

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA



**EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE METALES EN ALGAS MARINAS
VENEZOLANAS Y SU POSIBLE USO COMO BIOINDICADOR AMBIENTAL**

Trabajo Especial de Grado presentado
ante la ilustre Universidad Central de
Venezuela por la Br. María Carolina
Urdaneta Hurtado para optar al título
de Licenciada en Química.

Caracas, Octubre 2010

Los abajo firmantes designados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado:

“Evaluación del contenido de metales en algas marinas Venezolanas y su posible uso con bioindicador ambiental”. Presentado por la *Br. María Carolina Urdaneta Hurtado* certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.

Prof. Maria A. Álvarez

Prof. Rosa Amaro

Prof. Estrella Villamizar

Prof. Luis Gómez

Yo, Prof. María A. Álvarez, Investigadora del Centro de Química Analítica de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela y la Prof. Rosa Amaro Investigadora del Centro de Química Analítica de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela.

Certifico que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

“EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE METALES EN ALGAS MARINAS VENEZOLANAS Y SU POSIBLE USO COMO BIOINDICADOR AMBIENTAL”.

Que presenta la Br. María Carolina Urdaneta Hurtado, para aspirar al título de Licenciado en Química, ha sido realizado en el Centro de Química Analítica de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo nuestra dirección, durante los años 2009 y 2010, y con esta fecha autorizamos su presentación.

Caracas, 28 de Octubre del 2010

(Tutora)

(Tutora)

En este trabajo se realizó un estudio preliminar para establecer el contenido de los metales Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Cr, Ni, Pb, Cd y Hg en diferentes muestras de especies de algas marinas, localizadas en zonas de la costa central y de la isla de Margarita, Venezuela, con la finalidad de establecer posibles especies bioindicadoras y localidades con exposición contrastante.

El análisis químico de las muestras se realizó mediante FAAS, ETAAS y CV-AFS luego de llevarlas a solución, mediante su digestión en un microondas. En total se analizaron veintiséis muestras correspondientes a nueve especies de algas colectadas en once localidades. La colecta de las muestras fue realizada por el Prof. Gerard Haiek de la Facultad de Farmacia, UCV. Los datos fueron analizados empleando diferentes herramientas estadísticas (ANOVA de una y dos vías, Cluster Análisis, Correlaciones Múltiples y Análisis de Componentes Principales).

Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron concentraciones elevadas de Pb, Cu, Cr, Fe en la especie colectada en la localidad de la Marina Carrasco en Higuerote, la cual se diferenció significativamente del resto de las localidades, seguida de Taguao donde se encontraron concentraciones elevadas y diferentes significativamente de Ni. Las localidades menos expuestas correspondieron a las Playas de Cepe Edo Aragua, Playa Caribe en Chuspa y algunas Playas del Edo Nueva Esparta como Punta Arenas y Manzanillo.

Se encontraron dos posibles fuentes de origen de la entrada de los elementos a las aguas. Uno debido a los derrames de crudo que introducen los elementos Ni, y Cr que afectan principalmente la zona de Taguao, donde el crudo regularmente es descargado para su consumo en la planta eléctrica Ricardo Zuloaga. La herrumbre de

los tanqueros que traen el crudo introduciría al Fe. La segunda fuente sería el empleo de gasolina y combustibles por las embarcaciones en zonas turísticas, lo cual domina la concentración de Pb en las algas en las zonas como la Marina Carrasco de Higuero, el Muelle de Puerto Cabello y Chichiriviche de la Costa.

Aunque no se encontraron diferencias entre las especies de algas, en cuanto a su capacidad para su empleo como especies bioindicadoras, el amplio intervalo de concentraciones de los diferentes metales tóxicos encontrados en *Padina gymnospora* y *Ulva lactuca*, junto a su abundancia y presencia en varias de las zonas muestreadas, podría ser elementos para seleccionarlas para próximos estudios.

Este trabajo fue financiado por el proyecto CDCH UCV PG-06-7155-2008/1

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Contaminación acuática.....	4
2.2 Metales pesados	5
2.3 Estudios ambientales en aguas y especies biológicas en base a su contenido metálico.....	7
2.4 Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación	11
2.5 Algas como indicadores de contaminación	12
2.5.1 Requisitos que deben cumplir las algas para ser consideradas un bioindicador adecuado	15
2.5.2 Concentraciones de metales en algas	16
2.5.3 Análisis de metales en muestras de algas.....	16
2.6 Estudios realizados en algas marinas con el fin de ser utilizadas como bioindicadores de contaminación por metales	18
III. OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo General	23
3.2 Objetivos específicos	23
IV. PARTE EXPERIMENTAL	24
4.1 Equipos	24
4.2 Reactivos	25
4.3 Metodología	25

4.3.1 Muestreo.....	25
4.3.2 Tratamiento de las muestras	31
4.3.3 Análisis químico.....	32
a. Análisis de Hg mediante CV-AFS.....	32
b . Análisis multielemental de Cd, Cu, Ni, Cr y Pb mediante ETAAS	33
c . Análisis de Ca, Fe, Zn, Mg mediante FAAS.....	34
d. Determinación del contenido metálico en las muestras de algas	34
4.3.4. Estudio ambiental de las muestras	35
4.4 Lugar de trabajo	36
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
VI. CONCLUSIONES	58
VII. RECOMENDACIONES	59
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
IX. APÉNDICES	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales elementos considerados metales pesados.	6
Tabla 2. Clasificación de las aguas venezolanas(Decreto 883, 2005, Venezuela)	8
Tabla 3. Parámetros físicos, químicos y biológicos de las aguas saladas o salobres según el Decreto 883, 2005, Venezuela	9
Tabla 4. Límites máximos de calidad de los efluentes líquidos que sean o vayan a ser descargados, en forma directa o indirecta, al medio marino-costero (Venezuela)	10
Tabla 5. Concentraciones máximas de metales permitidas en aguas saladas, según la EPA	11
Tabla 6. Organismos que pueden ser empleados como indicadores de la calidad del agua	13
Tabla 7. Concentraciones de metales, esenciales y tóxicos en algas.....	17
Tabla 8. Análisis de metales en algas de agua de mar	19
Tabla 9. Estudios en Venezuela empleando líquenes como bioindicadores ambientales.	22
Tabla 10. Información sobre las muestras recolectadas.	27
Tabla 11. Programa de digestión de las algas en el digestor de Microondas	31

Tