de vacío Milipore)

3.3. MÉTODOS ECOTOXICOLÓGICOS

Se empleó sulfato de bario químicamente puro en presentación de 1 kg Cod. 11845 de la marca comercial Fluka, para las pruebas ecotoxicológicas.

Los tratamientos utilizados en las pruebas ecotoxicológicas consideraron el valor de solubilidad del sulfato de bario a los 20°C 0,002448 g/L (ATSDR 2016). Estos tratamientos fueron: 2; 0,2; 0,02; g/L de sulfato de bario y 0,002; 0,0002 g/L de bario.

Para las pruebas desarrolladas en sistemas acuosos, vale aclarar que en los tratamientos de: 2, 0,2 y 0,02 g/L de sulfato de bario, sólo se halla al compuesto en su forma insoluble y para evitar su deposición en el fondo de los sistemas de prueba se mantuvieron en movimiento constante en los medios acuáticos por sistemas de aireación continua durante las pruebas, con el propósito de conocer el efecto físico que provocaban estas distintas suspensiones en los organismos de prueba. En los otros dos tratamientos de 0,002 y 0,0002 g/L sólo se hallan

al ion bario y al ion sulfato, disociados a partir del sulfato de bario, en sus formas iónicas, permitiendo así conocer el efecto químico del bario en los organismos prueba.

Por otro lado, las pruebas que incluyeron sustratos no se empleó drenaje durante todo el periodo de prueba por lo que los tratamientos mantuvieron la cantidad de sulfato de bario suspendido y disuelto, que en la matriz suelo fueron acumulados,

Todos los tratamientos contaron con tres repeticiones como mínimo, adicionalmente a los controles negativos o blancos.

Considerando que, los organismos biológicos procedentes de localidades con diferentes características ambientales podrían presentar diferentes respuestas en bioensayos ecotoxicológicos, previamente se evaluó la sensibilidad de los organismos prueba con dicromato de potasio, cloruro de cadmio y sulfato de cobre, como sustancias de referencia (Forbes 1998, Repetto et al. 2000).

El número de pruebas ecotoxicológicas con sulfato de bario, siguieron las pautas de la OSPARCOM (1998), que recomienda de 2 a 4 bioensayos con organismos de diferente taxa para determinar la toxicidad aguda. En la experimentación se usó siete bioensayos agudos con los siguientes organismos: *Daphnia* sp., *Apohyale* sp., *Emerita analoga*, *Chironomus calligraphus*, *Odontesthes regia regia*, *Poecilia reticulata* y *Paracheirodon innesi*.

Para evaluar el criterio de mortandad, para la determinación del efecto agudo, se consideró que los organismos (*Daphnia* sp., *Apohyale* sp., *Emerita analoga*, *Chironomus calligraphus*, *Odontesthes regia regia*, *Poecilia reticulata* y *Paracheirodon innesi*) no registren movimiento interno ni externo, por un lapso de 15 s luego de una estimulación punzante.

Para los efectos subletales se consideró la inhibición de germinación en *Medicago sativa* y *Zea mays*, y la inhibición de crecimiento celular en *Isochrysis* sp., *Chlorella* sp. Para el caso de *Medicago sativa*, *Zea mays*, se consideró la longitud foliar aérea como parámetro de

crecimiento. Y para la inhibición de fecundación en *Tetrapygnus niger*, el proceso de formación de la zona pelúcida.

Las mediciones de los parámetros y protocolos siguieron las pautas y recomendaciones de la USEPA (1986, 1992, 1994, 1997, 1998, 1999, 2005, 2012).

En la Figura 3 se resume el flujo de procesos que se emplearon en el desarrollo de las pruebas ecotoxicológicas. Nótese que, en la misma, no se han incluido las pruebas preliminares ni las pruebas de sensibilidad.

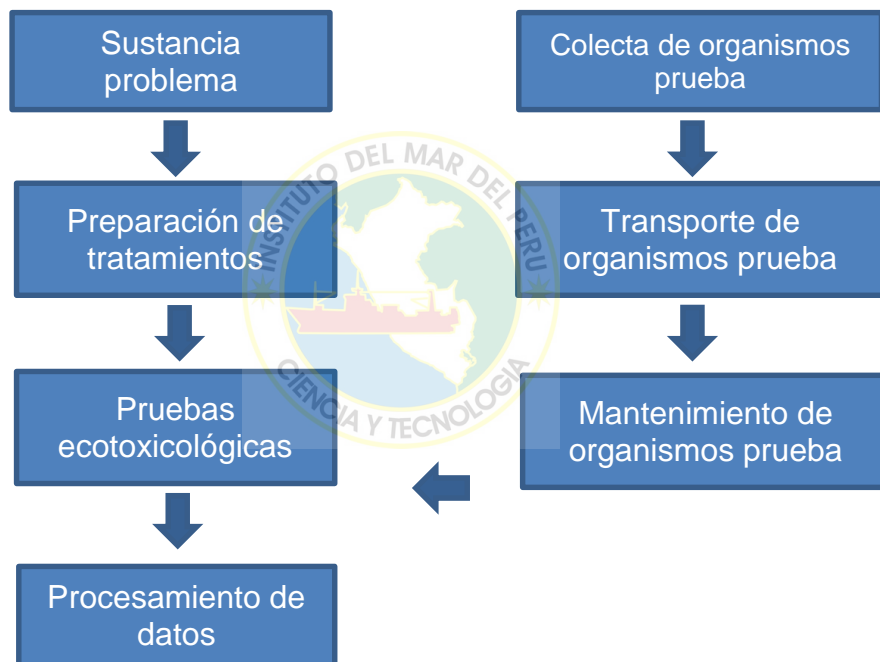


Figura 3: Diagrama de flujo básico empleado en las pruebas ecotoxicológicas.

FUENTE: USEPA (1986, 1992, 1994, 1997, 1998, 1999, 2005, 2012).

3.3.1. PRUEBAS SUBLETALES DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO EN MICROALGAS

a. Microalga epicontinental *Chlorella* sp. (Chlorophyta)

Se siguieron las recomendaciones de la USEPA (1992), Cifuentes et al. (1998) y Alayo et al. (2004). Se solicitaron cultivos de microalgas del género *Chlorella* sp. del Laboratorio de Cultivo de Microalgas del IMARPE. Estas fueron aclimatadas a condiciones de laboratorio y se estableció la densidad de instalación mediante diluciones hasta lograr la densidad de 10 000 cel./mL, con ayuda de un hematocitómetro (Cámara de Neubauer). En el Cuadro 2 se resumen las condiciones de las pruebas de inhibición de crecimiento celular con *Chlorella* sp.

Cuadro 2: Condiciones para las pruebas subletales de inhibición de crecimiento con la microalga *Chlorella* sp.

Variables	Condiciones de prueba
Tipo de prueba	Estático
Duración	96 h
Temperatura	21 ± 1 °C
Calidad de luz	Ambiente de laboratorio
Intensidad luminosa	4 000 a 4 500 Lux
Fotoperiodo	24 h luz; 0 h de oscuridad
Tamaño de envase de prueba	250 mL
Volumen de agua de dilución	100 mL
Renovación de agua	No, aireación continua
Nº de organismos por réplica	10 000 cel./mL
Edad de los organismos	1– 2 días
Nº de réplicas	4
Nº de tratamientos	5 fuera del blanco (factor de dilución 0,1)
Calidad de agua	pH, temperatura
Agua de dilución	Medio de cultivo (CHU 10)
Criterios de evaluación de efectos	Inhibición de crecimiento
Criterio de aceptación de prueba	1x10 ⁶ cel./mL en blancos

FUENTE: USEPA (1992), Cifuentes et al. (1998) y Alayo et al. (2004).

b. Microalga marina *Isochrysis* sp. (Haptophyta)

Se siguieron las recomendaciones de la USEPA (1992), Cifuentes et al. (1998) y Alayo et al. (2004). Se solicitaron cultivos de microalgas del género *Isochrysis* sp. del Laboratorio de Cultivo de Microalgas del IMARPE. Estas fueron aclimatadas a condiciones de laboratorio y se estableció la densidad de instalación mediante diluciones hasta lograr la densidad de 10 000 cel./mL, con ayuda de un hematocitómetro (Cámara de Neubauer). En el Cuadro 3 se resumen las condiciones de las pruebas de inhibición de crecimiento celular con *Isochrysis* sp.

Cuadro 3: Condiciones para las pruebas subletales de inhibición de crecimiento con la microalga *Isochrysis* sp.

Variables	Condiciones de prueba
Tipo de prueba	Estático
Duración	96 h
Temperatura	18 ± 1 °C
Calidad de luz	Ambiente de laboratorio
Intensidad luminosa	6 000 a 7 000 Lux
Fotoperiodo	24 h luz; 0 h de oscuridad
Tamaño de envase de prueba	250 mL
Volumen de agua de dilución	100 mL
Renovación de agua	No, aireación continua
Nº de organismos por réplica	10 000 cel./mL
Edad de los organismos	4 – 7 días
Nº de réplicas	4
Nº de tratamientos	5 fuera del blanco (factor de dilución 0,1)
Calidad de agua	pH, temperatura
Agua de dilución	Medio de cultivo (Guillard f/2)
Criterios de evaluación de efectos	Inhibición de crecimiento
Criterio de aceptación de prueba	1x10 ⁶ cel./mL en blancos

FUENTE: USEPA (1992), Cifuentes et al. (1998) y Alayo et al. (2004).

3.3.2. PRUEBAS SUBLETALES DE INHIBICIÓN DE GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO EN PLANTAS TERRESTRES

a. Planta dicotiledónea *Medicago sativa* (Fabaceae)

Se han seguido las recomendaciones de la USEPA (2012) y Dutka (1989). Se adquirieron semillas comerciales de “alfalfa” *Medicago sativa* variedad sierra alta que fueron almacenadas en refrigeración hasta el momento de su empleo, para tal fin fueron sometidas a una evaluación previa que superó el 90 % de germinación. Fueron estimuladas y desinfectadas previamente con enjuagues en lejía al 10 % para luego ser sometidas a la prueba definitiva. En el Cuadro 4 se resumen las condiciones para la realización de la prueba de toxicidad con *M. sativa* tanto de germinación como de crecimiento.

Cuadro 4: Condiciones para las pruebas subletales de inhibición de germinación y crecimiento con *Medicago sativa*

Variables	Condiciones de prueba
Tipo de prueba	Estático
Duración	24 h / 10 días
Temperatura	24 ± 1 °C
Calidad de luz	Sin iluminación / Ambiente de laboratorio
Intensidad luminosa	0 Lux / 1 000 Lux
Fotoperiodo	0 h luz; 24 h de oscuridad / 16 h luz; 8 h de oscuridad
Tamaño de envase de prueba	Placas Petri 200 mm / Envases de 1 L
Volumen de agua de dilución	5 mL/100 mL
Nº de organismos por réplica	10 semillas por placa Petri / 3 por envase
Edad de los organismos	Semilla / Germinado
Nº de réplicas	3
Nº de tratamientos	5 fuera del blanco (factor de dilución 0,5)
Calidad de agua	pH, temperatura, conductividad, TDS.
Agua de dilución	Agua potable declorinada
Criterios de evaluación de efectos	Inhibición de germinación / crecimiento foliar
Criterio de aceptación de prueba	> 65 % de los blancos con más de 20 mm de raíz

FUENTE: USEPA (2012) y Dutka (1989).

b. Planta monocotiledónea *Zea mays* (Poacea)

Se ensayó el efecto del sulfato de bario y sus formas solubles sobre la germinación y el crecimiento foliar en una monocotiledónea muy empleada en la agricultura como es el maíz, en este caso de variedad conocida como maíz blanco. Esta especie de planta es recomendada en las Guías de Efectos Ecotoxicológicos de la USEPA (2012).

Se adquirieron semillas comerciales de “maíz blanco” *Zea mays* que fueron almacenadas en refrigeración hasta el momento de su empleo, para tal fin fueron sometidas a una evaluación previa que superó el 90 % de germinación. Fueron estimuladas y desinfectadas previamente con enjuagues en lejía al 10 % para luego ser sometidas a la prueba definitiva. En el Cuadro 5 se resumen las condiciones para la realización de la prueba de toxicidad con *Z. mays* tanto de germinación como de crecimiento.

Cuadro 5: Condiciones para las pruebas subletales de inhibición de germinación y crecimiento con *Zea mays*

Variables	Condiciones de prueba
Tipo de prueba	Estático
Duración	24 h / 19 d
Temperatura	23 ± 1 °C
Calidad de luz	Sin iluminación / Ambiente de laboratorio
Intensidad luminosa	0 Lux / 1 000 Lux
Fotoperiodo	0 h luz; 24 h de oscuridad / 16 h luz; 8 h de oscuridad
Tamaño de envase de prueba	Placas Petri 200 mm / Envases de 1 L
Volumen de agua de dilución	5 mL/100 mL
Nº de organismos por réplica	10 semillas por placa Petri / 3 por envase
Edad de los organismos	Semilla / Germinado
Nº de réplicas	3 / 2
Nº de tratamientos	5 fuera del blanco (factor de dilución 0,5)
Calidad de agua	pH, temperatura, conductividad, TDS.
Agua de dilución	Agua potable declorinada
Criterios de evaluación de efectos	Inhibición de germinación / crecimiento foliar
Criterio de aceptación de prueba	> 65 % de los blancos con más de 20 mm de raíz

FUENTE: USEPA (2012) y Dutka (1989).

3.3.3. PRUEBAS DE TOXICIDAD EN CRUSTÁCEOS

a. Cladóceros epicontinental *Daphnia* sp. (Cladocera: Daphniidae)

Se han tomado en consideración las recomendaciones de la USEPA (1993), Goulden et al. (1982), Edley y Law (1989), Elendt y Bias (1990), Dutka (1989), CETESB (1991), Klüttgen et al. (1994), Lewis y Maki (1981), Girling y Garforth (1989), Silva et al (2003). Se adquirieron cladóceros del género *Daphnia* sp. los que fueron identificados en el Laboratorio de Ecotoxicología Acuática del IMARPE, y se seleccionaron las hembras ovíparas para ser mantenidas en acuarios (10 org./L) con agua potable decolorada y con aireación constante, y alimentadas con suspensión de hojuelas de algas. Al cabo de 24 h se obtuvieron los neonatos con los que se realizaron las pruebas. En el Cuadro 6 se resumen las condiciones para la realización de la prueba de toxicidad con *Daphnia* sp.

Cuadro 6: Condiciones para las pruebas de toxicidad con *Daphnia* sp.

Variables	Condiciones de prueba
Tipo de prueba	Estático
Duración	24 h / 48 h
Temperatura	20 ± 1 °C
Calidad de luz	Ambiente de laboratorio
Intensidad luminosa	500 a 1 000 Lux
Fotoperiodo	16 h de luz; 8 h de oscuridad
Tamaño de envase de prueba	30 mL
Volumen de agua de dilución	25 mL
Nº de organismos por réplica	10
Edad de los organismos	< 24 h
Nº de réplicas	4
Nº de tratamientos	5 fuera del blanco (factor de dilución 0,1)
Alimentación durante la prueba	No
Calidad de agua	pH, temperatura
Criterios de evaluación de efectos	Supervivencia
Criterio de aceptación de prueba	≥ 90 % de supervivencia de los blancos

FUENTE: USEPA (1993), Goulden et al. (1982), Edley y Law (1988), Elendt y Bias (1990), Dutka (1989), CETESB (1991), Klüttgen et al. (1994), Lewis y Maki (1981), Girling y Garforth (1989), Silva et al (2003).

b. Anfípodo marino *Apohyale* sp. (Amphipoda: Hyalidae)

Se realizó una prueba con un anfípodo marino de amplia distribución de la zona intermareal, que habita la zona bentónica y que posee un tipo de alimentación filtradora y ramoneadora.

Se colectaron anfípodos, los que fueron identificados en el Laboratorio de Bentos del IMARPE como del género *Apohyale* sp., en la zona ecológica denominada “La Arenilla” ubicada en La Punta, alojados en los sedimentos principalmente conformados por grava gruesa y asociados a macroalgas, y formando parte del bentos supramareal. Se separaron los juveniles y se los aclimató por una semana para luego someterlos a las pruebas ecotoxicológicas. En el Cuadro 7 se resumen las condiciones para la realización de la prueba de toxicidad con *Apohyale* sp.

Cuadro 7: Condiciones para la prueba de toxicidad con *Apohyale* sp.

Variables	Condiciones de prueba
Tipo de prueba	Estático
Duración	10 d
Temperatura	19 ± 1 °C
Calidad de luz	Ambiente de laboratorio
Intensidad luminosa	500 a 1 000 Lux
Fotoperiodo	24 h luz; 0 h de oscuridad
Tamaño de envase de prueba	1 000 mL
Volumen de agua de dilución	800 mL
Sedimento	175 mL
Renovación de agua	No
Nº de organismos por réplica	20
Edad de los organismos	Juveniles
Nº de réplicas	4
Nº de tratamientos	5 fuera del blanco (factor de dilución 0,1)
Alimentación durante la prueba	No
Calidad de agua	OD, pH, temperatura
Criterios de evaluación de efectos	Supervivencia
Criterio de aceptación de prueba	≥ 90 % de supervivencia de los blancos

FUENTE: USEPA (1993), Goulden et al. (1982), Edley y Law (1988), Elendt y Bias (1990), Dutka (1989), CETESB (1991), Klüttgen et al. (1994), Lewis y Maki (1981), Girling y Garforth (1989).

c. Decápodo marino *Emerita analoga* (Decapoda: Hippidae)

Se colectaron 50 hembras ovíparas (con masa de huevos) de “muy muy” *Emerita analoga*, con presencia de masas ovíparas color naranja y/o gris, en zonas intermareales de la playa arenosa “Conchán”, al sur de la ciudad de Lima, las que fueron identificados en el Laboratorio de Ecotoxicología Acuática del IMARPE. Se mantuvieron en acuarios, alimentadas con suspensión de hojuelas de algas hasta que aproximadamente en 24 horas liberaron las larvas zoeas, las que fueron separadas para la realización del bioensayo. En el Cuadro 8 se resumen las condiciones para la realización de la prueba de toxicidad con *E. analoga*.

Cuadro 8: Condiciones para las pruebas de toxicidad con *Emerita analoga*

Variables	Condiciones de prueba
Tipo de prueba	Estático / Semi-estático
Duración	96 h / 34 d
Temperatura	18 ± 1 °C
Calidad de luz	Ambiente de laboratorio
Intensidad luminosa	100 a 1 000 Lux
Fotoperiodo	11 h de luz; 13 h de oscuridad
Tamaño de envase de prueba	1 000 mL
Renovación de agua	No
Nº de organismos por réplica	10
Edad de los organismos	Juveniles
Nº de réplicas	3
Nº de tratamientos	5 fuera del blanco (factor de dilución 0,1)
Alimentación durante la prueba	Sí, diario (1 mL suspensión de microalgas)
Calidad de agua	OD, pH, temperatura
Criterios de evaluación de efectos	Supervivencia
Criterio de aceptación de prueba	≥ 90 % de supervivencia de los blancos

FUENTE: USEPA (1993), Goulden et al. (1982), Edley y Law (1988), Elendt y Bias (1990), Dutka (1989), CETESB (1991), Klüttgen et al. (1994), Lewis y Maki (1981), Girling y Garforth (1989).

3.3.4. PRUEBA DE TOXICIDAD EN UN INSECTO ACUÁTICO

a. Díptero acuático epicontinental *Chironomus calligraphus* (Diptera: Chironomidae)

Se han tomado en consideración las recomendaciones de la USEPA (1993). Se colectaron ovas (masa de huevos) de *Chironomus calligraphus* que fueron identificados en el Laboratorio de Ecofisiología Animal de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la UNFV. Se las mantuvo en acuarios en agua potable declorinada con aireación constante, sobre mallas de nylon suspendidas como sistemas de flotación para permitir su eclosión, y al cabo de 48 h, que eclosionaron las larvas del primer estadio planctónico, fueron separadas y alimentadas con suspensión de hojuelas de algas. Al cabo de una semana, las larvas se volvieron bentónicas, y las que lograron el segundo estadio, fueron las que se separaron para iniciar la instalación del bioensayo. En el Cuadro 9 se resumen las condiciones para la realización de la prueba de toxicidad con *C. calligraphus*.

Cuadro 9: Condiciones para la prueba de toxicidad con *Chironomus calligraphus*

Variables	Condiciones de prueba
Tipo de prueba	Estático
Duración	10 d
Temperatura	24 ± 1 °C
Calidad de luz	Ambiente de laboratorio
Intensidad luminosa	100 a 1 000 Lux
Fotoperiodo	16 h de luz; 8 h de oscuridad
Tamaño de envase de prueba	250 mL
Volumen de agua de dilución	100 mL
Sedimento	20 mL
Renovación de agua	No
Nº de organismos por réplica	10
Edad de los organismos	2º instar
Nº de réplicas	2 - 3
Nº de tratamientos	5 fuera del blanco (factor de dilución 0,1)
Alimentación durante la prueba	No
Calidad de agua	Conductividad, pH, temperatura, TDS
Criterios de evaluación de efectos	Supervivencia
Criterio de aceptación de prueba	≥ 80 % de supervivencia de los blancos

FUENTE: USEPA (1993).

3.3.5. PRUEBA SUBLETAL DE INHIBICIÓN DE FECUNDACIÓN EN UN EQUINODERMO

a. Equinodermo marino *Tetrapygyus niger* (Echinodermata: Echinoidea)

Se han tomado en consideración las recomendaciones de la USEPA (1993). Se colectaron especímenes adultos de “erizo negro de mar” *Tetrapygyus niger* en las inmediaciones de playas rocosas de la caleta Pucusana, y fueron mantenidos y aclimatados por 1 semana en acuarios con agua de mar filtrada y con aireación constante. Se estimularon luego con KCl al 0,5 N para aislar los espermios y óvulos que se mantuvieron en cadena de frío para realizar la prueba. Se definieron densidades apropiadas para su lectura y lograr la fecundación *in vitro* enfrentándola a los distintos tratamientos. En el Cuadro 10 se resumen las condiciones para la realización de la prueba de toxicidad con *T. niger*.

Cuadro 10: Condiciones para la prueba subletal de inhibición de fecundación con *Tetrapygyus niger*

Variables	Condiciones de prueba
Tipo de prueba	Estático
Duración	< 2 h
Temperatura	19 ± 1 °C
Calidad de luz	Ambiente de laboratorio
Intensidad luminosa	500 a 1 000 Lux
Tamaño de envase de prueba	5 mL
Volumen de agua de dilución	3 mL
Nº de organismos por réplica	Óvulos: 2 000 cel./mL Espermios: 5 x 10 ⁷ cel./mL
Edad de los organismos	Gametos
Nº de réplicas	3
Nº de tratamientos	5 fuera del blanco (factor de dilución 0,5)
Aireación	No
Calidad de agua	pH, temperatura
Criterios de evaluación de efectos	% No fertilización
Criterio de aceptación de prueba	≥ 90 % de fertilización de los blancos


FUENTE: USEPA (1993)

3.3.6. PRUEBAS DE TOXICIDAD EN PECES

a. Pez marino *Odontesthes regia regia* (Actinopterygii: Atherinopsidae)

Se han tomado en consideración las recomendaciones de la USEPA (1993). Se colectaron masas de ovas de “pejerrey” *Odontesthes regia regia* en las inmediaciones de la caleta de Pucusana. Las ovas fueron aclimatadas en acuarios de 300 L hasta la eclosión de los alevines. Estos permanecieron por dos días sin alimentación hasta que agotaron las reservas energéticas de sus sacos vitelínicos, luego fueron alimentados con alimento vivo que consistió en rotíferos del género *Brachionus* sp. y de zoeas de *Artemia salina*. Se los mantuvo por un lapso de 14 días antes de someterlos a las pruebas ecotoxicológicas. En el Cuadro 11 se resumen las condiciones para la realización de la prueba de toxicidad con *O. regia regia*.

Cuadro 11: Condiciones para las pruebas de toxicidad con *Odontesthes regia*



Variables	Condiciones de prueba
Tipo de prueba	Estático
Duración	96 h / 21 d
Temperatura	19 ± 1 °C
Calidad de luz	Ambiente de laboratorio
Intensidad luminosa	500 a 1 000 Lux
Fotoperiodo	11 h de luz; 13 h de oscuridad
Tamaño de envase de prueba	1 000 mL
Carga volumétrica	0,1 g/L
Renovación de agua	No
Nº de organismos por réplica	10
Peso de los organismos	< 0,01 g
Nº de réplicas	4
Nº de tratamientos	5 fuera del blanco (factor de dilución 0,1)
Alimentación durante la prueba	No / Pellet
Calidad de agua	Salinidad, OD, pH, temperatura
Criterios de evaluación de efectos	Supervivencia
Criterio de aceptación de prueba	≥ 90 % de supervivencia de los blancos

FUENTE: USEPA (1993)

b. Pez epicontinental *Poecilia reticulata* (Osteichthyes: Poeciliidae)

Se han tomado en consideración las recomendaciones de la OECD (1992). Se obtuvieron peces juveniles “guppy” *Poecilia reticulata* adquiridos comercialmente e identificados en el Laboratorio de Ecotoxicología Acuática del IMARPE, y fueron aclimatados por 2 semanas a las condiciones del laboratorio, alimentándolos con hojuelas de algas. El criterio de aceptabilidad consideró supervivencia mayor al 90 % en la fase de aclimatación. Luego, fueron seleccionados ejemplares de menos de 3 gramos de ambos sexos, y dejando de alimentarlos por 48 horas, quedaban listos para la instalación del bioensayo. En el Cuadro 12 se resumen las condiciones para la realización de la prueba de toxicidad con *P. reticulata*.

Cuadro 12: Condiciones para las pruebas de toxicidad con *Poecilia reticulata*

Variables	Condiciones de prueba
Tipo de prueba	Estático / Semi-estático
Duración	96 h / 28 d
Temperatura	21 ± 1 °C
Calidad de luz	Ambiente de laboratorio
Intensidad luminosa	500 a 1 000 Lux
Fotoperiodo	16 h de luz; 8 h de oscuridad
Tamaño de envase de prueba	1 000 mL
Carga volumétrica	8 g/L
Renovación de agua	No / Interdiario
Nº de organismos por réplica	10
Peso de los organismos	< 1 g
Nº de réplicas	3
Nº de tratamientos	5 fuera del blanco (factor de dilución 0,1)
Alimentación durante la prueba	No / Pellet
Calidad de agua	Conductividad, pH, temperatura, TDS
Criterios de evaluación de efectos	Supervivencia
Criterio de aceptación de prueba	≥ 90 % de supervivencia de los blancos

FUENTE: USEPA (1993)

c. Pez epicontinental *Paracheirodon innesi* (Characiformes)

Se adquirieron ejemplares de peces juveniles “neón tetra” *Paracheirodon innesi* en una casa comercial, fueron identificados en el Laboratorio de Ecofisiología Animal de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la UNFV, y se los aclimató a condiciones de laboratorio. Se les proporcionó alimento a razón de 1 mL de suspensión de microalgas diario, suspendiéndolo hasta 24 horas antes de la instalación de la prueba. Luego de pasar el periodo de aclimatación fueron sometidos a las condiciones de prueba. En el Cuadro 13 se resumen las condiciones para la realización de la prueba de toxicidad con *P. innesi*.

Cuadro 13: Condiciones para la prueba de toxicidad con *Paracheirodon innesi*

Variables	Condiciones de prueba
Tipo de prueba	Estático / Semi-estático
Duración	96 h / 14 d
Temperatura	19 ± 1 °C
Calidad de luz	Ambiente de laboratorio
Intensidad luminosa	500 a 1 000 Lux
Fotoperiodo	16 h de luz; 8 h de oscuridad
Tamaño de envase de prueba	1 000 mL
Carga volumétrica	8 g/L
Renovación de agua	No / Interdiario
Nº de organismos por réplica	10
Peso de los organismos	< 1 g
Nº de réplicas	4
Nº de tratamientos	5 fuera del blanco (factor de dilución 0,1)
Alimentación durante la prueba	No / Pellet
Calidad de agua	Conductividad, pH, temperatura, TDS
Criterios de evaluación de efectos	Supervivencia
Criterio de aceptación de prueba	≥ 90 % de supervivencia de los blancos

FUENTE: USEPA (1993)

3.4. ANÁLISIS DE DATOS

Para las pruebas ecotoxicológicas se realizaron transformaciones de datos según correspondieron para ajustar los datos a una distribución normal (Zar 1996). Además, se realizaron análisis de varianzas (ANDEVA) de una vía con el propósito de detectar las diferencias entre los tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles, entre las repeticiones y entre los tiempos de exposición relevantes. Los grados de significancia fueron evaluados con una prueba Tukey HSD. El nivel de significancia fue de 0,05 (Zar 1996). Todos los cálculos estadísticos fueron analizados por el paquete SPSS ver. 14. Se determinó además la CL_{50} , la CE_{50} (Concentración efectiva media) y la NOEC (Concentración efectiva no observable), según corresponda.

Para determinar los efectos de toxicidad aguda y la subletalidad y subcronicidad de inhibición de fecundación se calculó la CL_{50} y la CE_{50} respectivamente, utilizando el método Probit, el método Spearman-Kärber (TSK) o el método gráfico (Litchfield-Wilcoxon).

El primer método de análisis permite estimar la CE_{50} o la CL_{50} ajustando los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancias. El porcentaje de organismos afectados o muertos por la acción tóxica de una sustancia se transformaron a unidades Probit. Esta transformación permitió el ajuste a una línea de regresión, en la cual la concentración perteneciente al Probit 0,5 correspondió a la cantidad de sustancia capaz de generar el efecto estudiado en la mitad de la población. Una de las restricciones para este método es que para el cálculo de la CE_{50} o la CL_{50} deben obtenerse valores intermedios entre 0 y 100 % de mortalidad.

El método Spearman-Kärber (TSK) es un procedimiento estadístico no paramétrico para estimar la CL_{50} y la asocia a un intervalo de confianza de un 95 %. Este procedimiento estima el promedio de la distribución del Log_{10} de la tolerancia. Este es recomendado cuando hay mortalidades parciales y los datos no encajan en el modelo Probit.

El método gráfico estima la CL_{50} por interpolación lineal entre los puntos de un ploteo de porcentajes de mortalidades observadas versus el logaritmo en base 10 (\log_{10}) del porcentaje de concentración. Ese método no provee un intervalo de confianza, se aplica cuando no hay mortalidades parciales.

Finalmente, para determinar los efectos subletales en microalgas y plantas terrestres se determinó la concentración de inhibición media (CI_{50}) con el programa informático ICp recomendado por la USEPA (1992). Este se basa en una estimación usando el método de interpolación lineal, la que compara el control o blanco con el valor que reduce el 50 % de conteo de células durante la prueba de inhibición de crecimiento.

3.5. EVALUACIÓN DE RIESGO ECOLÓGICO

Los criterios de evaluación para determinar el riesgo ecológico de una sustancia exigen que se realicen al menos ocho ensayos agudos (criterio de supervivencia menores a 96 horas) y tres evaluaciones subletales (criterios distintos a supervivencia) o subcrónicas (criterio de supervivencia mayores a 96 horas) (USEPA 1986). En el presente estudio se realizaron 12 pruebas agudas que incluyeron seis especies, siete pruebas subletales en cinco especies y 18 pruebas subcrónicas en seis especies.

En el presente estudio también se han definido los niveles de umbrales de la NOEC (Concentración efectiva no observable), así como sus efectos, mediante el uso de factores de seguridad convenientes. Los factores de seguridad son multiplicadores aplicados para estimar posibles umbrales subletales de efecto en comunidades de organismos. Se emplearon los factores de seguridad recomendados por la USEPA (1997) en la evaluación de riesgo ecológico, que para el presente estudio fue establecido en el valor de diez (10).

En el Cuadro 14 se muestran los criterios de las pruebas efectuadas con las distintas especies y los tiempos de exposición al sulfato de bario y sus formas solubles en el presente estudio.

Cuadro 14: Criterios de las pruebas ecotoxicológicas para las especies evaluadas.

Taxa	Medio	Periodo	Pruebas efectuadas	Criterio
<i>Chlorella</i> sp.	Continental	96 h	Subletal	Inhibición de crecimiento
<i>Isochrysis</i> sp.	Marino	96 h	Subletal	Inhibición de crecimiento
<i>M. sativa</i>	Continental	24 h	Subletal	Inhibición de crecimiento
		10 d	Subletal	Inhibición de germinación
<i>Z. mays</i>	Continental	24 h	Subletal	Inhibición de crecimiento
		10 d	Subletal	Inhibición de germinación
<i>Daphnia</i> sp.	Continental	24 h	Agudo	Supervivencia
		48 h	Agudo	Supervivencia
<i>E. analoga</i>	Marino	24 h	Agudo	Supervivencia
		48 h	Agudo	Supervivencia
		96 h	Agudo	Supervivencia
		7 d	Subcrónico	Supervivencia
		14 d	Subcrónico	Supervivencia
		20 d	Subcrónico	Supervivencia
		30 d	Subcrónico	Supervivencia
		34 d	Subcrónico	Supervivencia
<i>Apohyale</i> sp.	Marino	10 d	Subcrónico	Supervivencia
<i>T. niger</i>	Marino	< 2 h	Subletal	Inhibición de fecundación
<i>C. calligraphus</i>	Continental	4 d	Agudo	Supervivencia
		10 d	Subcrónico	Supervivencia
<i>O. regia regia</i>	Marino	24 h	Agudo	Supervivencia
		48 h	Agudo	Supervivencia
		72 h	Agudo	Supervivencia
		96 h	Agudo	Supervivencia
		5 d	Subcrónico	Supervivencia
		6 d	Subcrónico	Supervivencia
		7 d	Subcrónico	Supervivencia
		16 d	Subcrónico	Supervivencia
17 d	Subcrónico	Supervivencia		
<i>P. reticulata</i>	Continental	72 h	Agudo	Supervivencia
		96 h	Agudo	Supervivencia
		5 d	Subcrónico	Supervivencia
		21 d	Subcrónico	Supervivencia
		27 d	Subcrónico	Supervivencia
		28 d	Subcrónico	Supervivencia
<i>P. innesi</i>	Continental	24 h	Agudo	Supervivencia
		6 d	Subcrónico	Supervivencia
		10 d	Subcrónico	Supervivencia

La determinación del riesgo ecológico calculado (RQ) viene dado por el cociente de la concentración de exposición esperada (CEE) y la concentración que no causa efectos sobre los organismos (NEC) (Planes y Fuchs 2015).

Para establecer la CEE, se asumió el valor de los estándares nacionales para el bario en agua en la Categoría 4: Conservación del Ambiente Acuático (0,7 - 1 mg/L) (DS 002-2008-MINAM), dependiendo del medio al cual pertenezca la especie que haya obtenido el menor valor de NOEC en las pruebas ecotoxicológicas propuestas en el presente estudio. Se utilizó el valor de bario y no de sulfato de bario pues en el medio acuoso sólo estarían las especies solubles de los iones sulfato y bario, asumiendo que éste último aporta el carácter tóxico de la solución problema. Mientras que para el caso del suelo, siguiendo el mismo criterio, se asumen los valores de los estándares nacionales para el bario total (750 – 2 000 mg/kg) (DS. 002-2013-MINAM).

El valor de la NEC se obtuvo con el valor de la menor toxicidad aguda (CE₅₀ o CL₅₀) calculada de las pruebas ecotoxicológicas llevadas a cabo, dividida sobre un factor de seguridad o de aplicación. Este factor de seguridad puede ser 10, 100 o 1 000 (Calow y Forbes 2003), y este es inversamente proporcional a la cantidad y calidad de datos de toxicidad que se disponga, que para el presente estudio se consideró el factor 10 (Planes y Fuchs 2015). En el Cuadro 15 se muestra la interpretación del RQ, teniendo en cuenta los posibles resultados.

$$NEC = \frac{\text{Menor NOEC o CE50}}{\text{Factor}}$$

$$\text{Riesgo (RQ)} = \frac{CEE}{NEC}$$

Cuadro 15: Interpretación de resultados para determinar el Riesgo Ecológico (RQ).

RQ < 1	Incluir otras pruebas ecotoxicológicas	Hay un riesgo ecológico bajo para el ecosistema.
RQ = 1	Redefinir la CEE	Hay un riesgo ecológico medio para el ecosistema.
RQ > 1	Reducir o tratar el estresor	Hay un riesgo ecológico alto para el ecosistema.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PRUEBAS SUBLETALES DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO EN MICROALGAS

4.1.1. Microalga epicontinental *Chlorella* sp.

En la Figura 4 se muestran las variaciones de los tratamientos de *Chlorella* sp. durante la prueba de inhibición de crecimiento celular al cabo de 96 horas. A pesar de que el tratamiento control o blanco y el tratamiento menor de bario, muestran un incremento inicial de la densidad de estas microalgas pasadas las 24 horas, todos los tratamientos en general disminuyeron sus densidades. Este decaimiento se debió al empleo de un cultivo celular en su fase estacionaria el cual inició su proceso natural de decaimiento poblacional, por agotamiento de nutrientes (Paniagua et al. 1986). Sin embargo, a fin de detectar la concentración de inhibición del cultivo se sometieron los valores de concentración de la prueba al programa ICp, el cuál estimó las CI_{50} que mostraron valores entre 0,1113 y 0,1133 g/L para las primeras 24 y 48 horas, respectivamente; luego se apreció un incremento en el efecto de inhibición de crecimiento a las 72 horas (0,0625 g/L) respecto al blanco, para finalmente, retornó al valor de 0,1027 g/L al cabo de las 96 horas (Figura 5).

Es importante considerar que los rangos de concentración en los que se observa la inhibición de cultivo celular de esta especie de microalga se hallan por encima de los valores de solubilidad del sulfato de bario bajo estas condiciones, por lo que se deduce que el efecto del compuesto sobre el cultivo lo estaría forzando el sulfato de bario más que el bario soluble; aún queda por conocer que mecanismo es el causante de dicho efecto. Se presume el efecto físico que podría estar ocasionado las partículas en suspensión durante el proceso de aireación continua del sistema que hayan podido influir en el acceso a la luz, disminuyendo la capacidad de absorción por las células o que impidan la captación de nutrientes compitiendo con el sulfato de bario suspendido.

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada para el crecimiento algal, (Temperatura: 20,4 - 21,2 °C; pH: 6,7 - 7,9).

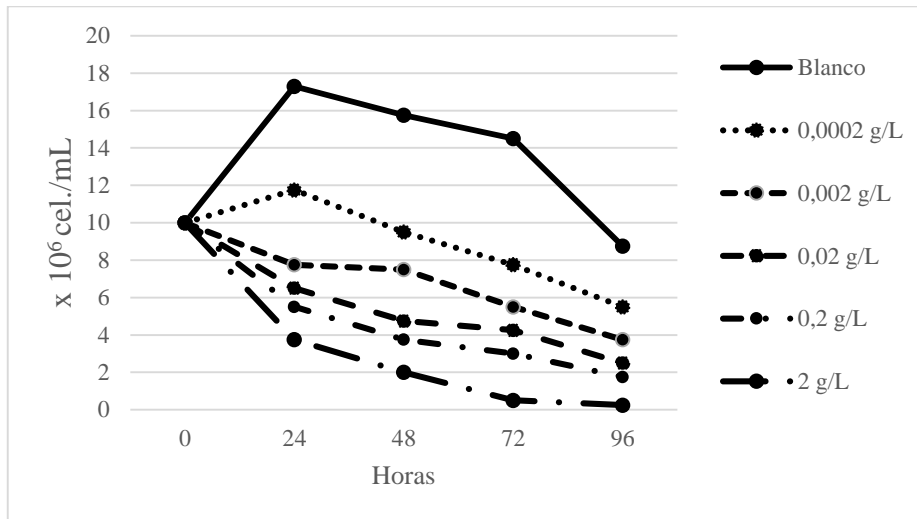


Figura 4: Crecimiento celular (cel./mL) promedio de la microalga epicontinental *Chlorella* sp. expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48, 72 y 96 horas.

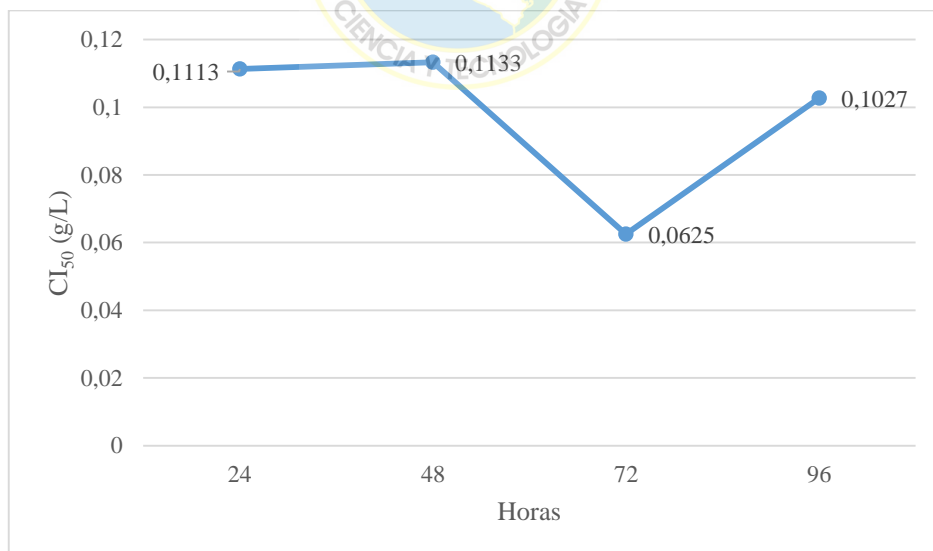


Figura 5: Concentración de inhibición media de crecimiento celular (CI₅₀) para la microalga epicontinental *Chlorella* sp. a las 24, 48, 72 y 96 horas de exposición a sulfato de bario.

4.1.2. Microalga marina *Isochrysis* sp.

En la Figura 6 se aprecia que para la prueba con *Isochrysis* sp., en todos los tratamientos, hay un crecimiento celular hasta el tercer día, mientras que al cuarto día decayó el crecimiento. Durante el desarrollo de esta prueba, a diferencia de la prueba con la anterior especie de microalga epicontinental, el crecimiento celular se mantuvo desde las 24 horas hasta un decaimiento al cuarto día. En este caso, se puede constatar que el cultivo celular se halló en una fase de crecimiento. En otros estudios (Alayo 2004) también detectaron en pruebas ecotoxicológicas con microalgas marinas, incluyendo esta especie, esta disminución en el crecimiento celular a las 120 horas.

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada para el crecimiento algal, (Temperatura: 18,70 - 18,95 °C; pH: 8,70 - 8,75).

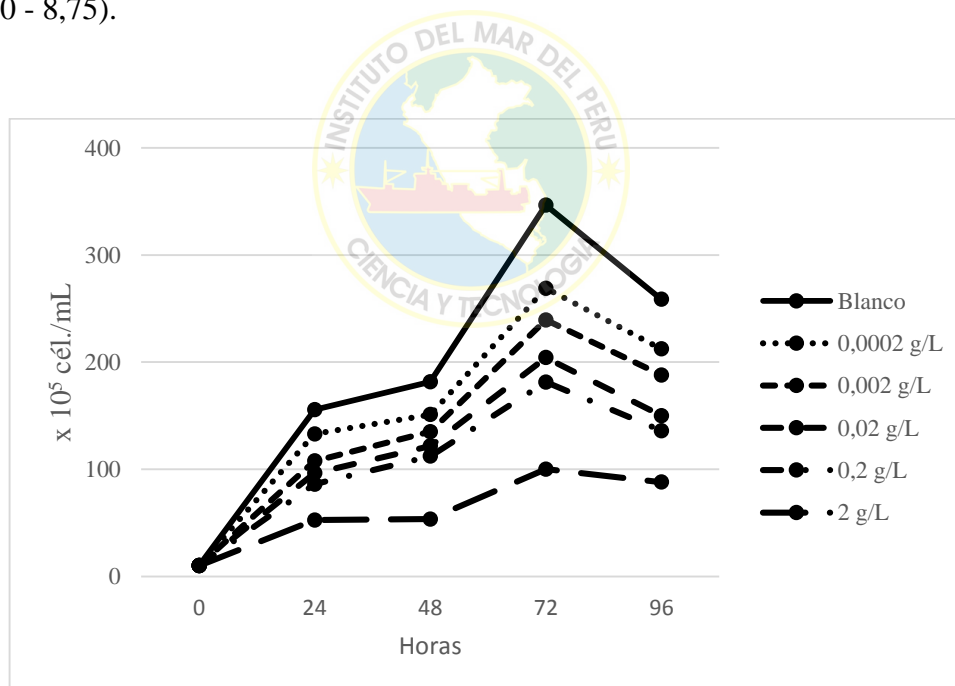


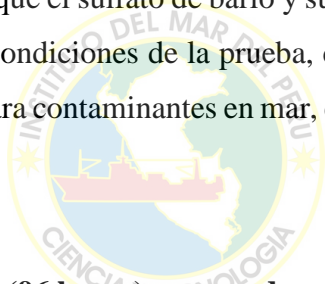
Figura 6: Crecimiento celular (cel./mL) promedio de la prueba subletal de inhibición de crecimiento con la microalga marina *Isochrysis* sp. expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48, 72 y 96 horas.

También, en esta prueba, se sometieron los resultados de los tratamientos con microalga a un análisis de inhibición de crecimiento y en la Figura 7 se muestra como al tercer día la

concentración de inhibición media del crecimiento celular para *Isochrysis* sp. presentó una disminución desde valores entre 1,0647 y 1,1288 g/L a valores de 0,5 g/L. Finalmente, se muestra una recuperación a las 96 horas donde se establece un valor de efecto en el crecimiento de 0,8429 g/L.

Igualmente, en este caso, los efectos se dan por efecto del sulfato de bario y se dedujo que el efecto del compuesto sobre el cultivo lo estaría forzando el sulfato de bario más que el bario soluble; aún queda por conocer que mecanismo es el causante de dicho efecto. Se presume en este caso también que el efecto físico que podría estar ocasionado las partículas en suspensión durante el proceso de aireación continua del sistema podrían estar influyendo en el acceso a la luz disminuyendo la capacidad de absorción por las células o que impidan la captación de nutrientes compitiendo con el sulfato de bario suspendido.

Sin embargo, este valor refleja que el sulfato de bario y sus formas solubles no afectan a esta especie de microalga bajo las condiciones de la prueba, considerándola según la normativa nacional (RD-127-97/DCG), para contaminantes en mar, como una sustancia “prácticamente atóxica” (Cuadro 16).



Cuadro 16: Valores de CL₅₀ (96 horas) que pueden causar daño a los recursos vivos en ambientes marinos.

Índices	CL ₅₀ en 96 horas
Sumamente tóxica	Menos de 1 mg/L
Moderadamente tóxica	1 - 10 mg/L
Ligeramente tóxica	10 - 100 mg/L
Prácticamente atóxica	100 - 1 000 mg/L
No peligrosa	Superior a 1 000 mg/L

FUENTE: Elaborado a partir de RD-127-97/DCG.

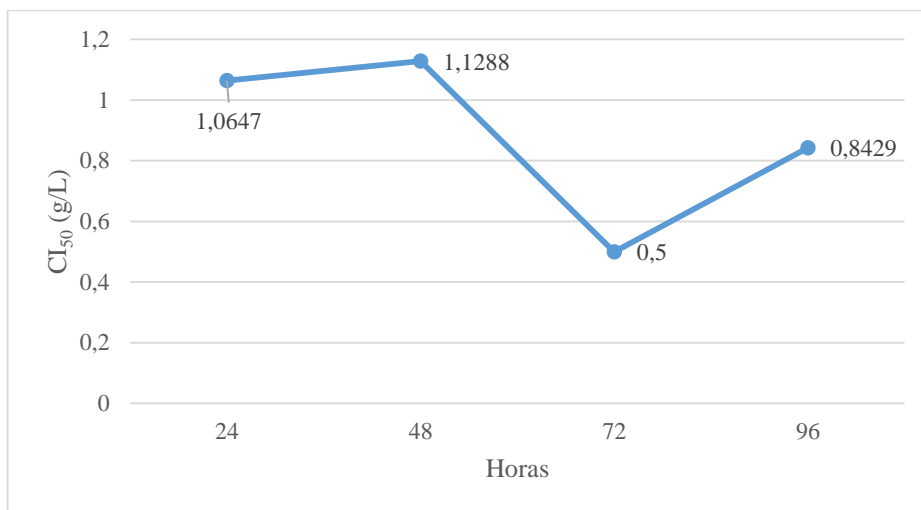


Figura 7: Concentración de inhibición media de crecimiento (CI₅₀) para la microalga marina *Isochrysis* sp. a las 24, 48, 72 y 96 horas de exposición a sulfato de bario.

La microalga epicontinental *Chlorella* sp fue más susceptible al crecimiento celular que la microalga marina *Isochrysis* sp. expuestas a sulfato de bario y sus formas solubles por 96 horas con valores de CI₅₀ de 0,1027 g/L y 0,8429 g/L, respectivamente.

4.2. PRUEBAS SUBLETALES DE INHIBICIÓN DE GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO EN PLANTAS TERRESTRES

4.2.1. Planta dicotiledónea *Medicago sativa*

Se empleó una dicotiledónea leguminosa de amplio uso en la agricultura, como lo es la alfalfa; y en la Figura 8 se muestran los efectos de inhibición del sulfato de bario y sus formas solubles sobre la prueba de germinación en *M. sativa* a partir de tratamientos mayores a 0,0002 g/L que se hallan por debajo del 60 % de germinación.

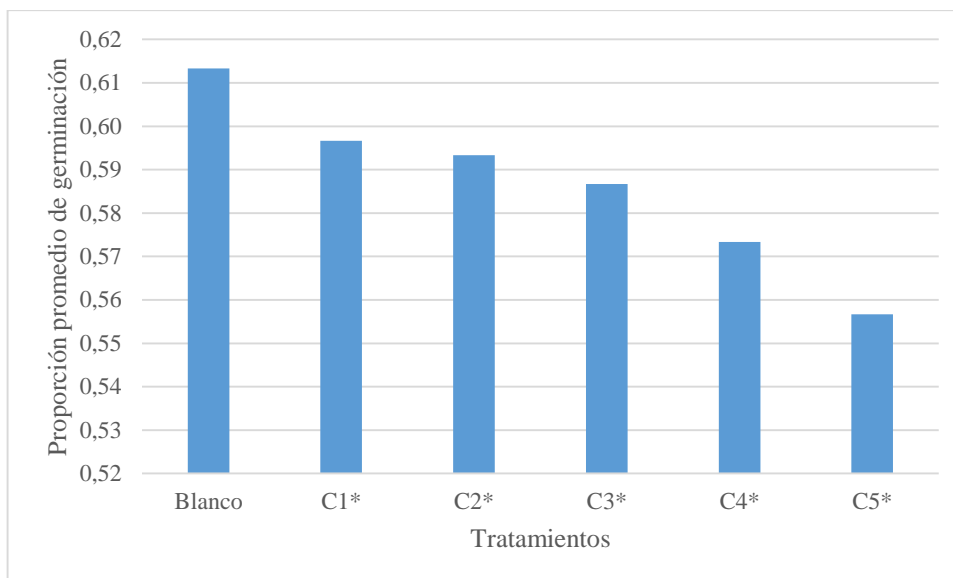


Figura 8: Proporción promedio de germinación en la planta dicotiledónea *Medicago sativa* expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; C1: 0,0002 g/L; C2: 0,002 g/L; C3: 0,02 g/L; C4: 0,2 g/L y C5: 2 g/L). *Sig.

p<0,05

Además, para conocer también el efecto de inhibición de la sulfato de bario y sus formas solubles sobre el crecimiento foliar de *M. sativa*, en la Figura 9, se muestran también dichos efectos a partir de tratamientos mayores a 0,0002 g/L.

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 23,4 - 24,6 °C; pH: 7,3 - 7,8; conductividad: entre 140 – 200 μ S/cm, sólidos disueltos totales: 220 – 320 mg/L).

Para estimar el valor de los efectos en germinación y crecimiento foliar, en el Cuadro 17 se muestran los valores calculados para la prueba con *M. sativa* con el modelo Probit para germinación y el modelo de inhibición de crecimiento (ICp), en el cuál muestran estimados de 420,39 g/L de CE₅₀ para la prueba de germinación; mientras que valores de 0,67 g/L para inhibición de crecimiento. Ambos valores estimados sobrepasan los niveles de solubilidad del sulfato de bario, impidiendo que el compuesto de bario se solubilice, por lo que se esperan efectos de movilización del bario a partir del sulfato de bario desde las raíces de los suelos o su efecto directo sobre las semillas. Llugany et al. (2000) muestran la interferencia del bario en el transporte de potasio y calcio en raíces de legumbres, afectando por

consecuencia su crecimiento a partir del deterioro (amarillamiento) en hojas principalmente. También, en leguminosas de la especie *Phaseolus vulgaris* se demostró que el bario es fácilmente absorbido a partir del sulfato de bario por estas plantas y llega a interferir en la movilización de calcio (Ca) de la raíz a las hojas (Menzie et al 2008). Coscione y Berton (2009), sin embargo, muestran estudios donde no se perciben efectos en raíces de distintas plantas dicotiledóneas, sin embargo, se muestran niveles de bioacumulación de bario en dichas plantas luego de ser sometidas a sulfato de bario.

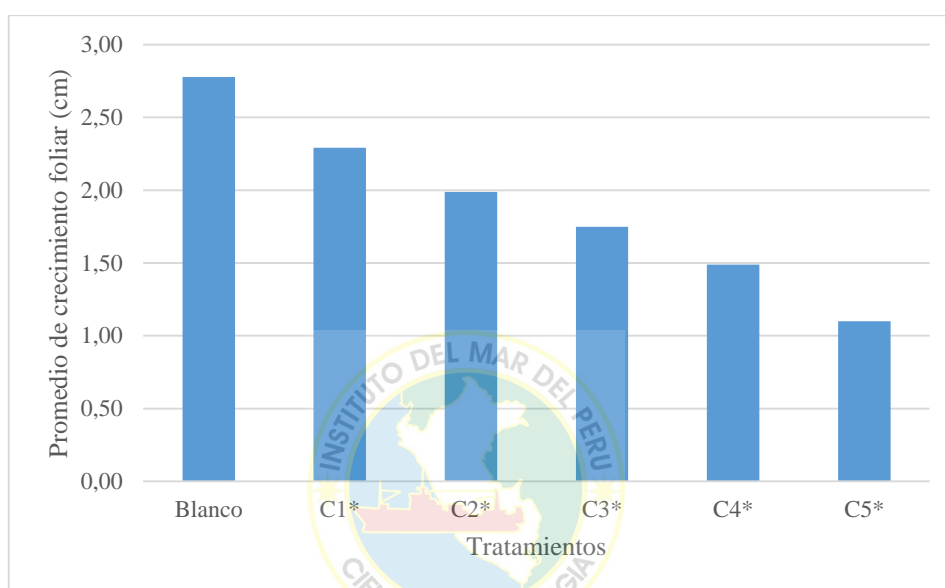


Figura 9: Crecimiento (cm) promedio foliar de la planta dicotiledónea *Medicago sativa* expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; C1: 0,0002 g/L; C2: 0,002 g/L; C3: 0,02 g/L; C4: 0,2 g/L y C5: 2 g/L). *Sig. $p < 0,05$

Cuadro 17: Concentración efectiva media (CE_{50}) de germinación a las 24 horas y Concentración de inhibición media de crecimiento (CI_{50}) a los 10 días de la planta dicotiledónea *Medicago sativa* expuesta a sulfato de bario y sus formas solubles.

Inhibición de Germinación (24 h)	CE_{50} (g/L)	420,39
	Lim. inf. (g/L)	NC
	Lim. sup. (g/L)	NC
Inhibición de Crecimiento (10 d)	CI_{50} (g/L)	0,67
	Lim. inf. (g/L)	0,18
	Lim. sup. (g/L)	1,65

NC: No calculable.

4.2.2. Planta monocotiledónea *Zea mays*

En la Figura 10 se aprecian los efectos sobre la prueba de germinación en *Z. mays* del sulfato de bario y sus formas solubles a partir de tratamientos mayores a 0,2 g/L, donde se registraron sólo valores promedio de germinación del 5 %.

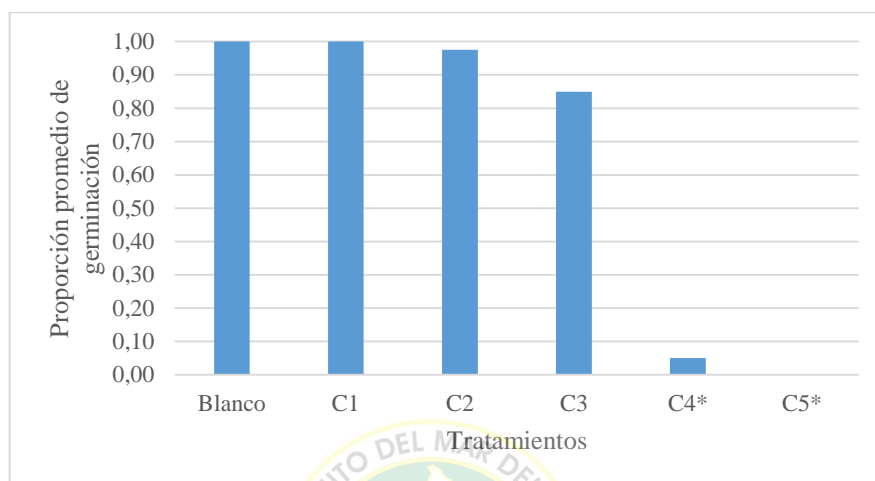


Figura 10: Proporción de promedio de germinación de la planta monocotiledónea *Zea mays* expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; C1: 0,0002 g/L; C2: 0,002 g/L; C3: 0,02 g/L; C4: 0,2 g/L y C5: 2 g/L). *Sig. $p < 0,05$

También, se muestran en la Figura 11, los efectos del sulfato de bario y sus formas solubles sobre el crecimiento de *Z. mays* a partir de tratamientos mayores a 0,0002 g/L, donde no se superaron los 4,25 cm de longitud foliar.

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante de las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 23,1 - 23,8 °C; pH: 6,6 - 6,85; conductividad: entre 160 – 195 $\mu\text{S/cm}$, sólidos disueltos totales: 200 – 280 mg/L).

En el Cuadro 18 se muestran los resultados del análisis para la prueba con *Z. mays* por el modelo Probit para germinación y el modelo de inhibición de crecimiento foliar (ICp), en el cuál se muestran valores de 0,044 g/L de CE_{50} para la prueba de germinación; mientras que valores de 0,0011 g/L para inhibición de crecimiento foliar. También, Miller et al (1980)

observaron efectos negativos en el crecimiento en maíz dulce (*Zea mays var. saccharata*) expuesto a sulfato de bario por 56 días (0,795 g/L).

Nótese que, los valores de inhibición tanto de germinación (0,044 g/L) y crecimiento foliar (0,0011 g/L) para esta especie, se hallan en forma de sulfato de bario y ion bario, respectivamente, atendiendo a la solubilidad de su compuesto. Aunque para el primer caso podría no ser válido la comparación ya que el sistema de prueba para germinación no incluyó la matriz suelo, se consideran las condiciones naturales donde las semillas estarían expuestas en tierra. Teniendo esto en consideración y para poder comparar estos valores con los establecidos estándares nacionales para bario total en suelo (DS 002-2013-MINAM), los valores serían 440 mg/kg y 1,1 mg/kg, respectivamente. Se nota que sólo para el caso de germinación el valor de 440 mg/kg de bario total estaría muy cerca al valor máximo establecido para suelos residenciales y parques. Aquí también se asume que todas las formas de bario en el sistema de experimentación representan los tratamientos que contienen bario en su composición.

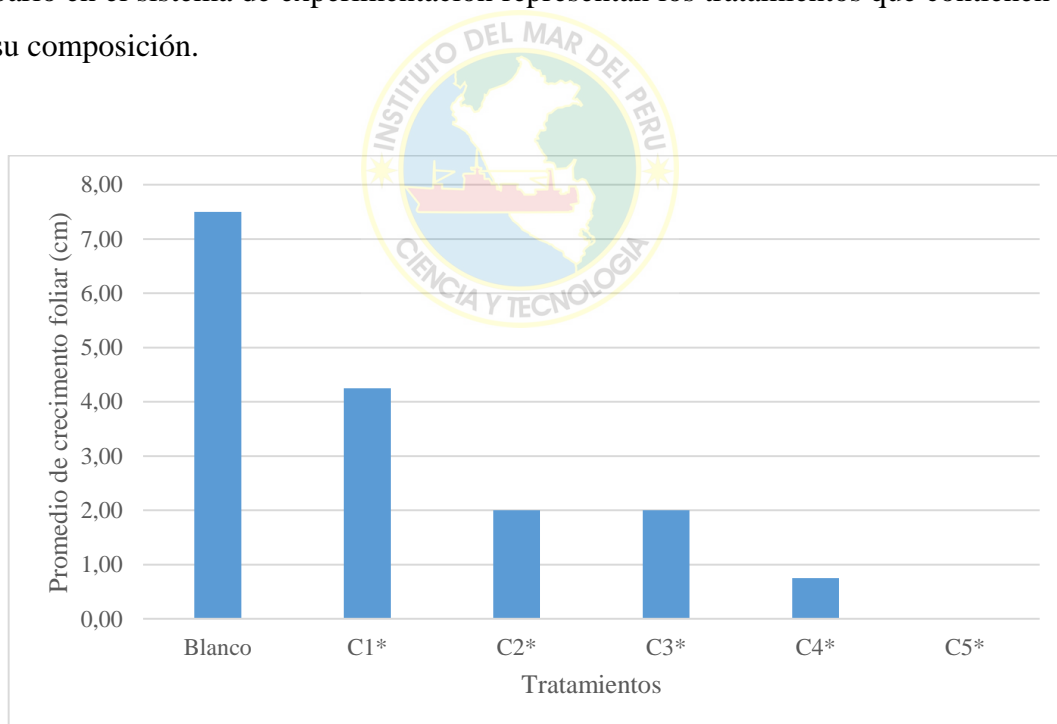


Figura 11: Crecimiento foliar (cm) promedio de la planta monocotiledónea *Zea mays* expuesta a diferentes tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; C1: 0,0002 g/L; C2: 0,002 g/L; C3: 0,02 g/L; C4: 0,2 g/L y C5: 2 g/L). *Sig. $p < 0,05$

Cuadro 18: Concentración efectiva media (CE₅₀) de germinación a las 24 horas y Concentración de inhibición media de crecimiento (CI₅₀) a los 10 días de la planta monocotiledónea *Zea mays* expuesta a sulfato de bario y sus formas solubles.

Inhibición de Germinación (24 h)	CE₅₀ (g/L)	0,044
	Lim. inf. (g/L)	0,002
	Lim. sup (g/L)	1,076
Inhibición de Crecimiento (10 d)	CI₅₀ (g/L)	0,0011
	Lim. inf. (g/L)	0,0002
	Lim. sup (g/L)	0,0019

Para las pruebas efectuadas sobre plantas terrestres, *Zea mays* fue más susceptible al sulfato de bario y sus formas solubles que *Medicago sativa* tanto en las fases de germinación (4 d), con valores de CE₅₀ de 0,044 g/L y 420,39 g/L, respectivamente; y sobre su crecimiento (10 d), con valores de CI₅₀ de 0,0011 g/L y 0,67, respectivamente.

En gramíneas de la especie *Panicum maximum* se han registrado valores tóxicos alrededor de 0,170 g/L, mostrándose síntomas iniciales de clorosis seguido de una necrosis foliar en forma de puntos (Monteiro et al 2011). Finalmente, así como en los casos presentados, se deben considerar como referencia los valores mostrados en este estudio, pues afectan el crecimiento de estas especies de plantas frente al sulfato de bario.

4.3. PRUEBAS DE TOXICIDAD EN CRUSTÁCEOS

4.3.1. Cladóceros epicontinental *Daphnia* sp.

Uno de los taxa (Cladocera) más empleados en pruebas ecotoxicológicas, que a futuro servirá para comparar distintos trabajos realizados con este modelo biológico.

En la Figura 12 se muestran el porcentaje promedio de supervivencia de *Daphnia* sp. a las 24 y 48 horas expuesta a sulfato de bario y sus formas solubles. Se observa, en general, como todos los tratamientos disminuyen su supervivencia hasta alcanzar valores cercanos al 50 % en el tratamiento con niveles de (2 g/L).

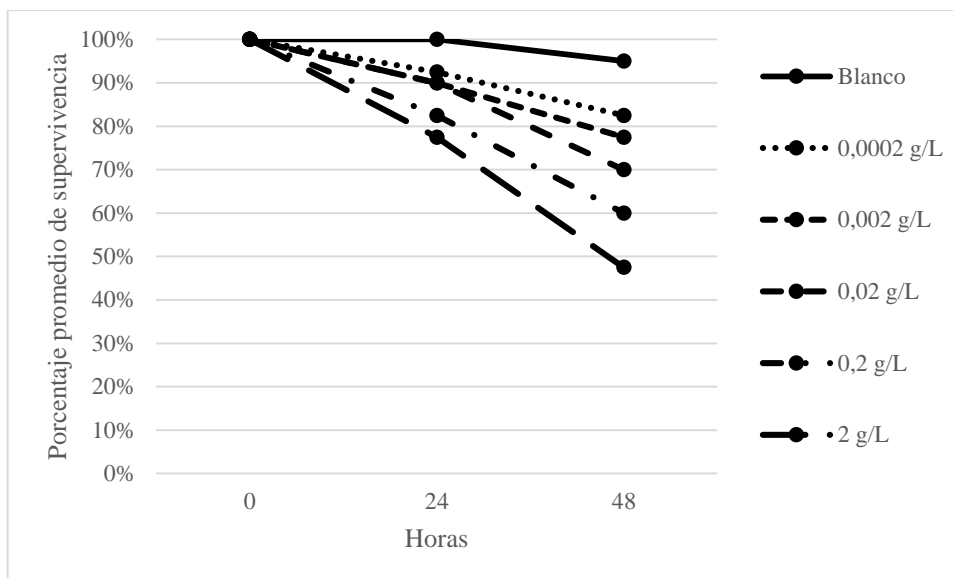


Figura 12: Porcentaje promedio de supervivencia de la prueba de toxicidad con el cladócerico epicontinental *Daphnia* sp. expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24 y 48 horas.

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante de las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 19,7 - 20,1 °C; pH: 7,60 - 7,75).

En la Figura 13 se muestran los resultados del análisis para la prueba con *Daphnia* sp. por el modelo Probit para mortandad, en el cuál se estima valores de 26 607 g/L como CL₅₀ a las 24 horas y de 1,28 g/L a las 48 horas. Nótese que, ambos valores son valores hipotéticos (estimaciones estadísticas) obtenidos a partir de un programa estadístico y que no representan una posibilidad real de estado en el que pueda hallarse el sulfato de bario en un medio natural. Tratamientos menores a 2 g/L de sulfato de bario no afectaron la supervivencia de *Daphnia* sp. expuesta por 48 horas.

Diversos estudios con dáfnidos han mostrado resultados del elemento bario a partir de soluciones de cloruro de bario (Biesinger y Christensen 1972, Anderson 1968, Khangarot y Ray 1989, Le Blanc 1980), sin embargo, el objetivo de este estudio pretende encontrar los efectos de su forma como sulfato de bario, el cual es de mayor uso en la industria y en mayor grado a nivel de actividades hidrocarburíferas. Le Blanc (1980) registró valores de NOEC (68 mg/L) de bario a las 48 h en *Daphnia magna*. Mientras que Biesinger y Christensen (1972) reportaron a las 48-h y a los 21 d, valores de CL₅₀ de 14,5 y 13,5 mg/L para el

elemento bario, respectivamente. Khangarot y Ray (1989) reportaron a las 24 y 48-h, valores de CE_{50} de 52,8 y 32,0 mg/L, respectivamente, para dáfidos expuestos a sulfato de bario.

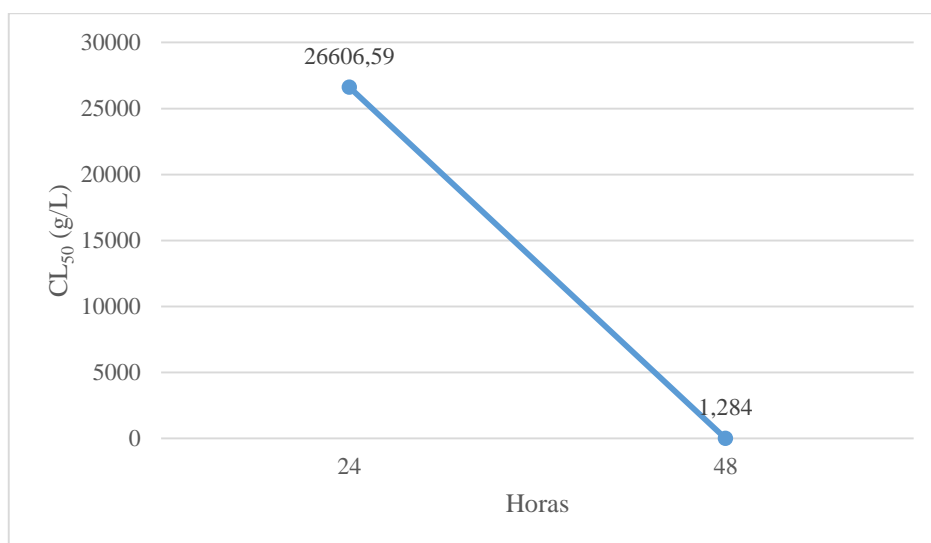


Figura 13. Concentración letal media (CL_{50}) del sulfato de bario expuesto a las 24 y 48 horas durante la prueba de toxicidad con el cladócerico epicontinental *Daphnia* sp.

4.3.2. Decápodo marino *Emerita analoga*

En la Figura 14 se muestran los porcentajes promedio de las supervivencias a las 24, 48 y 96 horas de la prueba con *E. analoga* expuesta a sulfato de bario y sus formas solubles. Se observa, como casi todos los tratamientos disminuyen la supervivencia de *E. analoga* hasta alcanzar valores cercanos al 50 % en el tratamiento más alto (2 g/L), con excepción del blanco.

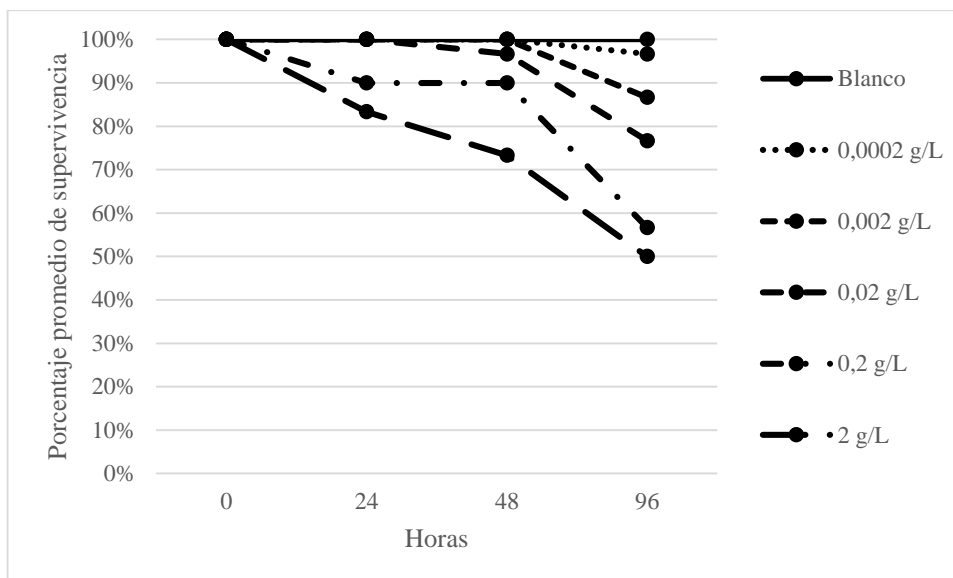


Figura 14: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el decápodo marino *Emerita analoga* expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48 y 96 horas.

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante de las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 17,4 -18,2 °C; pH: 8,20 - 8,24; OD: 5,7 – 6,3 mg/L).

En la Figura 15 se muestran los resultados del análisis para la prueba con *E. analoga* por el modelo Probit para mortandad, en el cuál estiman valores de CL_{50} de 36,867 g/L a las 24 horas, 15,72 g/L a las 48 horas y de 1,049 g/L a las 96 horas. Nótese que los valores estimados, son hipotéticos obtenido a partir de un programa estadístico y que no representa una posibilidad real de estado. Este valor refleja que el sulfato de bario y sus formas solubles no afectan a esta especie, bajo las condiciones de la prueba, considerándola según la normativa nacional (RD-127-97/DCG) para contaminantes en mar una sustancia “no peligrosa”.

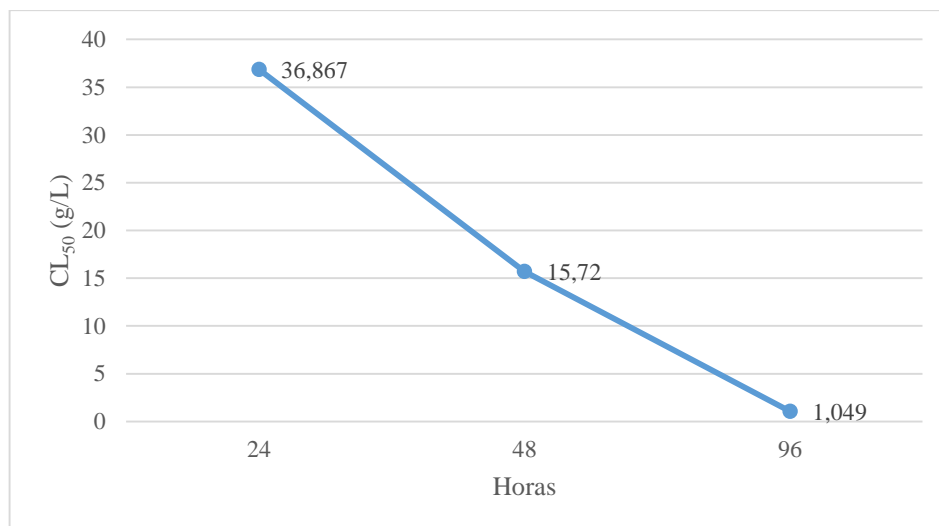


Figura 15. Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto a las 24, 48 y 96 horas durante la prueba de toxicidad con el decápodo marino *Emerita analoga*.

A fin de conocer cómo cambiaba la curva de mortandad hasta los 34 días, se extendió el periodo de prueba. Para esta prueba extendida, se realizaron recambios diarios de medio y alimentación que incluían microalgas del género *Nannochloropsis* sp. a razón de 10^5 cel/mL.

En la Figura 16 se muestran el porcentaje promedio de supervivencia a los 7, 14, 20, 30 y 34 días de la prueba con *E. analoga* expuesta a sulfato de bario y sus formas solubles. Se observa, como casi todos los tratamientos disminuyen la supervivencia de *E. analoga* hasta alcanzar valores cercanos al 40 % para el tratamiento más alto (2 g/L).

En la Figura 17 se muestran los resultados del análisis para la prueba con *E. analoga* por el modelo Probit para mortandad, en el cuál estiman valores de CL₅₀ de 2,05 g/L a los 7 días, 3,8 g/L a los 14 días, 1,7 g/L a los 20 días, 1,04 g/L a los 30 días y de 0,75 g/L a los 34 días. Estos valores reflejan que el sulfato de bario y sus formas solubles no afectan a esta especie, bajo las condiciones de la prueba, considerándola según la normativa nacional (RD-127-97/DCG) para contaminantes en mar una sustancia “no peligrosa”, excepto al último valor que lo sitúa en condición de sustancia “prácticamente atóxica”.

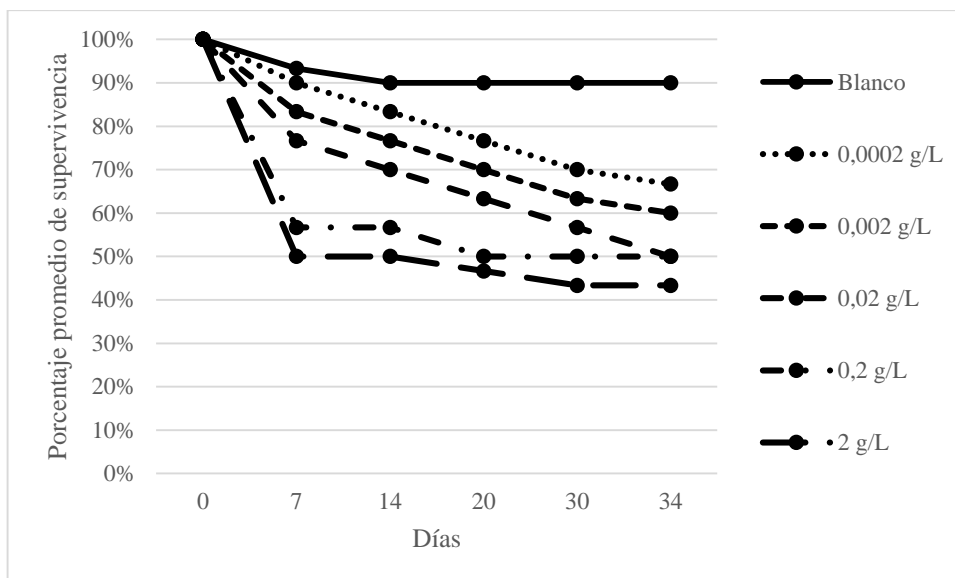


Figura 16: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el decápodo marino *Emerita analoga* expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a los 7, 14, 20, 30 y 34 días.

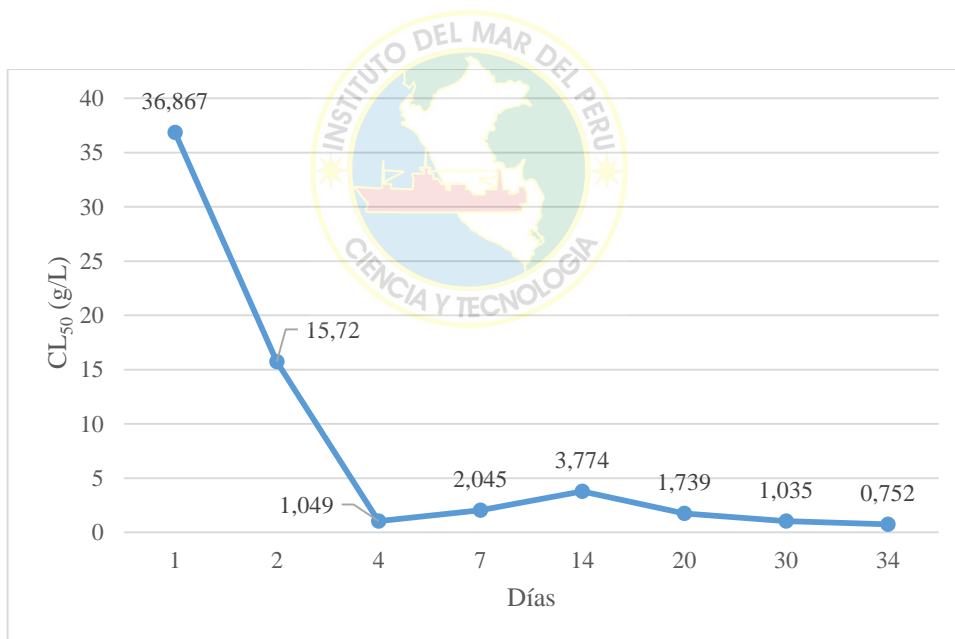


Figura 17. Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto a 1, 2, 4, 7, 14, 20, 30 y 34 días durante la prueba de toxicidad con el decápodo marino *Emerita analoga*.

4.3.3. Anfípodo marino *Apohyale* sp.

En la Figura 18 se muestra el porcentaje promedio de supervivencia a los 10 días de la prueba con *Apohyale* sp. expuesto a sulfato de bario y sus formas solubles. Se observa, como a valores mayores los 2 g/L se distingue una diferencia significativa con los demás tratamientos.

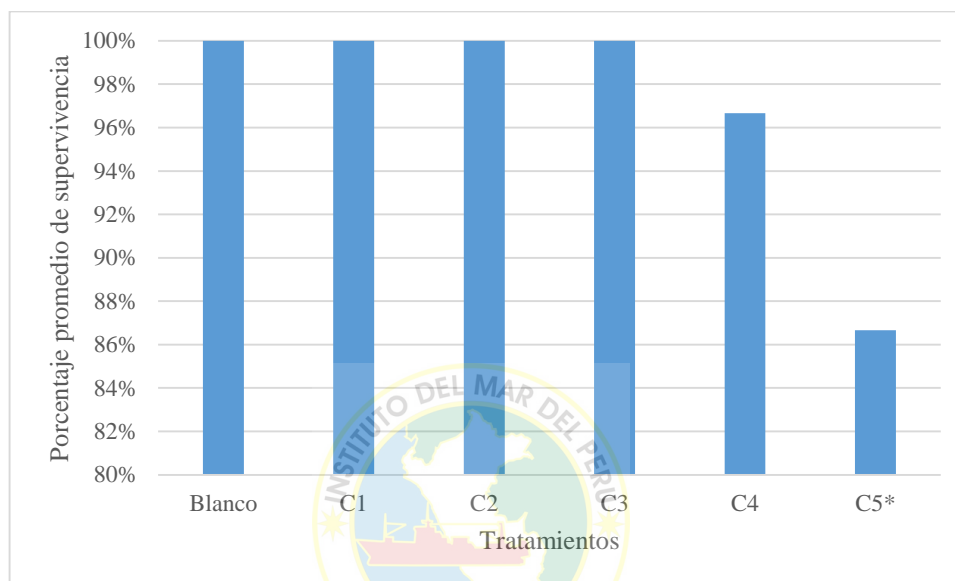


Figura 18: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el anfípodo marino *Apohyale* sp. expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; C1: 0,0002 g/L; C2: 0,002 g/L; C3: 0,02 g/L; C4: 0,2 g/L y C5: 2 g/L). *Sig. $p < 0,05$

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante de las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 18,6 - 19,6 °C; pH: 7,79 - 7,82; OD: 4,0 – 5,0 mg/L).

En el Cuadro 19 se muestran el resultados del análisis para la prueba con *Apohyale* sp. por el modelo Probit para mortandad, en el cuál estiman el valor hipotético de CL_{50} de 18,753 g/L a los 10 días. Este valor refleja que el sulfato de bario y sus formas solubles no afectan a esta especie, bajo las condiciones de la prueba, considerándola según la normativa nacional (RD-127-97/DCG) para contaminantes en mar una sustancia “no peligrosa”.

Pruebas con bario sobre dos especies de anfípodos (*Gammarus pulex* y *Echinogammarus berilloni*), Vincent et al. (1986) reportaron a las 24, 48, 72 y 96 h, valores CL₅₀ de 3 980, 395, 255 y 238 mg/L y 336, 258, 162 y 122 mg/L, respectivamente, en agua eucálcica; valores CL₅₀ en agua oligocálcica fueron 1 260, 533, 337 y 227 mg/L y 308, 197, 151 y 129 mg/L, respectivamente.

Cuadro 19: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto por 10 días sobre el anfípodo marino *Apothyale* sp.

	10 d
CL₅₀ (g/L)	18,753
Lim. inf. (g/L)	2,432
Lim. sup. (g/L)	1E+20

Para las pruebas efectuadas sobre crustáceos marinos, *Emerita analoga* (96 h) fue más susceptible al sulfato de bario y sus formas solubles que el *Apothyale* sp. (10 d), con valores de CL₅₀ de 1,284 g/L y 18,753 g/L, respectivamente.

4.4. PRUEBA DE TOXICIDAD EN UN INSECTO ACUÁTICO

4.4.1. Díptero acuático epicontinental *Chironomus calligraphus*

En la Figura 19 se muestra el porcentaje promedio de supervivencia a los 4 y 10 días de la prueba con *C. calligraphus* expuesto a sulfato de bario y sus formas solubles. Se observa, como casi todos los tratamientos disminuyen la supervivencia de *C. calligraphus* hasta alcanzar valores cercanos al 50 % para el tratamiento más alto (2 g/L), excepto el blanco y el primer tratamiento (0,0002 g/L).

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante de las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 23,8 - 24,6 °C; pH: 7,4 - 7,7; Conductividad: 110 – 190 μS/cm; sólidos disueltos totales: 230 – 270 mg/L).

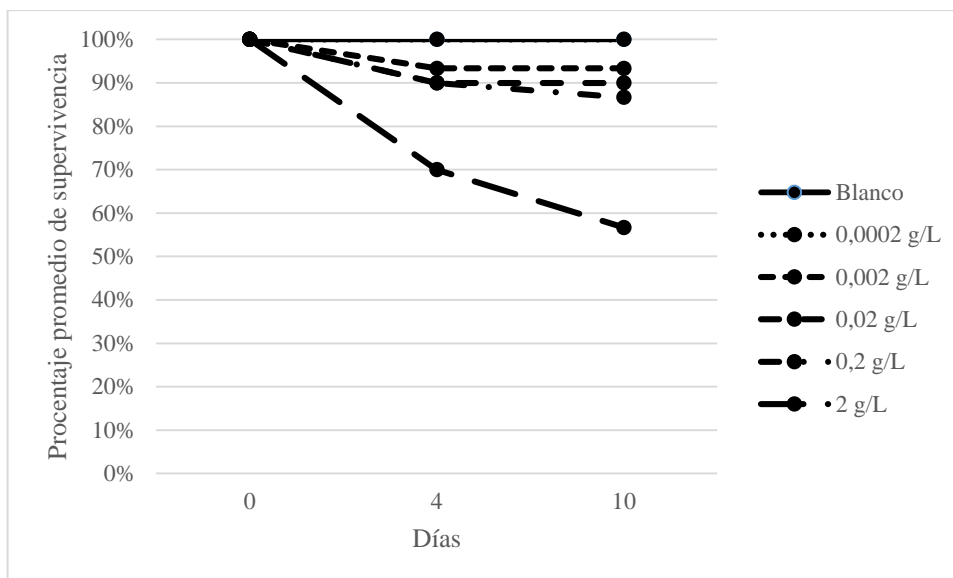


Figura 19: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad del díptero acuático epicontinental *Chironomus calligraphus* expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a los 4 y 10 días.

En la Figura 20 se muestra el resultado del análisis para la prueba con *C. calligraphus* por el modelo Probit para mortandad, en el cual se estiman valores hipotéticos de CL_{50} de 72,8 g/L a los 4 días y 7,5 g/L a los 10 días. El sulfato de bario, bajo las condiciones de la prueba, no genera efectos letales de toxicidad sobre *C. calligraphus* a los 10 días para tratamientos menores a 2 g/L.

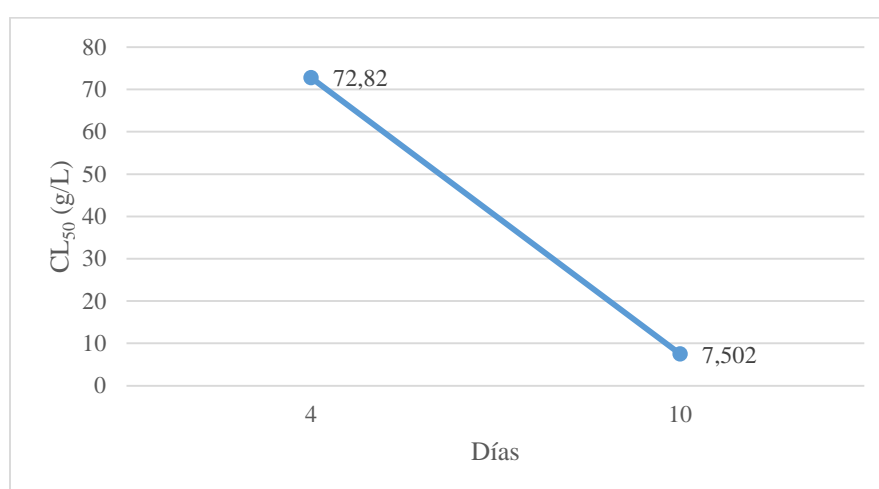


Figura 20: Concentración letal media (CL_{50}) del sulfato de bario expuesto a los 4 y 10 días durante la prueba de toxicidad con el díptero acuático epicontinental *Chironomus calligraphus*.

4.5. PRUEBA SUBLETAL DE INHIBICIÓN DE FECUNDACIÓN EN UN EQUINODERMO

4.5.1. Equinodermo marino *Tetrapygyus niger*

En la Figura 21 se muestra el porcentaje promedio de inhibición de fecundación de la prueba con *T. niger* expuesto a sulfato de bario y sus formas solubles. Se observa, que no se distingue una diferencia significativa entre los tratamientos, lo que indica que los tratamientos empleados para este estudio que incluyen fases solubles y no solubles de bario a partir de sulfato de bario y que bajo las condiciones de la prueba, no afectan el proceso de fecundación de gametos en esta especie, a pesar de lo establecido por Gillot et al. (1990), sobre la importancia de los niveles de calcio en los procesos de fecundación de huevos de erizos de mar.

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante de las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 18 - 20 °C; pH: 7 - 8).

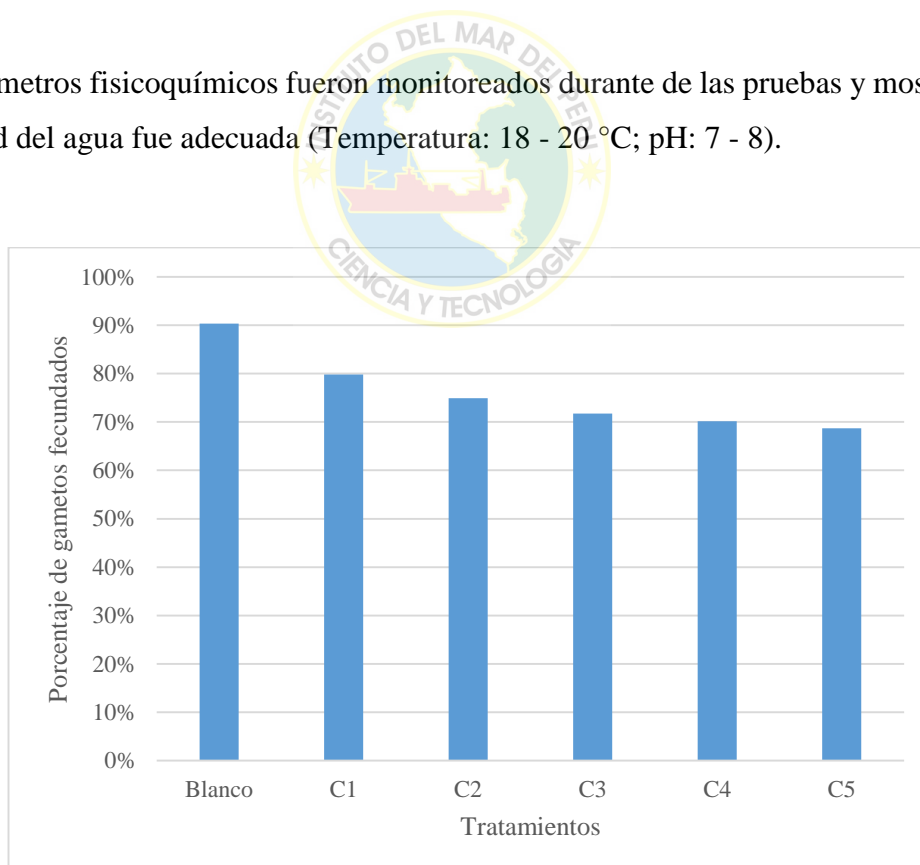


Figura 21: Porcentaje promedio de fecundación durante la prueba subletal de inhibición de fecundidad con el equinodermo marino *Tetrapygyus niger* expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; C1: 0,0002 g/L; C2: 0,002 g/L; C3: 0,02 g/L; C4: 0,2 g/L y C5: 2 g/L). *Sig. p<0,05

En el Cuadro 18 se muestran los resultados del análisis para la prueba con *T. niger* por el modelo Probit para inhibición de fecundación, en el cuál se estima el valor hipotético de CE₅₀ de 6 171,788 g/L. Este valor refleja que el sulfato de bario, bajo las condiciones de la prueba, no afecta a esta especie en esta etapa de desarrollo, considerándola según la normativa nacional (RD-127-97/DCG) para contaminantes en mar una sustancia “no peligrosa”. Sin embargo, hay que considerar lo expuesto por Carballeira et al. (2010), quienes mencionan que algunos contaminantes no afectan la formación de la membrana de fecundidad o la denominada zona pelúcida en erizos pero se registran efectos negativos en el desarrollo larval y puede producir malformaciones específicas. Por otro lado, Levitan et al. (1991) mostraron cómo el éxito de fecundación en otra especie de erizo (*Strongylocentrus franciscanus*) viene dado por la influencia relativa de la concentración de esperma, tiempo de contacto entre esperma y huevo y la edad del esperma. En el presente estudio no se apreciaron diferencias significativas en ninguno de los tratamientos respecto al blanco.

Cuadro 20: Concentración efectiva media (CE₅₀) del sulfato de bario sobre el equinodermo marino *Tetrapygyus niger*.

CE₅₀ (g/L)	6 171,788
Lim. inf. (g/L)	197,118
Lim. sup. (g/L)	9 153 565

4.6. PRUEBAS DE TOXICIDAD EN PECES

4.6.1. Pez marino *Odontesthes regia regia*

En este sentido, se realizaron pruebas con una especie de interés económico muy explotado en las costas marinas peruanas, el “pejerrey marino”. Se realizaron pruebas en los niveles primarios (alevines) de crecimiento de esta especie, por lo que se colectaron ovas y se lograron obtener larvas de peces sin saco vitelínico, proceso que se da al cuarto día de eclosionado.

En la Figura 22 se muestran el porcentaje promedio de supervivencia a las 24, 48, 72 y 96 horas de la prueba con *O. regia regia* expuesto a sulfato de bario y sus formas solubles. Se

observa, como casi todos los tratamientos disminuyen la supervivencia de *O. regia regia* hasta alcanzar valores cercanos al 94 % en el tratamiento más alto (2 g/L).

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante de las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 19,6 - 20 °C; pH: 8,12 - 8,17; OD: 7 – 7,12 mg/L; salinidad: 35 g/L).

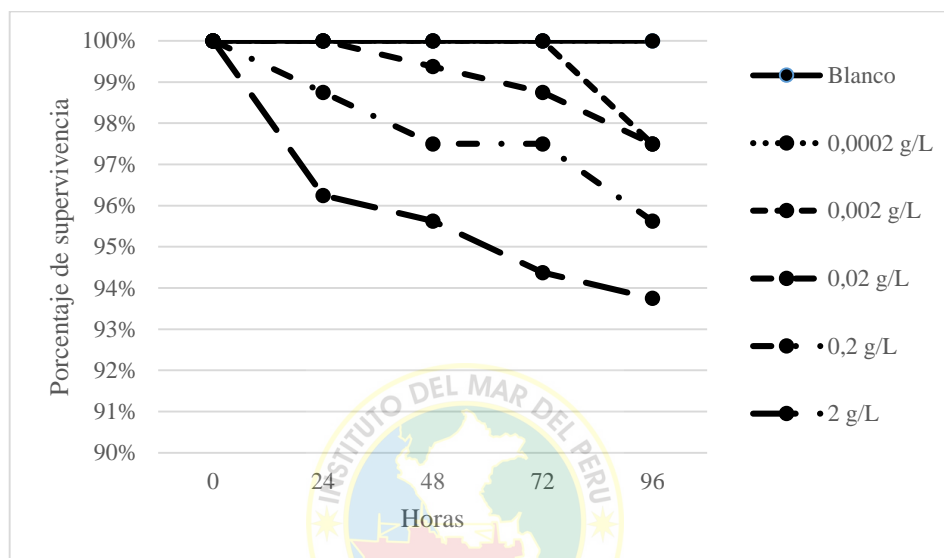


Figura 22: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el pez marino *Odontesthes regia regia* expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48, 72 y 96 horas.

En la Figura 23 se muestran los resultados del análisis para la prueba con *O. regia regia* por el modelo Probit para mortandad, en el cuál estima los valores de CL_{50} de $7,14 \times 10^6$ g/L a las 24 horas, $2,3 \times 10^4$ g/L a las 48 horas, $3,14 \times 10^3$ g/L a las 72 horas y $1,0 \times 10^{18}$ g/L a las 96 horas. Estos valores reflejan que el sulfato de bario no podría afectar a esta especie, bajo las condiciones de la prueba, ni tampoco considerando la solubilidad del compuesto, valor que impediría encontrar al bario en forma soluble, quedando confinado al fondo de un cuerpo de agua de mar. Sin embargo, se desconoce cómo afectaría el flujo de liberación de bario biogénico con participación de bacterias en los fondos marinos y sus efectos en las comunidades bentónicas que incluso podrían acarrearlo a otros niveles tróficos, siguiendo el proceso de biomagnificación.

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante de las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 19,2 - 19,4 °C; pH: 8,04 - 8,16; OD: 6,6 - 6,95 mg/L; salinidad: 35 - 36 g/L).

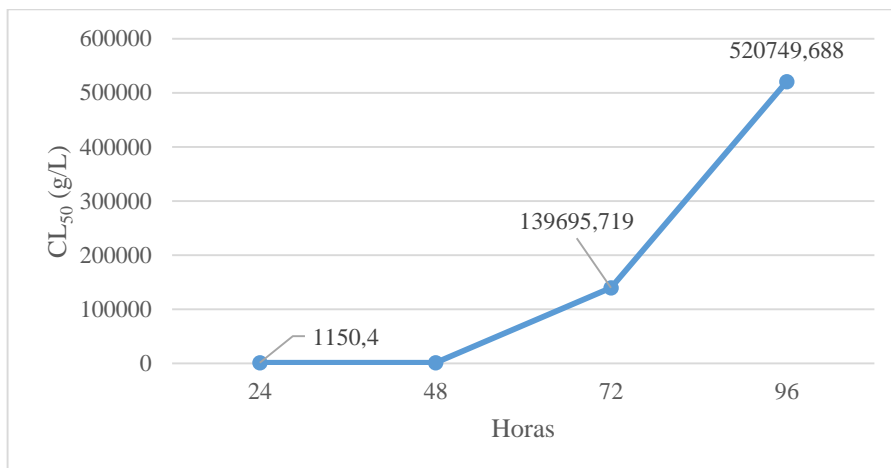


Figura 23: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto a las 24, 48, 72 y 96 horas durante la prueba de toxicidad con el pez marino *Odontesthes regia regia*.

En la Figura 24 se muestra el porcentaje promedio de supervivencia desde los 5 a los 21 días de la prueba con *O. regia regia* expuesta a sulfato de bario. Se observa, como casi todos los tratamientos disminuyen la supervivencia de *O. regia regia* hasta alcanzar valores por encima del 80 % de mortalidad.

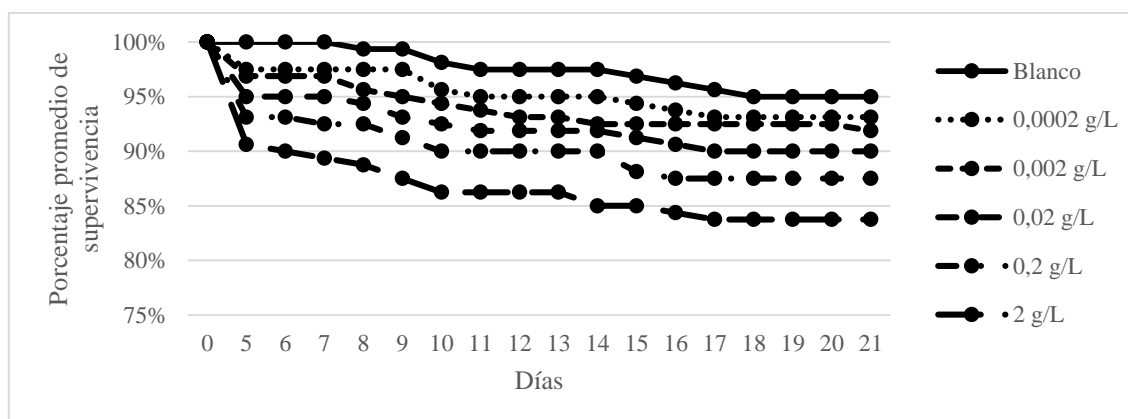


Figura 24: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el pez marino *Odontesthes regia regia* expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles desde los 5 a los 21 días.

En la Figura 25 se observa como al octavo día el valor estimado de la concentración letal media calculada muestra una variación para los datos de la prueba con *O. regia regia* generado por el valor extremadamente alto (hipotético) de 529 092 640 g/L. Cabe notar que debido a la escala inadecuada no se puede apreciar cambios en los demás valores. Para evitar esta falsa percepción en las Figuras 26 y 27 se ha partido la secuencia de efectos durante el periodo de estudio para su mejor interpretación.

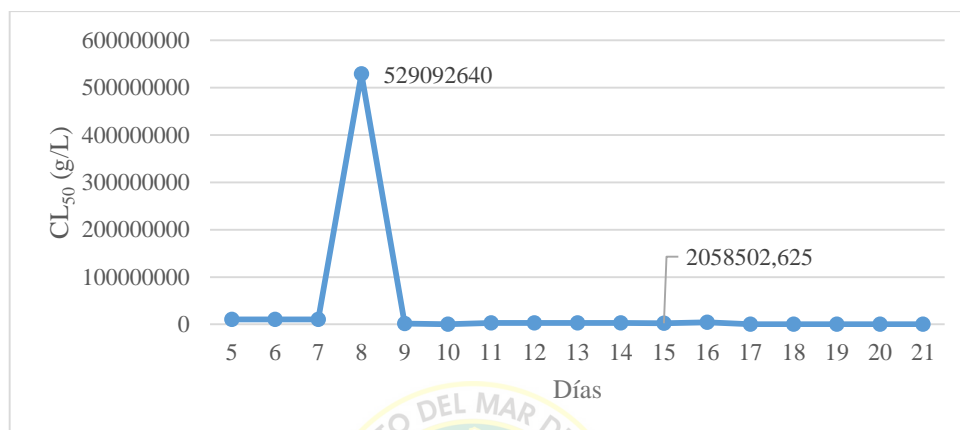


Figura 25: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto desde los 5 a los 21 días durante la prueba de toxicidad con el pez marino *Odontesthes regia regia*.

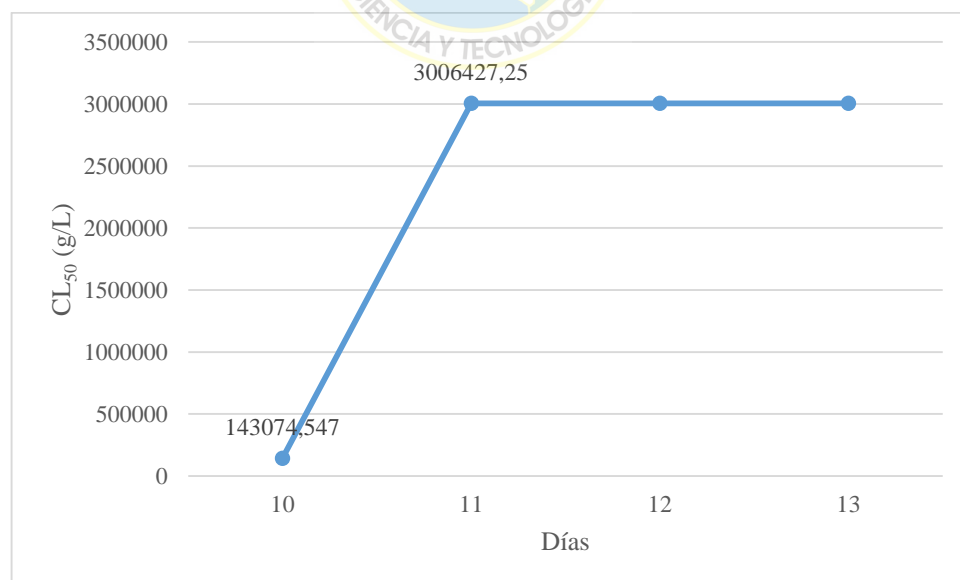


Figura 26: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto desde los 10 a los 13 días durante la prueba de toxicidad con el pez marino *Odontesthes regia regia*.

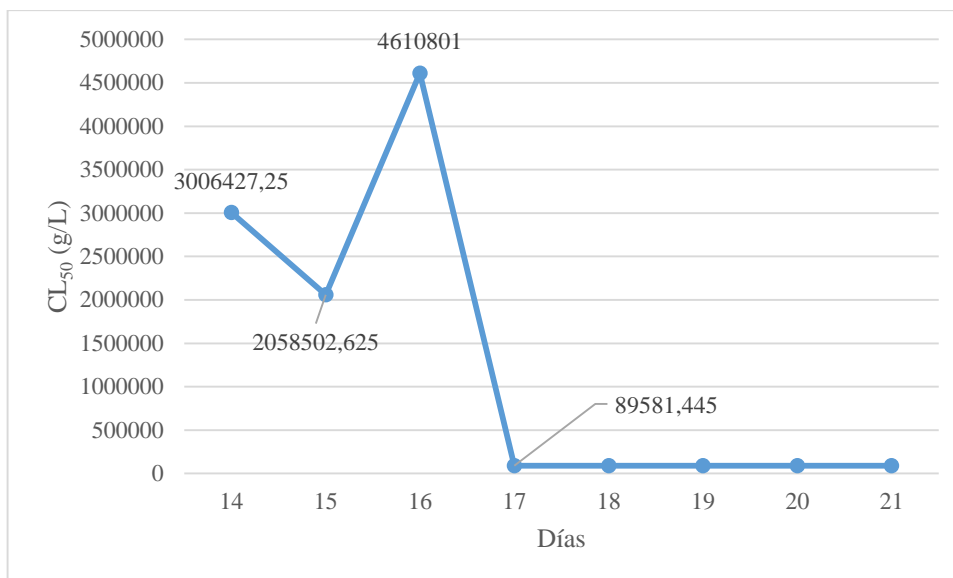


Figura 27: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto desde los 14 a los 21 días sobre el pez marino *Odontesthes regia regia*.

Sin embargo, en todos los casos, los valores siguieron siendo muy altos. Valores que resultan de una estimación estadística pero que en la naturaleza son improbables que se susciten naturalmente, como se mencionó líneas arriba.

Los valores obtenidos de la presente prueba reflejan que el sulfato de bario no afecta al menos a esta especie, bajo las condiciones de la prueba, considerándola según la normativa nacional (RD-127-97/DCG) para contaminantes en mar una sustancia “no peligrosa”.

4.6.2. Pez epicontinental *Poecilia reticulata*

En la Figura 28 se muestra el porcentaje promedio de supervivencia a las 24, 48, 72 y 96 horas de la prueba con *P. reticulata* expuesta a sulfato de bario y sus formas solubles. Se observa, como en casi todos los tratamientos disminuye la supervivencia de *P. reticulata* hasta alcanzar valores cercanos tan sólo al 40 % para el tratamiento más alto (2 g/L) excepto el blanco y los primeros tres tratamientos (0,0002 – 0,02 g/L).

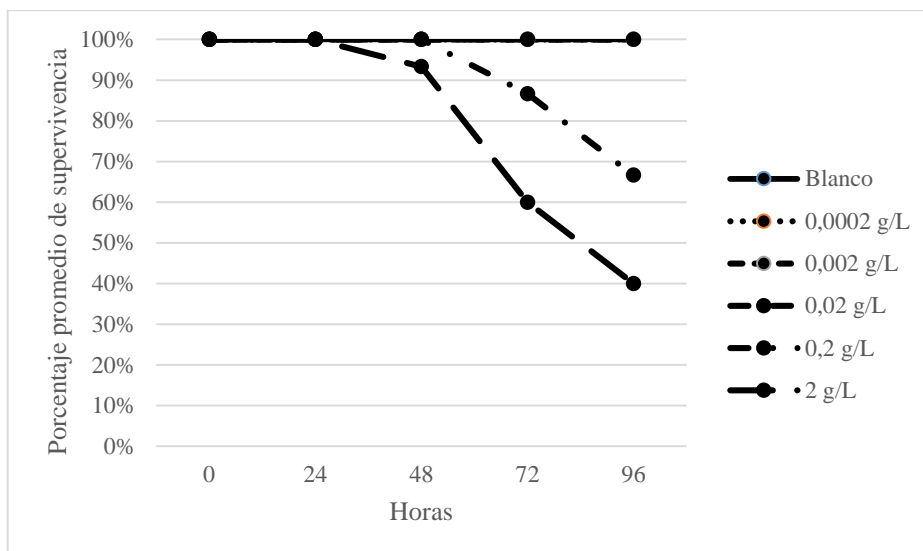
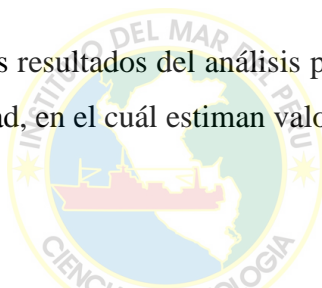


Figura 28: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental *Poecilia reticulata* expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48, 72 y 96 horas.

En la Figura 29 se muestran los resultados del análisis para la prueba con *P. reticulata* por el modelo Probit para mortandad, en el cuál estiman valores de CL_{50} de 3 g/L a las 72 horas y 0,887 g/L a las 96 horas.



Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante de las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 21,05 - 21,3 °C; pH: 7,8 - 8,05; Conductividad: 150 – 170 μ S/cm; sólidos disueltos totales: 205 – 235 mg/L).

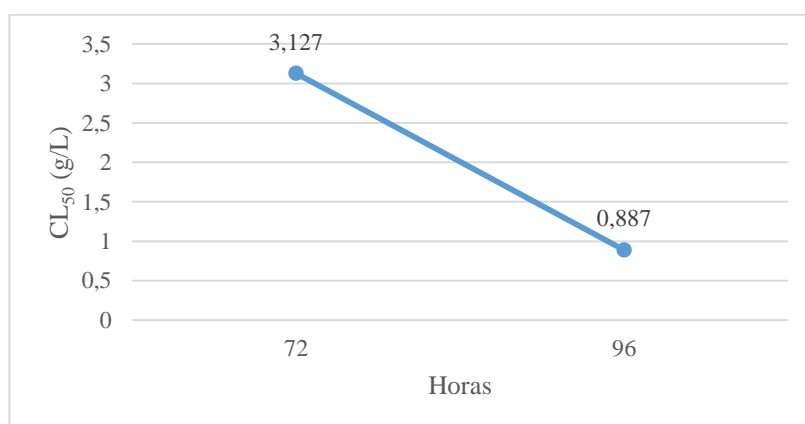


Figura 29: Concentración letal media (CL_{50}) del sulfato de bario expuesto a las 72 y 96 horas durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental *Poecilia reticulata*.

Se extendió la duración de esta prueba hasta los 28 días para conocer la curva de mortandad de esta especie frente al sulfato de bario.

En la Figura 30 se muestra el porcentaje promedio de supervivencia desde los 5 a los 28 días de la prueba con *P. reticulata* expuesta a sulfato de bario y sus formas solubles. Se observa, como en casi todos los tratamientos disminuye la supervivencia de *P. reticulata* hasta alcanzar valores cercanos al 20 % para el tratamiento más alto (2 g/L), excepto el blanco.

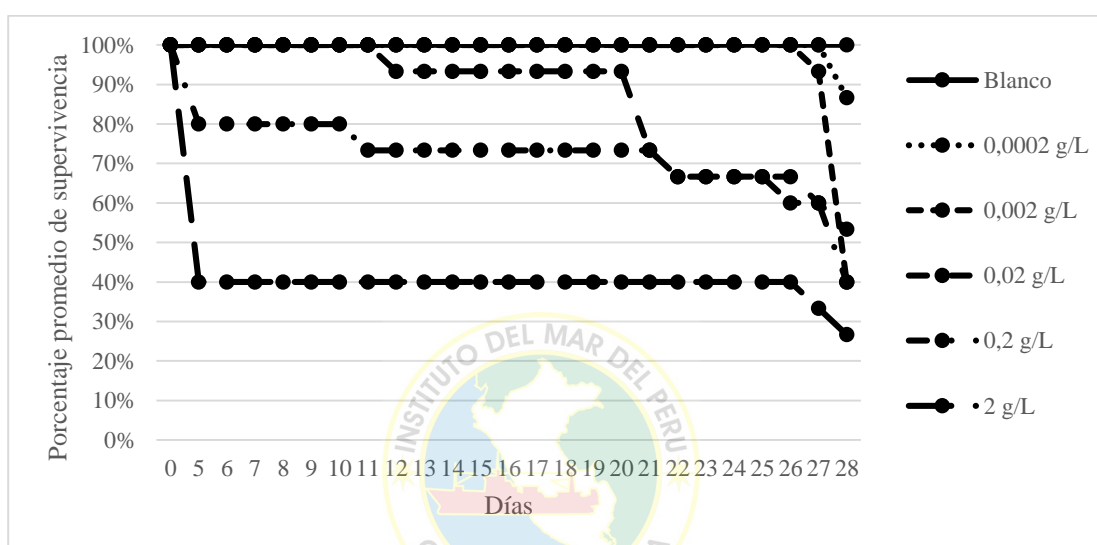


Figura 30: Porcentaje promedio de supervivencia de la prueba de toxicidad con el pez epicontinental *Poecilia reticulata* expuesta a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles desde los 5 a los 28 días.

Además, en la prueba con *P. reticulata* se aprecia en la Figura 31, que no hay efectos del sulfato de bario y sus formas solubles, bajo las condiciones de la prueba, sobre el crecimiento para los tratamientos ensayados.

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante de las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 20,6 - 21,1 °C; pH: 7,55 - 7,75; Conductividad: 175 - 195 μ S/cm; sólidos disueltos totales: 255 - 285 mg/L).

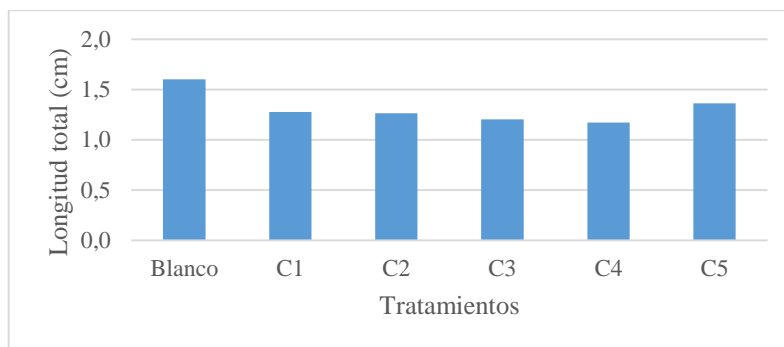


Figura 31: Crecimiento (cm) promedio durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental *Poecilia reticulata* de los 5 a los 28 días expuesto a diferentes tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles. (Blanco; C1: 0,0002 g/L; C2: 0,002 g/L; C3: 0,02 g/L; C4: 0,2 g/L y C5: 2 g/L). *Sig. $p < 0,05$.

En la Figura 32 se muestra como al 11avo. día la concentración letal media sufre una disminución para *P. reticulata* desde valores cercanos a 1 g/L, donde se mantiene hasta el 21avo. día; luego se mantiene a valores cercanos a 0,6 g/L hasta el 25avo. día, donde finalmente, se reduce a valores menores a 0,6 g/L hasta el 28avo. día ensayado se estiman valores de 0,018 g/L donde se encuentra también sólo al sulfato de bario, debido a su baja solubilidad muy por debajo de este valor (0,002448 g/L). El nivel de toxicidad que a pesar de ello sigue incrementándose en el tiempo. Se presume que el efecto crónico de las partículas en suspensión podrían estar influyendo la reducción de áreas de intercambio gaseoso en las agallas del pez, o ingresando vía digestiva permitiendo la solubilización del bario en el organismo, por los niveles de pH bajo que estaría permitiendo la toxicidad del bario en su fisiología, mecanismos que no han evaluados en este estudio.

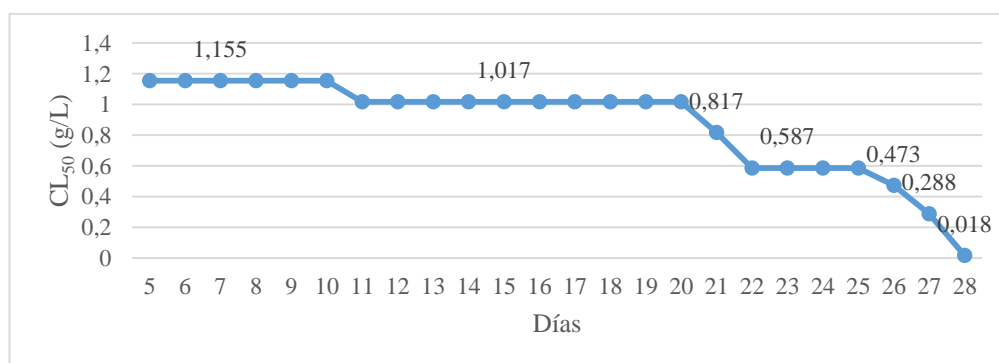


Figura 32: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario y sus formas solubles expuesto desde los 5 a los 28 días durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental *Poecilia reticulata*.

4.6.3. Pez epicontinental *Paracheirodon innesi*

En la Figura 33 se muestran el porcentaje promedio de supervivencia a las 24, 48 y 96 horas de la prueba con *P. innesi* expuesto a sulfato de bario y sus formas solubles. Se observa, como tan sólo en el tratamiento más alto (2 g/L) se alcanzaron valores de 80 % de mortandad. El penúltimo tratamiento (0,2 g/L) alcanzó valores aceptables cercanos al 90 % de supervivencia (10 % de mortandad).

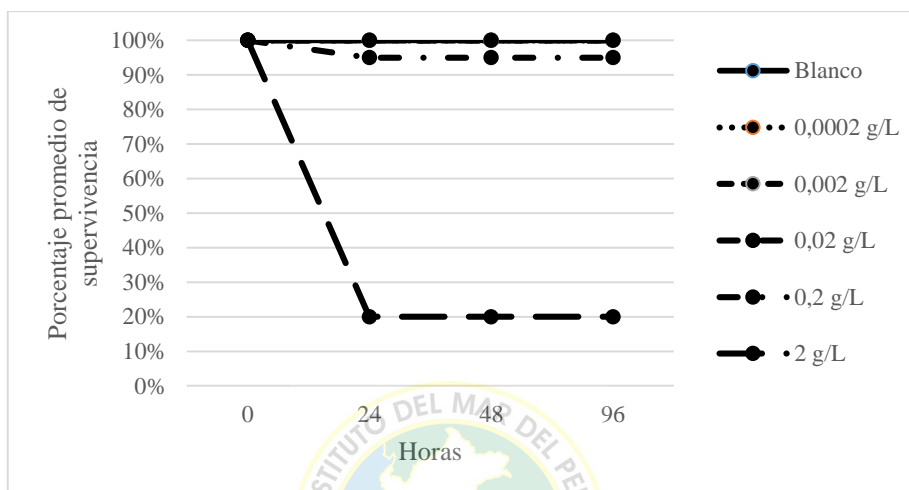


Figura 33: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental *Paracheirodon innesi* a las 24, 48 y 96 horas expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.

En la Figura 34 se muestran los resultados del análisis para la prueba con *P. innesi* expuesto a sulfato de bario por el modelo Probit para mortandad, en el cuál muestra valores de CL_{50} de 0,917 g/L desde las 24 horas a las 96 horas.

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 19,2 - 19,4 °C; pH: 8,1 - 8,2; Conductividad: 132 - 138 μ S/cm; sólidos disueltos totales: 214 - 219 mg/L).

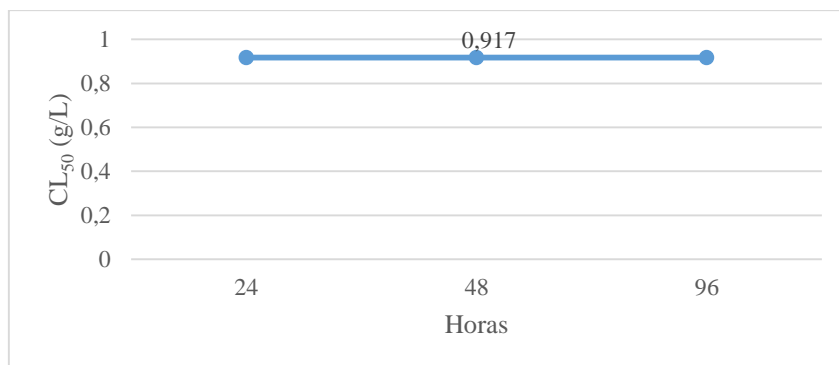


Figura 34: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto a las 24, 48 y 96 horas durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental *Paracheirodon innesi*.

Se realizaron también evaluaciones extendidas hasta los 14 días con sulfato de bario y sus formas solubles. En la Figura 35 se muestra el porcentaje promedio de supervivencia a los 6, 10, 12 y 14 días de la prueba con *P. innesi* expuesto a sulfato de bario. Se observa, como los cuatro primeros tratamientos disminuyen o mantiene la supervivencia de *P. innesi* hasta alcanzar valores cercanos al 60 % en el tratamiento más alto (0,2 g/L), excepto el blanco y el primer tratamiento que mantiene valores de supervivencia al 100 %. A diferencia del último tratamiento (2 g/L) que reduce a 10 % el porcentaje de supervivencia al sexto día y que a partir del día 10 al día 16 con 100 % de mortandad, efecto atribuido probablemente al efecto físico de las partículas en suspensión del sulfato de bario, quienes reducían el intercambio gaseoso en agallas, como lo demuestran Strachan et al (2012) aunque en bivalvos pero que emplean branquias también en su fisiología de intercambio gaseoso

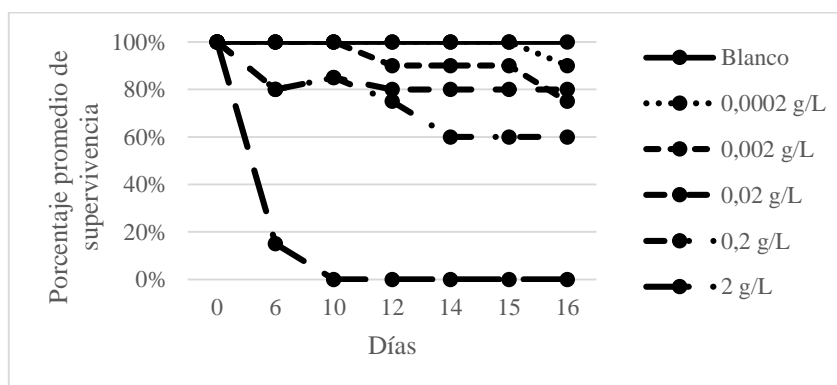


Figura 35: Porcentaje promedio de supervivencia durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental *Paracheirodon innesi* a los 6, 10, 12, 14, 15 y 16 días expuesto a distintos tratamientos de sulfato de bario y sus formas solubles.

En la Figura 36 se muestra como a partir del sexto día la concentración letal media sufre una disminución para *P. innesi* desde valores cercanos a 0,6 g/L a valores alrededor de 0,1 g/L, al 14avo. día. Valores que indican sólo la presencia del sulfato de bario y no de bario soluble. Pruebas ecotoxicológicas en otras especies de peces expuestas a bario realizadas por Heitmuller et al. (1981) reportaron una NOEC en *Cyprinodon variegatus* (Chordata: Cyprinodontidae) de 500 mg/L.

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados durante las pruebas y mostraron que la calidad del agua fue adecuada (Temperatura: 18,0 – 19,5 °C; pH: 8,0 - 8,5; Conductividad: 120 – 150 µS/cm; sólidos disueltos totales: 210 – 235 mg/L).

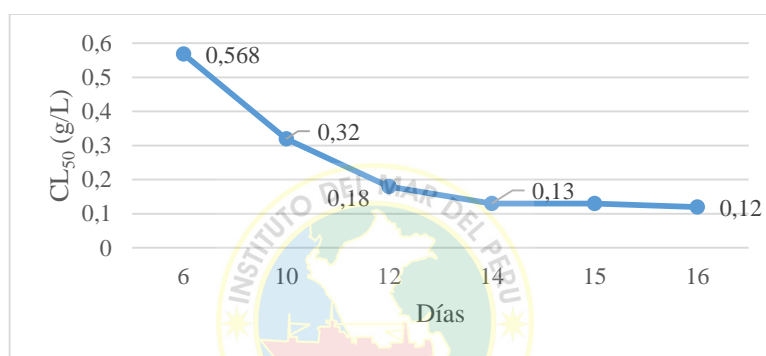


Figura 36: Concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de bario expuesto a los 6, 10, 12 y 14 días durante la prueba de toxicidad con el pez epicontinental *Paracheiroidon innesi*.

4.7. EVALUACIÓN DE RIESGO ECOLÓGICO

Con los resultados obtenidos en las distintas pruebas ecotoxicológicas, y a fin de unificar los criterios, a continuación se resumen los valores mediante la aplicación de las recomendaciones de la USEPA con el empleo de factores de conversión y teniendo en cuenta los estudios a la fecha registrados sobre el efecto del sulfato de bario y sus formas solubles sobre los organismos y ecosistemas de potencial riesgo, muy asociados a la actividad hidrocarburífera.

La concentración que no causa efecto (NEC) se obtuvo con el valor de la menor toxicidad aguda (CE₅₀ o CL₅₀) de las pruebas ecotoxicológicas llevadas a cabo, por lo cual se

seleccionó el valor del tratamiento 1 de 0,0002 g/L, el cual estaría formada por una solución de iones sulfato y bario. Este dato se seleccionó de los bioensayos a los 10 días con *Zea mays* ($CE_{50} = 0,0011$ g/L). En este caso, el valor de la NEC se dividió por el factor de seguridad 10, obteniéndose un valor de 0,00002 g/L de bario, que a fin de emplear unidades de suelo, serán el mismo valor de 0,00002 g de sulfato de bario por kilogramo de suelo (0,02 mg/kg), ya que no hubo drenaje en el sistema y además se emplearon unidades de prueba que contenían 1 kg de suelo artificial. Finalmente, para determinar el RQ, se empleó el valor máximo (750 mg/kg) del estándar nacional de contenido de bario total de bario en suelo de tipo agrícola (DS 002-2013-MINAM), obteniéndose un valor de RQ de 37 500, lo que indica que existe riesgo ecológico alto para el bario a partir del sulfato de bario.

Es decir, teniendo como premisa los posibles valores de la CEE y considerando las NOEC para medios terrestres y acuáticos, se establece un nivel de alto riesgo ecológico para los ecosistemas expuestos a bario a partir del uso de sulfato de bario.

Por otro lado, si se asume que los valores de la NOEC de todas las pruebas donde sólo se halla el sulfato de bario en su forma insoluble, se tiene que el valor alcanzado por la *Chlorella* sp. a las 96 h con una CE_{50} de 0,1 g/L y una NOEC de 0,02 g/L. Teniendo en consideración el valor de la CEE al valor extremo de su propia solubilidad en un medio acuático a 25°C de 0,002448 g/L, se obtiene un valor de una NEC de 0,002 g/L, y por lo tanto, un RQ de sulfato de bario de 1,224, lo que indicaría también riesgo ecológico alto para el ecosistema frente al sulfato de bario.

Esto demuestra que tanto para el bario a partir del sulfato de bario, como para el sulfato de bario, propiamente dicho, existe un claro riesgo ecológico en los ecosistemas relacionados a la eliminación de este compuesto en los ecosistemas naturales.

El cálculo del RQ puede ser aplicado en investigaciones *in situ*, cambiando las concentraciones ambientales de exposición esperadas por valores reales en zonas de explotación y uso de sulfato de bario y de sus formas solubles en los distintos ecosistemas acuáticos marinos y epicontinentales así como terrestres, obteniendo valores de referencia que muestren el riesgo del uso del sulfato de bario en dichos ecosistemas. A continuación se

muestran los cálculos por grupos principales de organismos ensayados, en el presente estudio. En el Cuadro 21, se presentan los valores estimados de la NOEC y los valores de la CL₅₀, la CE₅₀ y/o la CI₅₀ registrados en las distintas pruebas agudas y subletales.

Cuadro 21: CE₅₀/CL₅₀/CI₅₀, NOEC obtenidos de las pruebas ecotoxicológicas con sulfato de bario y sus formas solubles

Taxa	Medio	Periodo	CE ₅₀ /CL ₅₀ /CI ₅₀ (g/L)	NOEC (g/L)
<i>Chlorella</i> sp.	Continental	96 h	0,1*	0,02
<i>Isochrysis</i> sp.	Marino	96 h	0,8*	0,2
<i>M. sativa</i>	Continental	24 h	420,4*	> 2
		10 d	0,67*	0,2
<i>Z. mays</i>	Continental	24 h	0,044*	0,02
		10 d	0,0011**	0,0002
<i>Daphnia</i> sp.	Continental	24 h	26 606,59*	> 2
		48 h	1,284*	0,2
<i>E. analoga</i>	Marino	24 h	36,867*	> 2
		48 h	15,72*	> 2
		96 h	1,049*	0,2
		7 d	2,045*	> 2
		14 d	3,774*	> 2
		20 d	1,739*	0,2
		30 d	1,035*	0,2
34 d	0,752*	0,2		
<i>Apohyale</i> sp.	Marino	10 d	18,753*	> 2
<i>C. calligraphus</i>	Continental	4 d	72,82*	> 2
		10 d	7,502*	> 2
<i>T. niger</i>	Marino	< 2 h	6 171,8*	> 2
<i>O. regia regia</i>	Marino	24 h	1 150,4*	> 2
		72 h	139 695,7*	> 2
		96 h	520 749,688*	> 2
		5 d	10 182 490*	> 2
		8 d	529 092 640*	> 2
		10 d	143 074,547*	> 2
		11 d	3 006 427,25*	> 2

Continuación...

		15 d	2 058 502,625*	> 2
		16 d	4 610 801*	> 2
		17 d	89 581,445*	> 2
<i>P. reticulata</i>	Continental	72 h	3,127*	> 2
		96 h	0,887*	0,2
		5 d	1,155*	0,2
		21 d	0,817*	0,2
		27 d	0,288*	0,2
		28 d	0,018*	0,002
<i>P. innesi</i>	Continental	24 h	0,917*	0,2
		6 d	0,568*	0,2
		10 d	0,32*	0,2

* Sulfato de bario, forma insoluble, **Iones bario y sulfato, formas solubles.

FUENTE: Elaboración propia.

A pesar de la aparente estabilidad del sulfato de bario en el medio ambiente, especialmente relacionado a las actividades hidrocarburíferas, y según lo refrendado por la USEPA y sus resultados (atóxico) sobre su aparente inocuidad, debe considerarse el transporte o dinámica a la que pudiera estar afecto el sulfato de bario.

El comportamiento de este compuesto en condiciones anóxicas comunes en los fondos oceánicos (Zona del Mínimo Oxígeno - ZMO), especialmente del mar peruano, donde se estaría permitiendo su solubilidad en bario y sulfatos por acción principalmente bacteriana, podrían estar afectando a organismos bentónicos que acumularían cantidades importantes de bario a partir de sulfato de bario.

Así mismo, en ambientes continentales, donde las plantas terrestres y otros invertebrados pueden adquirir el bario a partir de sulfato de bario ocasionando daño a nivel celular e inclusive llegar por biomagnificación a otros niveles tróficos superiores.

Rocha et al. (2011) mencionan que la toxicidad de las sustancias en los organismos acuáticos podría estar relacionados a las propiedades del suelo (pH, materia orgánica y óxido-reducción) y la reactividad de los elementos tóxicos potenciales en suelos.

Los resultados de este estudio y su metodología pueden ser ajustados con valores de concentraciones de exposición reales tanto de sulfato de bario como de sus formas solubles y que pueden medirse en campo, en caso de ser aplicado a un área específica.

El Perú, posee una tendencia al desarrollo y explotación de la industria hidrocarburífera como lo demuestra la distribución de áreas (lotes) de explotación en la Amazonía, así como en las zonas marino costeras norteñas, ambas con importantes niveles de biodiversidad a nivel mundial, por lo que se recomienda la implementación de medidas protectivas y normativa más específica para el control y vigilancia de estos ecosistemas frente al empleo del sulfato de bario y sus efectos, a fin de proteger sus recursos naturales.

Es pertinente revisar, el Reglamento para la Protección Ambiental en las Actividades de Hidrocarburos (DS. 015-2006-EM) que en su artículo 73, permite que los lodos con base acuosa y las partículas contenidas en ellos, las que incluyen al sulfato de bario, puedan ser descargados sin tratamiento por debajo de los 10 m de la superficie del mar o lago. Se desconoce cómo esas acumulaciones de sulfato de bario o sus formas solubles puedan estar afectando las comunidades bentónicas

Este estudio recaba información importante sobre los efectos que pueda estar causando el sulfato de bario y sus formas solubles en los organismos que circundan los ecosistemas donde se realizan actividades hidrocarburíferas. Los resultados de este estudio ofrecen información importante para implementar la normativa nacional, regional e internacional en el sector hidrocarburos sobre las actividades de exploración y explotación; así como, esclarecer los posibles efectos que este compuesto pudiera estar ocasionando a los organismos relacionados a los ecosistemas marinos y epicontinentales en donde se vienen desarrollando estas actividades hidrocarburíferas.

A través del presente estudio se plantea el empleo de una herramienta ecológica que podrá ser aplicada y ampliada para la implementación de regulaciones de los niveles de sulfato de bario asociado a las actividades hidrocarburíferas e incluso servir de modelo para su aplicación con otras sustancias que puedan estar ocasionando riesgos ecológicos en otros ecosistemas naturales donde se realizan actividades económicas que puedan afectar los ecosistemas naturales en el Perú.

V. CONCLUSIONES

1. Existe riesgo ecológico alto del sulfato de bario y sus formas solubles empleando la respuesta ecotoxicológica de doce organismos no destinatarios, obteniéndose los valores de RQ de 1,224 y 37 500, respectivamente.
2. La microalga epicontinental *Chlorella* sp. (96 h) registró una CI_{50} de 0,1 g/L y una NOEC de 0,02 g/L de sulfato de bario, bajo las condiciones de la prueba, que fueron detectados como los valores más bajos, y que fueron considerados para el cálculo del RQ del sulfato de bario.
3. La planta terrestre monocotiledónea *Zea mays* registró una CE_{50} de 0,0011 g/L y una NOEC de 0,0002 g/L de bario que fueron detectados como los valores más bajos de todas las pruebas ecotoxicológicas, bajo las condiciones de la prueba, y que fueron considerados para el cálculo del RQ del bario para ecosistemas terrestres.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar pruebas ecotoxicológicas en mesocosmos, en zonas de impacto con sulfato de bario, a fin de comparar los resultados en microcosmos (laboratorio) del presente estudio.
2. Ampliar estudios ecotoxicológicos con plantas del grupo de las poáceas y otras leguminosas, a fin de conocer mecanismos de amarillamiento en hojas y efectos en los nódulos de éstas últimas en la translocación de bario desde el sulfato de bario.
3. Ampliar estudios en peces del grupo bentónico a fin de conocer los efectos de ingesta del sulfato de bario en estos organismos.
4. Realizar pruebas ecotoxicológicas también con bivalvos para conocer el efecto del sulfato de bario en ctenidias y procesos de reducción de tasas de filtración.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIE (Agencia Internacional de Energía, US). Consultado 7 oct. 2015. Disponible en <http://www.preciopetroleo.net/aie-agencia-internacional-de-la-energia.html>
- Albert, LA. 1997. Introducción a la Toxicología Ambiental. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. División de Salud y Ambiente. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud. México. pp. 108.
- Alvitres, V; Chanamé, J; Fupuy, J; Chambergo, A; Cortez, M. 1999. Cambios en la prevalencia de los helmintos parásitos de *Emerita analoga* por efecto de “El Niño 1997-97”. Rev. per. Biol. Vol. Extraordinario.: 69-76.
- Andreotti, C; Gagneten, AM. 2006. Efectos Ecotoxicológicos del sedimento del río Salado (Argentina) en la supervivencia y reproducción de *Moina micrura* (Crustacea, Cladocera). Rev. Toxicol. (2006) 23: 146-150.
- Antezana, CR. 2008. La química y los hidrocarburos. In Revista de la Sociedad Nacional de Minería, Petróleo y Energía. Núm. 64, Septiembre 2008. 84 p.
- Aparecido, MA; Aragão, UG; De Figueiredo, JW. 2006. Métodos de coleta, análises físico-químicas e ensayos biológicos e ecotoxicológicos de sedimentos de água doce. Editora Cubo. Brazil. 222 p.
- APHA (American Public Health Association, US). 1998, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed., American Public Health Association, Washington, D.C.
- Aranda, AD; Suarez, P. 1998. Overview of diets used in larviculture of three Caribbean conchs: Queen conch *Strombus gigas*, Milk conch *Strombus costatus* and fighting conch *Strombus pugilis*. Aquaculture. 167: 163-178.
- Arévalo, V; Inda, F; Bay-Schmith, E; Larraín, A. 2001. Bioensayo de Fertilización con Erizo de Mar (*Arbacia spatuligera*) para Fiscalizar la Maniobra de Recambio de Lastre Limpio en los Buques. Cienc. Tecnol. Mar, 24: 61-69, 2001.

- ASTDR (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, US). Consultado 7 oct. 2015. Disponible en http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs24.html
- Balón, EK. 2004. About the oldest domesticates among fishes. *Journal of fish Biology* 65: 1s1-27s1.
- Barlow, MJ; Kingston, PF. 2001. Observations on the Effects of Barite on the Gill Tissues of the Suspension Feeder *Cerastoderma edule* (Linné) and the Deposit Feeder *Macoma balthica* (Linné). *Marine Pollution Bulletin*, Volume 42, Issue 1, January 2001, Pages 71-76.
- Bartell, SM; Gardner, RH; O'Neill, RV. 1992. *Ecological Risk Estimation*, Lewis Publishers, Boca Raton.
- Bellan-Santini, D. 1980. Relationship between populations of amphipods and pollution. *Mar. Pollut. Bull.* 11, 224-27.
- Bellas, J; Beiras, R; Marino-Balsa, M; Fernández, N. 2005. Toxicity of organic compounds to marine invertebrate embryos and larvae: a comparison between the sea urchin embryogenesis bioassay and alternative test species. *Ecotoxicol.* 14:337-353.
- Beyer, J; Morten, S; Ketil, H; Fjeld, E; Egaas, E; Aas, E; Utne, J; Goksyr, A. 1996. Contaminant accumulation and biomarkers responses in flounder (*Platichthys flesus*) and Atlantic cod (*Gadus mohua*) exposed by caging to polluted sediment in Sorsjorden, Norway. *Aquat Toxicol*, 36: 75-98.
- Biesinger, K; Williams L; Van der Schalie, J. 1987. Procedures for conducting *Daphnia magna* toxicity bioassays. EPA/600/8 - 87/011. Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, OH. 57 pp.
- Bjørnstad, E; Petersen, GI; Robson, M; Reiersen, LO; Henriquez, L; Massie, L; Blackman, R. 1993. Paris Commission ring test: testing of offshore chemicals and drilling mud on selected marine organisms. *The Science of the total Environment*, Supplement, 713-19.
- Bishop, JKB. 1988. The barite-opal-organic carbon association in oceanic particulate matter: *Nature*, V 332, p.341-343.
- Bligh, PH. 1960. Metabolism of barium in the rat and man. PhD thesis, London University. Thesis DX203366, British Thesis Service, British Library.

- Bolze, CE; Malone, PG; Smith, MJ. 1974. Microbial mobilization of barite. *Chemical Geology*, 13 (1974) 141 -143.
- Brannon, AC; Ranga, RK. 1979. Barium, strontium and calcium levels in the exoskeleton, hepatopáncreas and abdominal muscle of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*: Relation to molting and exposure to barite. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, Volume 63, Issue 2, 1979, Pages 261-274 Received 16 August 1978.
- Bretz, CK; Manouki, TJ; Kvitek, RG. 2002. *Emerita analoga* Stimpson as an indicator species for paralytic shellfish poisoning toxicity along the California Coast. *Toxicon*. 40: 1189-1196.
- Brosnan, SF; Earley, RL; Dugatkin, LA. 2003. Observational learning and predator inspection in guppies (*Poecilia reticulata*). *Ethology* 109: 823-833.
- Browne, KA; Tamburri, MN; Zimmer-Faust, RK. 1998. Modelling quantitative structure-activity relationships between animal behavior and environmental signal molecule. *The Journal of Experimental Biology*. 201: 245-258.
- Brumsack, JH; Gieskes, MJ. 1983. Interstitial Water Trace-Metal Chemistry of Laminated Sediments from the Gulf of California, Mexico. *Marine Chemistry*, 14 (1983) 89 – 106.
- Burnett, R. 1971. DDT residues: Distribution of concentration in *Emerita analoga* (Stimpson) along the coastal California. *Science* 174: 606-608.
- Butler, GC. 1978. *Principles of Ecotoxicology*, SCOPE 12, John Wiley and Sons, New York.
- Caeiro, S; Costa, MH; DelValls, A; Repolho, T; Goncalves, M; Mosca, A; Coimbra, AP; Ramos, TB; Painho, M. 2009. Ecological risk assessment of sediment management areas: application to Sado Estuary, Portugal. *Ecotoxicology* DOI 10.1007/s10646-009.0372-8.
- Canadian Council of Ministers of the Environment. 2007. Canadian Environmental Quality Guidelines, September 2007. Consultado 07 oct. 2015. Disponible en http://www.esdat.net/Environmental%20Standards/Canada/SOIL/rev_soil_summary_tbl_7.0_e.pdf

- Cantelmo, FR; Tagatz, ME; Ranga, RK. 1979. Effect of barite on meiofauna in a flow-through experimental system. *Marine Environmental Research*, Volume 2, Issue 4, October 1979, Pages 301-309.
- Carr, RS; Biedenbach, JM; Nipper, M. 2006. Influence of Potentially Confounding Factors on Sea Urchin Porewater Toxicity Tests. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 51, 573–579 (2006).
- Casado-Martínez, MC; Beiras, R; Belzunce, MJ; González-Castromil, MA; Marín-Guirao, L; Postma, JF; Riba, I; Del Valls, TA. 2006. Ejercicio interlaboratorio de bioensayos marinos para la evaluación de la calidad ambiental de sedimentos costeros. IV. Ensayo de toxicidad sobre sedimento con crustáceos anfípodos. *Ciencias Marinas* (2006), 32(1B): 149–157.
- Casado-Martínez, MC; Blasco, J; Gonzáles-Castromil, MA; Riba, I; Del Valls, TA. 2006. Ejercicio interlaboratorio de bioensayo para la evaluación de la calidad ambiental de sedimentos costeros. V Ensayo de toxicidad sobre sedimento con juveniles del bivalvo *Ruditapes philippinarum*. *Ciencias Marinas* (2206), 32 (1B): 159-166.
- Casado-Martínez, MC; Fernández, N; Lloret, J; Marín, A; Martínez-Gómez, C; Riba, I; Beiras, R; Saco-Álvarez, L; Del Valls, TA. 2006. Ejercicio interlaboratorio con bioensayos marinos para la evaluación de la calidad ambiental de sedimentos costeros. III. Bioensayo con embriones del erizo de mar *Paracentrotus lividus*. *Ciencias Marinas* (2006), 32(1B): 139–147.
- Castillo, MG. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Instituto Mexicano de Tecnología del agua. México. 189 p.
- CCMA (Canadian Council of Ministers of the Environment). 2004. Environmental Quality Standards.
- CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamiento Ambiental, BR), 1991, Agua-Teste de Toxicidade com *D. similis* Clauss 1876 (Cladocera, Crustacea), Metodo de essaio, L5.018, agosto, 1991, CETESB.
- Chapman, PM; Swartz, RC; Roddie, B; Phelps, HL; van den Hurk, P; Butler, R. 1992. An international comparison of sediment toxicity tests in the North Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser* 91, 253-64.

- Cheng, S; Ford, T. 2009. Special issue on source water risk control. *Ecotoxicology* (2009) 18: 643-646.
- Cifuentes, AS; Silva, J; Bay-Schmith, E; Larrain, A. 1998. Selección de cepas de microalgas para ser utilizadas en bioensayos de toxicidad. *Rev. Gayana Oceanol.* 6: 1-9.
- Claval, JP; Lorillot, ML; Buthiau, D. 1987. Absorption intestinale du baryum lors d'explorations radiologiques. *Therapie* 42:239-243.
- Coayla, P; Valdivia, J; Vizcarra, A. 1991. Contribución al conocimiento de la reproducción del pejerrey *Odontesthes regia regia*, en el sur del Perú. Resúmenes del III Seminario Latinoamericano de Pesca Artesanal y III Reunión de Desarrollo Costero Integrado. (1991, Lima, PE). 67 p.
- Contreras, H; Jaramillo, E; Quijón, P. 2000. Natural history of *Emerita analoga* (Stimpson) (Anomura, Hippidae) in a sandy beach of northern Chile. *Rev. Chil. Hist. nat.* 73: 705-715.
- Corradi, MG; Gorbi, G. 1993. Chromium toxicity on two linked trophic levels. II. Morphophysiological effects on *Scenedesmus acutus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 25: 72-78.
- Costa, MH. 2009. Environment and human health issues. *Ecotoxicology*. DOI 10.1007/s10646-009-0388-0.
- Coteur, G; Gosselin, P; Wantier, P; Chambost-Manciet, Y; Danis, B; Pernet, P. 2003. Echinoderms as bioindicators, bioassays, and impact assessment tools of sediment-associated metals and PCBs in the North Sea. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 45:190-202.
- Croft, DP; Albanese, B; Arrowsmith, BJ; Botham, M; Webster, M; Krause, J. 2003. Sex-biased movement in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Ecology* 137: 62-68.
- Dallas, EC; Williams, LP. 2001. Barium: Rationale For A New Oral Reference Dose, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews*, 4:4, 395-429, DOI: 10.1080/109374001753146216
- Day, KE; Ongley, ED; Scroggins, RP; Eisenhauer, RP. 1988. "Biology in the New Regulatory Framework for Aquatic Protection", Proceedings for the Alliston Workshop, National Water Research Institute (Burlington, Ontario) and Environment Canada (Ottawa).

- De Backer, A; Adam, S; Monbaliu, J; Toorman, E; Vincx, M; Degarer, S. 2009. Remote sensing of biologically reworked sediments: A laboratory experiment. *Estuaries and Coasts*. DOI 10.1007/s12237-009-9204-6.
- De Jesús-Navarrete, A. 1993. Concentración de hidrocarburos totales en los sedimentos de la Sonda de Campeche, México. *Caribbean Journal of Science*. Vol. 29, N° 1-2, 99-105.
- De Nicola, E; Gallo, M; Iaccarino, M; Meric, S; Oral, R; Russo, T. 2004. Hormetic versus toxic effects of vegetable tannin in a multitest study. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46:336-344.
- Decreto Supremo N° 032-2004-EM. Reglamento de las Actividades de Exploración y Explotación de Hidrocarburos. *Diario Oficial El Peruano*. Normas legales. Lima, 21 de agosto de 2004.
- Decreto Supremo N° 015-2006-EM. Reglamento para la Protección Ambiental en las Actividades de Hidrocarburos. *Diario Oficial El Peruano*. Normas legales. Lima, 5 de marzo de 2006.
- Decreto Supremo N° 033-2007-PCM. Aprueban el Procedimiento para la aprobación de los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) y Límites Máximos Permisibles (LMP) de Contaminación Ambiental. *Diario Oficial El Peruano*. Normas legales. Lima, 5 de abril de 2007.
- Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM. Aprueban Estándares de Calidad Ambiental para Agua. *Diario Oficial El Peruano*. Normas legales. Lima, 31 de julio de 2008.
- Decreto Supremo N° 002-2013-MINAM. Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo. *Diario Oficial El Peruano*. Normas legales. Lima, 25 de marzo de 2013
- DGAA (Dirección General de Asuntos Ambientales, PE). 1997. Guía Ambiental para la Disposición de los Desechos de Perforación en la Actividad Petrolera.
- Dehairs, F; Chesselet, R; Jedwab, J. 1980. Discrete suspended particles of barite and the barium cycle in the open ocean: *Earth and Planetary Science Letters*, V 49, p. 528. 550.

- DelValls, TA; Forja, JM; Gómez-Parra, A. 1998. An integrative assessment of sediment quality in littoral ecosystems from the Gulf of Cádiz. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17(6): 1073-1084.
- DelValls, TA; Conradi, M. 2000. Avances en ecotoxicología marina: Comparación entre tests de laboratorio y estudios in situ para la evaluación de la calidad ambiental de los sedimentos. *Ciencias Marinas* (2000), 26 (1): 39 – 64.
- Directiva 92/32/CEE. Comunidad Económica Europea. 1992. del Consejo de 30 de abril de 1992 por la que se modifica por séptima vez la Directiva 67/548/CEE relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas en materia de clasificación, embalaje y etiquetado de sustancias peligrosas. *Diario Oficial* n° L 154 de 05/06/1992 p. 0001 – 0029. (<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31992L0032:ES:HTML>) Revisado 16 de octubre 2013.
- Dodson, S; Hanazato, T. 1995. Commentary on effects of anthropogenic and natural organic chemicals on development, swimming behavior, and reproduction of *Daphnia*, a key member of aquatic ecosystems. *Environ. Health. Perspect.* 103 (Suppl 4):7-11.
- Doig, AT. (1976) Baritosis: a benign pneumoconiosis. *Thorax* 31:30-39.
- Doyle, J. 1994. *Crude Awakenings: The Oil Mess in America: Wasting Energy Jobs and the Environment* (Washington, DC: Friends of the Earth).
- Dutka, BJ. 1989. *Methods for Microbiological and Toxicological Analysis of Water, Wastewaters and Sediments: National Water Research Institute (NWRI), Environment Canada. Burlington, Ontario.*
- Dutka, B. 1989. Short-Term Root Elongation Toxicity Bioassay. *Methods for Toxicological Analysis of Waters, Wastewaters and Sediments. National Water Research Institute (NWRI). Environment Canada, Canadá.*
- Dymond, J; Suess, E; Lyle, M. 1992. Barium in deep sea sediment: A geochemical proxy for paleoproductivity. *Paleoceanography*, vol.7, no. 2, p 163 – 181, April 1992.
- Dymond, J; Collier, R. 1996. Particulate barium fluxes and their relationships to biological productivity. *Deep-Sea Res. II* 43 (4–6), 1283–1308.
- Ebrahimpour, M; Alipour, H; Rakhshah, S. 2010. Influence of water hardness on acute toxicity of copper and zinc on fish. *Toxicology and Industrial Health.* 26(6) 361–365.

- Eden, WRA. 1997. Evaluación de riesgos. In *Introducción a la Toxicología Ambiental*. Cap. 22. Consultado 24 mayo 2014. Disponible en <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvstox/fulltext/toxico/toxico-05a22.pdf>
- Edley, MT; Law, R. 1988. "Evolution of Life Histories and Yields in Experimental Population of *Daphnia magna*", *Biol. J. Limn. Soc.*, 34: 309-326.
- Elendt, BP; Bias, WR. 1990. "Trace Nutrient Deficiency in *Daphnia magna* Cultured in Standard Medium for Toxicity Testing Effects of the Optimization of Culture Conditions on Life History Parameters of *Daphnia magna*", *Wat. Res.* 24 (9): 1157-1167.
- Emsley, J. 2001. *Las piezas de construcción de la naturaleza*. Ed. Lenntech. X p.
- Environment Canada, 1999. *Guidance Document on Application and Interpretation of Single-Species Tests in Environmental Toxicology, Method Development and Application Section*, Environmental Technology Centre, EPS 1/RM/34.
- Faustman, EM; Omenn, GS. 1996. "Risk Assessment", en: Casarett and Doull's *Toxicology*, C.D. Klaassen editor, Chapter 4, McGraw-Hill, international edition.
- Ferdin, ME; Kvitek, RG; Bretz, CK; Powell, CL; Doucette, GJ; Lefebvre, KA; Coale, S. 2002. *Emerita analoga* (Stimpson) – possible new indicator species for the phycotoxin domoic acid in California coastal waters. *Toxicon*. 40: 1259-1265.
- Finer, M; Jenkins, CN; Pimm, SL; Keane, B; Ross, C. 2008. Oil and Gas Projects in the Western Amazon: Threats to Wilderness, Biodiversity, and Indigenous Peoples. *PLoS ONE* 3(8): e2932. doi:10.1371/journal.pone.0002932
- Finer, M; Orta-Martínez, M. 2010. A second hydrocarbon boom threatens the Peruvian Amazon: trends, projections, and policy implications. *Environ. Res. Lett.* 5 (2010) 014012 (10pp). doi:10.1088/1748-9326/5/1/014012
- Forbes, VE. 1998. Sources and implications of variability in sensitivity to chemicals for ecotoxicological risk assessment. *Arch. Toxicol. Suppl.* 20: 407-418.
- Forget, G; Sánchez, A; Arkhipchuk, V; Beuregard, T; Blaise, C; Castillo, G; Díaz-Baez, MC; Pica, YG, Ronco, A; Srivastava, RC; Dutka, BJ. 2000. Preliminary data of a single-blind, multicountry trial of six bioassays for water toxicity monitoring. *Environm. Toxicol.* 15:362-369.
- French-McCay, DP. 2004. Oil spill impact modeling: development and validation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 23, No. 10, pp. 2441–2456, 2004.

- Fupuy, J. 1999. Dinámica poblacional de *Odontesthes regia regia* en el litoral peruano durante setiembre 1986- agosto 1996. Tesis para Licenciado en Biología Pesquera. Univ. Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú. 65 p.
- Ghirardini, AV; Novelli, AA; Likar, B; Pojana, G; Ghetti, PF; Marcomini, A. 2001. Sperm cell toxicity test using sea urchin *Paracentrotus lividus* Lamarck (Echinodermata: Echinoidea): sensitivity and discriminatory ability toward anionic and nonionic surfactants. *Environ. Toxicol. Chem.* 20:644-651.
- Gibson, GD. 2003. Larval development and metamorphosis in *Pleurobranchaea maculate*, with a review of development in the Notaspidea (Opisthobranchia). *Biological Bulletin.* 205: 121-132.
- Girling, AE; Garforth, BM., 1989. "Influence of Variations in Culture Medium on the Survival and Reproduction of *Daphnia magna*", *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 42:119-125.
- Goeldi, EA. 1905. Os mosquitos do Pará. Reunião de quatro trabalhos sobre os mosquitos indígenas, principalmente as espécies que molestan o homem. Mem. Museu E. Goeldi, 4, 1-152.
- Gonnee, EM; Paytan, A. 2006. Phase associations of barium in marine sediments. *Marine Chemistry* 100 (2006) 124 – 135.
- González, RJ; Wood, CM; Wilson, RW; Patrick, ML; Bergman, HL; Narahara, A; Val, AL. 1998. Effect of water pH and calcium concentration on ion balance in fish of the Rio Negro, Amazon. *Physiology Zoology* 71: 15-22.
- González-Muñoz, MT; Martínez-Ruiz, F; Morcillo, F; Martín-Ramos, JD; Paytan, A. 2012. Precipitation of barite by marine bacteria: A possible mechanism for marine barite formation. Downloaded from geology.gsapubs.org on August 21, 2012.
- Gorbi, G; Corradi, MG; Invidia, M; Bassi, M. 2001. Light intensity influences chromium bioaccumulation and toxicity in *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae). *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 48: 36-42.
- Goulden, CE; Comotto, RM; Hendrickson, Junior JA; Horning, LL; Johnson, KL. 1982. Procedures and Recomendations for the Culture and Use of *Daphnia* in Bioassay Studies, Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Fifth Conference,

- ASTM STP 766, J. G. Pearson, R. B. Foster & W. E. Bishop, eds., American Society for Testing and Materials, pp. 139-160.
- Greenwood, N; Earnshaw, A. 1997. Química de los elementos. 2 ed. Editorial Butterworth-Heinemann. X p.
 - Grether, GF; Kasahara, S; Kolluru, GR; Cooper, EL. 2003. Sex-specific effects of carotenoid intake on the immunological response to allografts in guppies (*Poecilia reticulata*). Proceedings of the Royal Society of London B. 271: 45-49.
 - Guevara-Carrasco, R; Estrella, C; Zevallos, J. 1991. Crecimiento del pejerrey *Odontesthes regia regia* (Atherinidae) entre 1979-1989 en el litoral peruano. Resúmenes del III Seminario Latinoamericano de pesca artesanal y III Reunión Desarrollo Costero Integrado. (1991, Lima, PE). 98 p.
 - Gutiérrez, LE; Lerdo, DTBA; Huerto-Delgadillo, RY; García, CJ. 1989, Procedimientos de evaluación tóxica de efluentes industriales líquidos utilizando *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea), Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, México, pp. 105.
 - Hall Junior, LW; Anderson, R; Alden III, RW. 2002. A ten year summary of concurrent ambient water column and sediment toxicity tests in the Chesapeake Bay watershed: 1990-1999. Environmental Monitoring and Assessment 76:311-352, 2002.
 - Hayashi, H; Sugimoto, M; Oshima, N; Fujii, R. 1993. Circadian motile activity of erythrophores in the red abdominal skin of tetra fishes and its possible significance in chromatic adaptation. Pigment Cell Research 6: 29-36.
 - Hernández, C; Yáñez, R; Rudolph, A. 2000. Toxicity response of *Emerita analoga* (Stimpson, 1857) collected from beaches of South Central Chile. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 65: 567-572.
 - Hill, IA; Mathiessen, P; Heimbach, F. 1993. Guidance document on sediment toxicity tests and bioassays for freshwater and marine environments. 105 pp.
 - Hodgson, E. 2004. A textbook of Modern Toxicology. 3rd. Ed. Wiley Interscience. 557 pp.
 - Holmes, CW. 1981. Geochemical indices of fine sediment transport, Northwest Gulf of Mexico. Journal of Sed. Petrol., 52: 307-321.

- Horning, W; Weber, C. 1985. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. EPA/600/4-85/014. Environmental monitoring and support laboratory, Cincinnati, OH. 162 pp.
- Iannacone, J; Alvarino, L. 1998. Ecotoxicidad aguda del zinc sobre el "guppy" *Poecilia reticulata*. *Wiñay Yachay* 2(3):67-74.
- Iannacone, J; Alvarino, L. 2005. Efecto ecotoxicológico del cadmio en la eclosión de huevos de *Chironomus calligraphus* Goeldi 1905 (Diptera: Chironomidae). *Revista de Ciencias* 2:7-17.
- Iannacone, J; Alvarino, L; Mansilla, J. 2002. Actividad insecticida de cuatro extractos botánicos sobre larvas de los mosquitos *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) y *Chironomus calligraphus* (Diptera: Chironomidae). *Wiñay Yachay* 6:56-71.
- Iannacone, J; Arrascue, A; Cárdenas M. 2005. Assessment of ecotoxicity of sediments of Aruri River and Junin Lake (Peru) employing *Escherichia coli* and *Chironomus calligraphus*. *Braz. J. Toxicol.* 18:27-41.
- Iannacone, OJA; Alvarino, FL. 2003. Efecto Toxicológico del mercurio sobre larvas del muy-muy *Emerita analoga* (Stimpson) (Decapada: Hippidae) procedentes de cuatro localidades de Lima. *Ecología Aplicada*, 2 (1), 2003.
- Instituto Geológico y Minero de España. 2005. Capítulo 4. Estudios previos. Consultado 07 oct 2015. Disponible en <http://upcommons.upc.edu/pfc/bitstream/2099.1/4377/33/05.pdf>
- Kemble, NE; James, DE; Ingersoll, CG; Dawson, TD; Norberg-King, TJ. 1999. Tolerance of freshwater test organisms to formulated sediments for use as control materials in whole-sediment toxicity test. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Vol. 18, N°2, pp. 222-230.
- Kemmer, NF; McCallion, J. 1997. Manual del agua. Mc Graw-Hill, DF México. 565 pp.
- Klüttgen, B; Dülmer, U; Engels, M; Ratte, HT. 1994. "A Dam and Artificial Freshwater for the Culture of Zooplankton", *Water Research*, 28 (3): 743-746.
- Kraus, RS. 1998. Prospección, perforación y producción de petróleo y gas natural. In *Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo*. Ginebra: OIT.

- Lahr, J; Maas-Diepeveen, JL; Stuijzand, SC; Leonards, PE; Druke, JM; Lucker, S; Espeldoorn, A; Kerkum, LC; van Stee, LL; Hemdriks, AJ. 2003. Response in sediment bioassays used in the Netherlands: can observed toxicity be explained by routinely priority pollutants? *Water Res.* 37:1691-1710.
- Lamarck, JBPM de. 1816. *Histoire Naturelle des Animaux sans Vertèbres*, [...], Tome Troisième. - 586 pp., Paris (Verdière).
- Lamb, DT; Matanitobua, VP; Palanisami, T; Megharaj, M; Naidu, R. 2013. Bioavailability of Barium to Plants and Invertebrates in Soils Contaminated by Barite. *Environmental Science & Technology*. 5/7/2013, Vol. 47 Issue 9, p4670-4676. 7p.
- Larrain, A; Riveros, A; Silva, J; Bay-Schmith, E. 1999. Toxicity of metals and pesticides using the sperm cell bioassay with the sea urchin *Arbacia spatuligera*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 62:749-757.
- Lee, K; Gordon Junior, DC; Cranford, PJ; Armsworthy, SL; Tremblay, GH. 1999. Chronic toxicity and physical disturbance effects of water- and oil-based drilling fluids and some major constituents on adult sea scallops (*Placopecten magellanicus*). *Marine Environmental Research*. Sep1999, Vol. 48 Issue 3, p225. 0p.
- Lepland, A; Mortensen, PB. 2008. Barite and barium in sediments and coral skeletons around the hydrocarbon exploration drilling site in the Træna Deep, Norwegian Sea. *Environ Geol* (2008) 56:119–129. DOI 10.1007/s00254-007-1145-4.
- Lewis, MA. 1993. Freshwater primary producers. In *Handbook of Ecotoxicology*. Calow, P. (Ed.). Blackwell Scientific Publ. UK: 28-51.
- Lewis, MA; Maki, AW. 1981. "Effects of Water Hardness and Diet on Productivity of *Daphnia magna* Strauss, in Laboratory Culture", *Hydrobiology*, 85: 175-179.
- Ley N° 26221, Ley Orgánica de Hidrocarburos y modificatorias. Diario Oficial El Peruano. Normas legales. Lima, 19 de agosto 1993.
- Ley N° 28611. Ley General del Ambiente. Diario Oficial El Peruano. Normas legales. Lima, 13 de octubre de 2005.
- Linnaeus, C. 1758. *Systema Naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Editio decima, reformata. Laurentius Salvius: Holmiae.* ii, 824 pp.

- Lisk, DJ; Bache, CA; Essick, LA. 1988. Absorption and excretion of selenium and barium in humans from consumption of Brazil nuts. *Nutr Rep Int* 38:183-191.
- Llugany, M; Poschenrieder, C; Barcelo, J. 2000. Assessment of Barium Toxicity in Bush Beans. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 39, 440–444 (2000).
- Mallick, N; Mohn, FH. 2003. Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green microalga *Scenedesmus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 55: 64-69.
- Mann, R; Harding, JM. 2003. Salinity tolerance of larval *Rapana venosa*: implications for dispersal and establishment of an invading predatory gastropod on the North American Atlantic Coast. *Biological Bulletin.* 204: 96-103.
- Marín, GL. 2007. Aproximación ecotoxicológica a la contaminación por metales pesados en la laguna costera del Mar Menor. Tesis Lic. Departamento de Ecología e Hidrología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. 190 p.
- Marín-Guirao, L; Cesar, A; Marín, A; Vita, R. (2005). Valoración de la contaminación por metales en los sedimentos de la laguna costera del Mar Menor (SE de España): Distribución de metales, toxicidad, bioacumulación y estructura de las comunidades bentónicas. *Ciencias Marinas* (2005), 31(2): 413-428.
- Marino-Balsa, JC; Poza, E; Vázquez, E; Beiras, R. 2000. Comparative toxicity of dissolved metals to early larval stages of *Palaemon serratus*, *Maja squinado*, and *Homarus gammarus* (Crustacea: Decapoda). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 39: 345-351.
- Martínez, MO; Napolitano, DA; MacLennan, GJ; O’Callaghan, C; Ciborowski, S; Fabregas, X. 2007. Impacts of petroleum activities for the Achuar people of the Peruvian Amazon: summary of existing evidence and research gaps. *Environ. Res. Lett.* 2 (2007) 045006 (10 p.).
- Mauras, Y; Allain, P; Roques, MA. 1983. Etude de l’absorption digestive du baryum apres l’administration orale du sulfate de baryum pour exploration radiologique. *Therapie* 38:107-118.
- McBride, MB. 1994. *Environmental Chemistry of Soils.* Oxford Univ., Press. New York, NY. USA.

- McGee, BL; Fisher, DJ; Yonkos, LT; Ziegler, GP; Turley, S. 1999. Assessment of sediment contamination, acute toxicity, and population viability of the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus* in Baltimore Harbor, Maryland, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Vol. 18, N°10, pp 2151-2160.
- Medina, R; Paredes, R; Puchi, M; Imschenetzky, M; Montecino, M. 2001. Developmentally-regulated interaction of a transcription factor complex containing CDP/cut with the early histone H3 gene promoter of the sea urchin *Tetrapygus niger* is associated with changes in chromatin structure and gene expression. *Gene* 272:237-248.
- Mejía, J; Samamé, M; Pastor, A. 1970. Información básica de los principales peces de consumo. *Inf. Inst. Mar Perú, Callao*. 62:1-30.
- Menzie, CA; Southworth, B; Stephenson, G; Feisthauer, N. 2008. The Importance of Understanding the Chemical Form of a Metal in the Environment: The Case of Barium Sulfate (Barite), Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal, 14:5, 974-991, DOI: 10.1080/10807030802387622
- Meregagalli, G; Bettinetti, R; Pluymers, L; Vermeulen, AC; Rossaro, B; Ollevier, F. 2002. Mouthpart deformities and nucleolus activity in field-collected *Chironomus riparius* larvae. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 42:405-409.
- Miglioranza, SBK; Aizpún, DMJE; Moreno, VJ. 2003. Dynamics of organochlorine pesticides in soils from a Southeastern region of Argentina. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 22, No. 4, pp. 712–717, 2003
- Miller, RE; Brobst, DA; Beck, PC. 1977. The organic geochemistry of black sedimentary barite: significance and implications of trapped fatty acids. *Organic Geochemistry*, Volume 1, Issue 1, November 1977, Pages 11-26.
- Ministerio de Economía y Finanzas. 2008. Marco macroeconómico multianual 2009-2011 del crecimiento económico al bienestar social. Aprobado en Sesión de Consejo de Ministros del 28 de mayo del año 2008. Consultado 07 oct 2015. Disponible en http://www.mef.gob.pe/contenidos/pol_econ/marco_macro/MMM_2009_2011.pdf
- Ministerio de Energía y Minas. 2007. Guía para la Evaluación de impactos en la calidad de aguas superficiales por actividades minero-metalúrgicas. Sub-sector minería. Dirección General de Asuntos Ambientales Mineros. 141 p.

- Molina, GI. 1782. Saggio sulla storia naturale del Chili. 4, Animali del Chili. Bolonga, 367 pp.
- NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health, US). Consultado 07 oct. 2015. Disponible en <http://www.cdc.gov/niosh/ipcsneng/neng0827.html>
- OECD (Organization for Economic Co-Operation and Development, CA). Consultado 07 oct. 2015. Disponible en www.oecd.org
- Oliva, ME; Luque, JL; Cevallos, A. 1992. Parásitos de *Emerita analoga* (Stimpson) (Crustacea): Implicancias ecológicas. Bol. Lima (Perú). 79: 77-80.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2004. Guías para la Calidad del agua potable. Volume 1. Recomendaciones. Tercera. Ginebra, 2004.
- Oregon Department of Environmental Quality. Guidance for Ecological Risk Assessment: Levels I, II, III, IV. Waste Management & Cleanup Division. Cleanup Policy & Program Development Section.
- OSHA (Occupational Safety & Health Administration, US). Consultado 07 oct. 2015. Disponible en https://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_219900.html
- OSPARCOM (Oslo and Paris Commission). 1998. OSPAR Guidelines for the Management of Dredged Material, 32 pp.
- Otero, A; García, D; Morales, ED; Arán, J; Fábregas, J. 1997. Manipulation of the biochemical composition of the eicosapentaenoic acid-rich microalga *Isochrysis galbana* in semicontinuous cultures. Biotechnology and Applied Biochemical. 26: 171-177.
- Pannevis, MC; Earle, KE. 1994. Nutrition of ornamental fish: water soluble vitamin leaching and growth of *Paracheiroidon innesi*. Journal of Nutrition 124: 2633S-2635S.
- Paustenbach, D. 1989. A survey of health risk assessment. In: Paustenbach D, editor. The risk assessment of environmental and human health hazards: A textbook of case studies. New York: John Wiley & Sons, 1989.
- Pawlisz, AV; Kent, RA; Schneider, UA; Jefferson, C. 1997. Canadian Water quality Guidelines for chromium. Environmental Toxicology and Water Quality. 12: 185-193.

- Pendergrass, EP; Greening, RR. (1953) Baritosis: report of a case. Arch Indust Hyg Occup Med 7:44-48.
- Pesando, D; Robert, S; Huitorel, P; Gutknecht, E; Pereira, L; Girard, JP; Ciapa, B. 2004. Effects of methoxychlor, dieldrin and lindane on sea urchin fertilization and early development. Aquat. Toxicol. 66:225-239.
- Pérez, D. 1999. Mercury Levels in Mole Crabs *Hippa cubensis*, *Emerita brasiliensis*, *E. portoricensis*, and *Lepidopa richmondi* (Crustacea: Decapoda: Hippidae) from a Sandy Beach at Venezuela. Bull. Environ. Contam. Toxicol. (1999) 63:320-326.
- Peters, C; Becker, S; Noack, U; Pfitzner, S; Bulow, W; Barz, K; Ahlf, W; Berghahn, R. 2002. A marine bioassay test set to assess marine water and sediment quality-its need, the approach and first results. Ecotoxicology, 11, 379-383, 2002.
- Peters, WH. 1859. Eine neue vom Herrn Jagor im atlantischen Meere gefangene Art der Gattung Leptocephalus, und über einige andere neue Fische des Zoologischen Museums. Monatsb. Akad. Wiss. Berlin 1859, pp 411-413.
- Phillips, EJP; Landa, ER; Kraemer, T; Zielinski, R. 2001. Sulfate-Reducing Bacteria Release Barium and Radium from Naturally Occurring Radioactive Material in Oil-Field Barite, Geomicrobiology Journal, 18:2, 167-182, DOI: 10.1080/01490450120549
- Podemsky, CL; Culp, JM. 2001. Toxicant interaction with food algae: A missing link between laboratory and field effects? Environmental Toxicology. 16: 31-42.
- Porta, JM; Lopez-Acevedo, M; Roquero, C. 1999. Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente. 2da ed. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid, España.
- Powell, CL; Ferdin, ME; Busman, M; Kvittek, RG; Doucette, GJ. 2002. Development of a protocol for determination of domoic acid in the sand crab (*Emerita analoga*): a possible new indicator species. Toxicon 40: 485-492.
- RACUA (Red de Acuicultura de las Américas, AR). 2012. Consultado 07 oct 2015. Disponible en http://www.racua.org/fileadmin/templates/raa/content/publicaciones/Lab_extranjeros_veg_ARG.pdf
- Ré, A; Rodrigues, AM; Quintino, V. (2007). Acute toxicity testing with the European estuarine amphipod *Corophium multisetosum*. Hidrobiología (2007) 587:89–99.

- Repetto, G; Del Peso, A; Repetto, M. 2000. Alternative ecotoxicological methods for the evaluation, control and monitoring for environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environm. Res.* 3: 47-51.
- Resolución Directoral 030-96-EM/DGAA. Aprueban los Niveles Máximos Permisibles para efluentes líquidos producto de actividades de explotación y comercialización de hidrocarburos líquidos y sus productos derivados. *Diario Oficial El Peruano. Normas legales.* Lima, 04 de noviembre de 1996.
- Resolución Directoral 0127-97/DCG. Dictan disposiciones referidas al significado de los contaminantes del mar y los criterios establecidos para su identificación. *Diario Oficial El Peruano. Normas legales.* Lima, 11 de junio de 1997.
- Rodríguez, SR. 2003. Consumption of drift kelp by intertidal populations of the sea urchin *Tetrapygus niger* on the central Chilean coast: possible consequences at different ecological levels. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 251:141-151.
- Rossi, SS; Rommed, GW; Benson, AA. 1978. Hydrocarbons in sand crabs (*Emerita analoga*) from southern California. *Chemosphere* 2:131-141.
- Salamanca, MJ; Fernández, N; Cesar, A; Antón, R; López P; Delvalls, A'. 2009. Improved sea-urchin embryo bioassay for in situ evaluation of dredged material. *Ecotoxicology.* DOI 10.1007/s10646-009-0378-2. Published on line: 10 July 2009.
- Sánchez, PA. 2002. Tesis doctoral: Valoración ecotoxicológica de la Contaminación de origen agrario: Incorporación de bioensayos en los protocolos de evaluación del riesgo ambiental. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas. ISBN: 84-669-1717-9. 136 pp.
- Sánchez, R. 2012. Aplicación de los estudios ecotoxicológicos para evaluar los efectos de contaminantes en los cuerpos de agua. *The Biologist (Lima)*, 2012, vol. 10, Suplemento Especial.
- Schmahl, G; Ruider, S; Ehlhorn, HM; Schmidt, H; Ritter, G. 1992. Treatment of fish parasites. Effects of a medicated food containing malachite green on *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet 1876 (Hymenostomatida, Ciliophora) in ornamental fish. *Parasitology Research* 78: 183-192.
- Seaton, A; Ruckley, VA; Addison, J; et al. (1986) Silicosis in barium miners. *Thorax* 41:591-595.

- Senko, MJ; Campbell, SB; Henriksen, RJ; Elshahed, MS; Dewers, AT; Krumholz, RL. 2004. Barite deposition resulting from phototrophic sulfide-oxidizing bacterial activity. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. 68, N° 4, pp 773 – 780, 2004.
- Shim, WJ; Hong, SH; Agafonova, IG; Aminin, DL. 2006. Comparative Toxicities of Organotin Compounds on Fertilization and Development of Sea Urchin (*Anthocardia crassispina*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* (2006) 77:755–762.
- Selvi, M; Sarikaya, R; Erkoç, F. 2004. Acute behavioral changes in the guppy (*Poecilia reticulata*) exposed to temephos. *G.U. Journal of Science* 17: 15-19.
- Silva, J; Iannacone, J; Cifuentes, L; Troncoso, L; Bay-Schmith, E; Larrain, A. 2001. Assessment of sensitivity to Pentachlorophenol (PCP) in 18 aquatic species, using acute and chronic ecotoxicity bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Restoration*. 4: 10-17.
- Silva, J; Torrejón, G; Bay-Schmith, E; Larrain, A. 2003. Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia pulex* (Crustacea: Cladocera) usando un tóxico de referencia. *Gayana* 67 (1): 87-96, 2003.
- Silva, PA. 1999. Tendencias en el Uso de Fluidos de Perforación No Tóxicos en América del Sur y El Caribe. *Aceites y Solventes Venezolanos VASSA SA*.
- SNMPE (Sociedad Nacional de Minería, Petróleo y Energía, PE). 2008. Revista de la Sociedad Nacional de Minería, Petróleo y Energía. Núm. 64, Septiembre 2008. 84 p.
- SNMPE (Sociedad Nacional de Minería, Petróleo y Energía, PE). 2014. Revista de la Sociedad Nacional de Minería, Petróleo y Energía. Núm. 125, Enero 2014. 36 p.
- Strachan, MF; Kingston, PF. 2012. A comparative study on the effects of barite, ilmenite and bentonite on four suspension feeding bivalves. *Marine Pollution Bulletin* 64 (2012) 2029–2038.
- Sun, WP; Han, ZB; Hu, CY; Pan, JM. Particulate barium flux and its relationship with export production on the continental shelf of Prydz Bay, east Antarctica. *Marine Chemistry* 157 (2013) 86 – 92.
- Swartz, RC; DeBen, WA; Sercu, KA; Lamberson, O. 1982. Sediment toxicity and the distribution of amphipods in Commencement Bay, Washington, USA. *Mar.Pollut. Bull.* 13, 359-64.

- Tagatz, ME; Ivey, JM; Moore, JC; Tobia, M. 1978. Effect of barite (BaSO₄) on development of estuarine communities. *Estuarine Coastal Mar. Sci*, 7: 401 – 407, 1978.
- Tao, S; Long, A; Pan, B; Xu, F; Dawson, R. 2002. Uptake of copper complexed to EDTA, diaminoethane, oxalid acid, or tartaric acid by Neon Tetras (*Paracheirodon innesi*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 53: 317-322.
- Tirado, MJL. 2003. Bioseguridad, residuos patológicos, salud laboral, Ecotoxicología. *Revista Latino Americana de la Salud en el Trabajo*. Vol. 3 Número 1/Enero-Junio 2003:16-20 MG.
- Torres, ME; Brumsack, HJ; Bohrmann, G; Emeis, KC. 1996. Barite fronts in continental margin sediments; a new look at barium remobilization in the zone of sulfate reduction and formation of heavy barites in diagenic fronts: *Chemical Geology*, v. 127, no. 1-3, p 125 – 139.
- Uchiyama, K; Nakajima, I; Hayashi, T. 1995. Influence of a barium sulfate preparation (BA147) on lungs of rabbits following single dose intratracheal administration. *Oyo Yakuri* 50:123-134. [Japanese; English abstract from TOXLINE database].
- United States Geological Survey, Mineral Commodity Summaries. 2014. US Department of the Interior. 199 p. Consultado 07 oct 2015. Disponible en <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/mcs/2014/mcs2014.pdf>
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1992. Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms EPA-600/4-91-022, 3 ed. Philip Lewis, AL; Klem, DJ & Lazorchak, JM.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1993. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluent and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms. Cuarta edición. Weber, C.I., Ed., EPA-600/4-90-027.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1993. Probit analysis program. Version 1.5. US Environmental Protection Agency. Washington D.C. USA.

- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1994. Methods for assessing the toxicity of sediment associated contaminants with estuarine and marine amphipods. United States Environmental Protection Agency, EPA/600/R-94/ 025.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1997. USEPA Niveles Máximos de Contaminantes y Hoja de Datos. Consultado 07 oct 2015. Disponible en <http://www.epa.gov/safewater/mcl.html>.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 2005. Toxicological review of barium and compounds (CAS N° 7440 – 39 – 3). In support of summary information on the integrated risk information system (IRIS). EPA/635/R-05/001. Consultado 07 oct 2015. Disponible en <http://www.epa.gov/iris>
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 2012. 850.4100: Seedling Emergence and Seedling Growth. United States Environmental Protection Agency Office of Chemical Safety and Pollution Prevention (7101) EPA 712-C-012 January 2012 Ecological Effects Test Guidelines OCSPP. 30 p.
- USEPA (Environmental Protection Agency, US). "Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods", Office of Research and Development, Washington, DC 20460. SW-846 Ch 3.3. Methods 7080, 7081.
- USEPA (Environmental Protection Agency, US). 1986. Quality criteria for water. Washington, DC: 17 Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency. EPA/440/5-86/001.
- USEPA (Environmental Protection Agency, US). 1998. Evaluation of dredge material proposed for discharge in waters of the US. Testing manual (The Inland Testing Manual). United States Environmental Protection Agency, EPA-823-F-98-005.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1999. Environmental Assessment of Proposed Effluent Limitations Guidelines and Standards for Synthetic-Based Drilling Fluids and other Non-Aqueous Drilling Fluids in the Oil and Gas Extraction Point Source Category. United States Environmental Protection Agency, EPA-821-B-98-019.
- Valdovinos, C; Zúñiga, M. 2002. Copper acute toxicity tests with the sand crab *Emerita analoga* (Decapoda: Hippidae): a biomonitor of heavy metal pollution in Chilean coastal seawater? Bull. Environ. Contam. Toxicol. 69: 393-400.

- Valenciennes, A. 1846. Zoophytes. In A. du Petit-Thouars Voyage autour de monde sur la frégate La Vénus, pendant les années 1836-1839. Atlas de Zoologie Gide et Cie, Paris.
- Van den Hoek, C; Mann, DG; Jahns, HM. 2002. Algae. An Introduction to phycology. Cambridge University Press. 623 pp.
- Vásquez, LC. 2003. Effect of sperm cell density on measured toxicity from the sea urchin *Tripneustes gratilla* fertilization bioassay. Environ. Toxicol. Chem. 22:2191-2194.
- Veguería, JSF; Godoy, MJ; Miekeley, N. 2002. Environmental impact in sediments and seawater due discharges of Ba, ²²⁶Ra, ²²⁸Ra, V, Ni and Pb by produced wáter from Bacia de Campos oil field offshore platforms. Environmental Forensics (2002) 3, 115 – 123.
- Veliz, M; Insil, R. 1988. Variaciones mensuales y anuales de desembarque del pejerrey (*Odontesthes regia regia*) en el Perú entre 1964 y 1986. 69-100 p. In Salzwedel, H. y A. Landa (Eds.).
- Vera, G; Tam, J; Pinto, E; Angulo, J. 2001. Efecto del cadmio sobre el crecimiento poblacional de la diatomea marina *Chaetoceros gracilis* Schütt. Revista peruana de Biología. 8: 23-29.
- Villavicencio, Z; Muck, P. 1984. Estudio de otolitos de *Odontesthes regia regia*, pejerrey: Determinación de edad. Bol. Inst. Mar Perú–Callao. 8(3):69-100.
- Washington State Department of Ecology. 2003. Sediment sampling and analysis plan. Appendix. Guidance on the Development of Sediment Sampling and Analysis Plans Meeting the Requirements of the Sediment Management Standards (Chapter 173-204 WAC).
- Wenner, AM. 1987. Crustaceans and other invertebrates as indicator of beach pollution. In: Soule and GS Kleppel (eds.) Marine organisms as Indicators 199-229. Springer-Verlag. New York.
- WHO (World Health Organization, SU). 1993. Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles. Environmental Health Criteria No. 135. Geneva, World Health Organization. 82 pp.

- Wong, PTS; Dixon, DG. 1995. Bioassessment of Water Quality. Environmental Toxicology and Water Quality: An international Journal, Vol. 10 (1995) 9 – 17.
- Wright, J. 2003. Química medioambiental. s.l. Editorial Reverté. X p.
- Yamada, F; Tsujimoto, G; Long, B. 2011. Internal Sediment Density Structures around bars due to beach deformation using X-ray CT. Journal of Coastal Research, SI 64 (Proceedings of the 11th International Coastal Symposium), 716 – 720. Szczecin, Poland, ISSN 0749-0208
- Yap, CK; Ismail, A; Omar, H; Tan, SG. 2004. Toxicities and tolerances of Cd, Cu, Pb and Zn in as primary producer (*Isochrysis galbana*) and in a primary consumer (*Perna viridis*). Environmental International. 29: 1097-1104.
- Zambrano, AW. 1983. Evaluación biológica del comportamiento de la lisa *Mugil cephalus* frente al metanol utilizando metales radioquímicos. Contribución a la Toxicología Marina. Tesis Ing. Pesquero. Universidad Federico Villarreal. 90 p.
- Zapata-Pérez, O., 2002. CYP1A en tilapia *Oreochromis niloticus*. Caracterización y regulación por xenobióticos. Tesis de Doctorado. Departamento de Farmacología y Toxicología. CINVESTAV-IPN, 118 p.
- Zar, JH. 1996. Biostatistical analysis. Prentice-Hall. 3ed. New York, USA. 718 p.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Crecimiento celular promedio ($\times 10^6$ cel./mL) de *Chlorella* sp. a las 24, 48, 72 y 96 horas expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	24 h	48 h	72 h	96 h
Blanco	0	16	17	16	10
C ₁	0,0002	14	9	10	6
C ₂	0,002	7	6	8	4
C ₃	0,02	4	4	6	2
C ₄	0,2	3	1	4	2
C ₅	2	0	0	3	1

ANEXO 2: pH promedio en la prueba con la microalga *Chlorella* sp. expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

pH	g/L	24 h	48 h	72 h	96 h
Blanco	0	7,4	7,1	6,8	7,2
C ₁	0,0002	7,4	7,1	6,8	7,2
C ₂	0,002	7,4	7,1	7,4	7,2
C ₃	0,02	7,4	7,1	7,4	7,2
C ₄	0,2	7,4	7,1	7,1	7,1
C ₅	2	7,1	7,1	7,8	7,5
Prom.		7,37	7,08	7,22	7,25
DS		0,16	0,00	0,43	0,12

DS = Desviación estándar

ANEXO 3: Temperatura promedio en la prueba con la microalga *Chlorella* sp. expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

Temp. (°C)	g/L	24 h	48 h	72 h	96 h
Blanco	0	20,7	20,9	20,7	20,4
C1	0,0002	20,9	20,9	20,7	20,5
C2	0,002	20,9	21,0	21,1	20,5
C3	0,02	20,9	20,9	21,1	20,6
C4	0,2	20,9	21,0	21,0	20,5
C5	2	20,8	21,0	21,1	20,5
	Prom.	20,85	20,95	20,95	20,50
	DS	0,08	0,05	0,20	0,06

DS = Desviación estándar

ANEXO 4: Crecimiento celular promedio ($\times 10^5$ cel./mL) de *Isochrysis* sp. a las 24, 48, 72 y 96 horas expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	24 h	48 h	72 h	96 h
Blanco	0	156	182	347	259
C ₁	0,0002	133	151	269	212
C ₂	0,002	108	135	239	188
C ₃	0,02	96	122	204	150
C ₄	0,2	86	112	181	136
C ₅	2	69	71	133	117

ANEXO 5: pH y temperatura promedio en la prueba con la microalga *Isochrysis* sp. expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	pH	Temp. (°C)
Blanco	0	8,84	18,95
C ₁	0,0002	8,80	18,73
C ₂	0,002	8,74	18,73
C ₃	0,02	8,71	18,85
C ₄	0,2	8,72	18,85
C ₅	2	8,72	18,83
	Prom.	8,753	18,821
	DS	0,054	0,086

DS = Desviación estándar

ANEXO 6: Proporción promedio de germinación de *Medicago sativa* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	p	Sig.	DS
Blanco	0	1,00	a	0
C ₁	0,0002	1,0	ab	0,01
C ₂	0,002	0,9	bc	0,01
C ₃	0,02	0,9	cd	0,02
C ₄	0,2	0,8	d	0,02
C ₅	2	0,7	e	0,07

p= proporción; DS = Desviación estándar; Sig. = Significancia.
Letras iguales en una misma columna indican que los promedios son estadísticamente iguales.

ANEXO 7: Crecimiento promedio (cm) de *Medicago sativa* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	Prom.	Sig.	DS
Blanco	0	2,8	a	0,28
C ₁	0,0002	2,3	ab	0,12
C ₂	0,002	2,0	bc	0,13
C ₃	0,02	1,7	cd	0,10
C ₄	0,2	1,5	de	0,08
C ₅	2	1,1	e	0,26

Prom.= Promedio; DS = Desviación estándar; Sig. = Significancia.
Letras iguales en una misma columna indican que los promedios son estadísticamente iguales.

ANEXO 8: pH, temperatura, conductividad y sólidos disueltos totales promedio en la prueba con *Medicago sativa* expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	pH	T°	CE (uS/cm)	TDS (mg/L)
Blanco	0	7,32	23,6	144	220
C ₁	0,0002	7,81	23,5	155	270
C ₂	0,002	7,69	23,6	153	260
C ₃	0,02	7,72	23,7	162	310
C ₄	0,2	7,68	24	199	250
C ₅	2	7,8	24,6	198	230
Prom.		7,670	23,83	168,5	256,7
DS		0,180	0,41	23,9	32,0

DS = Desviación estándar

ANEXO 9: Proporción promedio de germinación de *Zea mays* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	p	Sig.	DS
Blanco	0	1,0	a	0,00
C ₁	0,0002	1,0	a	0,00
C ₂	0,002	1,0	a	0,00
C ₃	0,02	0,9	a	0,04
C ₄	0,2	0,1	ab	0,49
C ₅	2	0,0	b	0,00

p= proporción; DS = Desviación estándar; Sig. = Significancia.
Letras iguales en una misma columna indican que los promedios son estadísticamente iguales.

ANEXO 10: Crecimiento promedio (cm) de *Zea mays* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	Prom.	Sig.	DS
Blanco	0	77,75	a	17,324
C ₁	0,0002	49,50	ab	9,192
C ₂	0,002	28,75	bc	3,889
C ₃	0,02	13,55	c	2,051
C ₄	0,2	1,50	c	2,121
C ₅	2	1,00	c	1,732

Prom.= Promedio; DS = Desviación estándar; Sig. = Significancia.
Letras iguales en una misma columna indican que los promedios son estadísticamente iguales.

ANEXO 11: pH, temperatura, conductividad y sólidos disueltos totales promedio en la prueba con *Zea mays* expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	pH	T (°C)	Cond. (µs/cm)	TDS (mg/L)
Blanco	0	6,825	23,80	183	261,0
C ₁	0,0002	6,620	23,25	180	200,5
C ₂	0,002	6,675	23,20	164	273,0
C ₃	0,02	6,640	23,10	193	273,5
C ₄	0,2	6,625	23,15	191	262,5
C ₅	2	6,630	23,15	179	239,0
Prom.		6,669	23,275	181,7	251,58
DS		0,079	0,262	10,4	27,98

DS = Desviación estándar

ANEXO 12: Mortandad de *Daphnia* sp. a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24 y 48 horas.

	g/L	24 h	48 h
Blanco	0	0	2
C ₁	0,0002	3	7
C ₂	0,002	4	9
C ₃	0,02	4	12
C ₄	0,2	7	16
C ₅	2	9	21

ANEXO 13: pH, temperatura promedio con *Daphnia* sp. expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	pH	T (°C)
Blanco	0	7,75	20,00
C ₁	0,0002	7,64	20,10
C ₂	0,002	7,67	20,00
C ₃	0,02	7,64	19,90
C ₄	0,2	7,63	19,80
C ₅	2	7,61	19,75
Prom.		7,655	19,925
DS		0,049	0,133

DS = Desviación estándar

ANEXO 14: Mortandad de *Emerita analoga* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48 y 96 horas.

	g/L	24 h	48 h	96 h
Blanco	0	0	0	0
C ₁	0,0002	0	0	1
C ₂	0,002	0	0	4
C ₃	0,02	0	1	7
C ₄	0,2	3	3	13
C ₅	2	5	8	15

ANEXO 15: Mortandad de *Emerita analoga* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles a las 7, 14, 20, 30 y 34 horas.

	g/L	7 d	14 d	20 d	30 d	34 d
Blanco	0	2	3	3	3	3
C ₁	0,0002	3	5	7	9	10
C ₂	0,002	5	7	9	11	12
C ₃	0,02	7	9	11	13	15
C ₄	0,2	13	13	15	15	15
C ₅	2	15	15	16	17	17

ANEXO 16: pH, temperatura y oxígeno disuelto promedio de pruebas con *Emerita analoga* expuesto a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	pH	OD (mg/L)	Temp. (°C)
Blanco	0	8,21	6,24	17,7
C ₁	0,0002	8,22	6,15	17,8
C ₂	0,002	8,24	6,17	18,1
C ₃	0,02	8,23	6,24	18,0
C ₄	0,2	8,23	6,17	17,9
C ₅	2	8,20	5,75	17,4
Prom.		8,221	6,118	17,81
DS		0,015	0,184	0,23

DS = Desviación estándar

ANEXO 17: Mortandad de *Apohyale* sp. a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles a los 10 días.

	g/L	10 d
Blanco	0	0
C ₁	0,0002	0
C ₂	0,002	0
C ₃	0,02	0
C ₄	0,2	1
C ₅	2	4

ANEXO 18: pH, temperatura y oxígeno disuelto promedio de la prueba con *Apohyale* sp. expuesto a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	pH	Temp. (°C)	OD (mg/L)
Blanco	0	7,80	19,5	4,1
C ₁	0,0002	7,79	19,5	3,8
C ₂	0,002	7,80	19,5	3,6
C ₃	0,02	7,81	19,0	3,7
C ₄	0,2	7,81	18,6	3,7
C ₅	2	7,81	18,9	3,7
Prom.		7,804	19,167	3,777
DS		0,008	0,384	0,170

DS = Desviación estándar

ANEXO 19: Mortandad de *Chironomus calligraphus* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles a los 4 y 10 días.

	g/L	4 d	10 d
Blanco	0	0	0
C ₁	0,00002	0	0
C ₂	0,0002	2	2
C ₃	0,002	3	3
C ₄	0,2	3	4
C ₅	2	9	13

ANEXO 20: pH, temperatura, conductividad y sólidos disueltos totales promedio de la prueba con *Chironomus calligraphus* expuesto a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	pH	Temp. (°C)	Cond. (µS/cm)	TDS (mg/L)
Blanco	0	7,4	24,5	187	260
C ₁	0,0002	7,5	24,4	160	263
C ₂	0,002	7,6	24,3	145	240
C ₃	0,02	7,7	24,0	119	243
C ₄	0,2	7,7	23,9	127	230
C ₅	2	7,7	23,8	141	236
Prom.		7,59	24,15	146,6	245,2
DS		0,10	0,27	24,3	13,2

DS = Desviación estándar

ANEXO 21: Óvulos no fecundados de *Tetrapygus niger* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	NF
Blanco	0	194
C ₁	0,0002	403
C ₂	0,002	502
C ₃	0,02	565
C ₄	0,2	597
C ₅	2	627

NF = Óvulos no fecundados.

ANEXO 22: pH y temperatura promedio con *Tetrapygus niger* expuesto a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	pH	Temp. (°C)
Blanco	0	7,2	18,0
C ₁	0,0002	7,9	19,5
C ₂	0,002	7,9	19,6
C ₃	0,02	7,9	19,7
C ₄	0,2	7,9	19,6
C ₅	2	7,8	19,0
Prom.		7,75	19,23
DS		0,28	0,65

DS = Desviación estándar

ANEXO 23: Mortandad de *Odontesthes regia regia* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48, 72 y 96 horas.

	g/L	24 h	48 h	72 h	96 h
Blanco	0	0	1	1	2
C ₁	0,0002	1	1	1	4
C ₂	0,002	1	2	2	4
C ₃	0,02	1	2	3	4
C ₄	0,2	2	2	4	5
C ₅	2	3	4	4	5

ANEXO 24: pH, temperatura, oxígeno disuelto y salinidad promedio con *Odontesthes regia regia* expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles hasta las 96 horas.

	g/L	pH	Sal. (g/L)	OD (mg/L)	Temp. (°C)
Blanco	0	8,1	35	7,11	19,7
C ₁	0,0002	8,1	35	7,06	19,9
C ₂	0,002	8,2	35	7,05	19,8
C ₃	0,02	8,2	35	7,05	19,9
C ₄	0,2	8,2	35	7,03	19,9
C ₅	2	8,2	35	7,00	20,0
Prom.		8,15	35,0	7,05	19,85
DS		0,01	0,0	0,03	0,10

DS = Desviación estándar

ANEXO 25: Mortandad de *Odontesthes regia regia* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles de los 5 a los 21 días.

	g/L	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d
Blanco	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
C ₁	0,0002	7	8	8	8	8	10	11	11	12	12	12	14	14	14	14	14	14
C ₂	0,002	8	8	8	9	10	11	12	12	12	12	14	14	16	16	16	16	16
C ₃	0,02	8	8	9	9	10	12	12	12	12	13	15	15	16	16	16	16	16
C ₄	0,2	8	8	9	10	11	14	14	14	14	15	16	18	18	18	18	18	18
C ₅	2	9	9	9	10	12	15	17	17	17	17	18	19	19	19	19	19	19

ANEXO 26: pH, temperatura, oxígeno disuelto y salinidad promedio con *Odontesthes regia regia* expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles hasta los 21 días.

	g/L	pH	Sal. (g/L)	OD (mg/L)	Temp. (°C)
Blanco	0	8,1	36	6,94	19,2
C ₁	0,0002	8,1	35	6,81	19,2
C ₂	0,002	8,0	35	6,73	19,2
C ₃	0,02	8,1	36	6,8	19,3
C ₄	0,2	8,1	36	6,63	19,4
C ₅	2	8,1	35	6,71	19,4
Prom.		8,09	35,5	6,770	19,28
DS		0,04	0,5	0,106	0,10

DS = Desviación estándar

ANEXO 27: Mortandad de *Poecilia reticulata* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48, 72 y 96 horas.

	g/L	24 h	48 h	72 h	96 h
Blanco	0	0	0	0	0
C ₁	0,0002	0	0	0	0
C ₂	0,002	0	0	0	0
C ₃	0,02	0	0	0	0
C ₄	0,2	0	0	2	5
C ₅	2	0	1	6	9

ANEXO 28: Mortandad de *Poecilia reticulata* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles de los 5 a los 28 días.

	g/L	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d	22 d	23 d	24 d	25 d	26 d	27 d	28 d
Blanco	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₁	0,0002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
C ₂	0,002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	9
C ₃	0,02	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	5	5	5	5	5	6	7
C ₄	0,2	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	6	6	9
C ₅	2	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	10	11

ANEXO 29: pH, temperatura, conductividad y sólidos disueltos totales promedio con *Poecilia reticulata* expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

	g/L	pH	Temp. (°C)	Cond. (µS/cm)	TDS (mg/L)
Blanco	0	7,6	20,7	192	284
C ₁	0,0002	7,7	20,7	181	263
C ₂	0,002	7,7	20,6	181	261
C ₃	0,02	7,7	20,7	178	257
C ₄	0,2	7,7	20,9	179	259
C ₅	2	7,7	21,0	180	261
Prom.		7,68	20,75	181,9	264,2
DS	0,05		0,17	5,1	10,0

DS = Desviación estándar

ANEXO 30: Mortandad de *Paracheirodon innesi* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles a las 24, 48 y 96 horas.

	g/L	24 h	48 h	96 h
Blanco	0	0	0	0
C ₁	0,0002	0	0	0
C ₂	0,002	0	0	0
C ₃	0,02	0	0	0
C ₄	0,2	1	1	1
C ₅	2	16	16	16

ANEXO 31: pH, temperatura, conductividad y sólidos disueltos totales promedio con *Paracheirodon innesi* expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles hasta las 96 horas.

	g/L	pH	Temp. (°C)	Cond. (µS/cm)	TDS (mg/L)
Blanco	0	8,2	19,2	133	215
C ₁	0,0002	8,1	19,2	136	214
C ₂	0,002	8,1	19,2	134	214
C ₃	0,02	8,1	19,2	136	214
C ₄	0,2	8,1	19,3	134	218
C ₅	2	8,1	19,3	138	219
Prom.		8,13	19,25	135,1	215,8
DS		0,01	0,06	2,0	2,3

DS = Desviación estándar

ANEXO 32: Mortandad de *Paracheirodon innesi* a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles a los 6, 10, 12 y 14 días.

	g/L	6 d	10 d	12 d	14 d
Blanco	0	0	0	0	0
C ₁	0,0002	0	0	0	0
C ₂	0,002	0	0	2	2
C ₃	0,02	0	3	4	4
C ₄	0,2	4	3	5	8
C ₅	2	17	20	20	20

ANEXO 33: Temperatura promedio con *Paracheirodon innesi* expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

Temp. (°C)	g/L	Días				
		6	8	10	14	16
Blanco	0	18,2	18,3	18,3	18,7	18,2
C ₁	0,0002	18,2	18,1	18,2	19,0	18,0
C ₂	0,002	18,2	18,1	18,3	19,0	19,0
C ₃	0,02	18,2	18,1	18,2	19,1	19,0
C ₄	0,2	18,3	18,1	18,2	19,1	18,9
C ₅	2	18,3	18,1	18,2	19,2	18,9
	Prom.	18,25	18,13	18,23	19,02	18,65
	DS	0,06	0,09	0,02	0,17	0,43

DS = Desviación estándar

ANEXO 34: pH promedio con *Paracheirodon innesi* expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

pH	g/L	Días				
		6	8	10	14	16
Blanco	0	8,2	8,3	8,1	8,3	8,3
C ₁	0,0002	8,1	8,2	8,2	8,3	8,2
C ₂	0,002	8,1	8,2	8,1	8,5	8,2
C ₃	0,02	8,1	8,2	8,1	8,5	8,2
C ₄	0,2	8,1	8,2	8,1	8,4	8,2
C ₅	2	8,1	8,2	8,1	8,4	8,3
	Prom.	8,12	8,21	8,13	8,39	8,24
	DS	0,02	0,06	0,03	0,09	0,03

DS = Desviación estándar

ANEXO 35: Conductividad promedio con *Paracheiroidon innesi* expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

Cond. (µS/cm)	g/L	Días				
		6	8	10	14	16
Blanco	0	133	129	131	124	125
C ₁	0,0002	136	138	143	127	139
C ₂	0,002	134	137	135	127	139
C ₃	0,02	136	132	131	130	140
C ₄	0,2	134	140	145	129	142
C ₅	2	138	149	143	134	149
	Prom.	135,1	137,3	138,0	128,5	138,8
	DS	2,0	6,9	6,5	3,4	7,9

DS = Desviación estándar

ANEXO 36: Sólidos disueltos totales promedio con *Paracheiroidon innesi* expuesta a distintas concentraciones de sulfato de bario y sus formas solubles.

TDS (mg/L)	g/L	Días				
		6 d	8 d	10 d	12 d	14 d
Blanco	0	215	213	211	211	210
C ₁	0,0002	214	218	219	213	219
C ₂	0,002	214	219	221	213	220
C ₃	0,02	214	224	216	214	220
C ₄	0,2	218	219	221	213	220
C ₅	2	219	234	227	217	225
	Prom.	215,8	221,0	219,1	213,5	218,8
	DS	2,3	7,1	5,3	2,0	4,9

DS = Desviación estándar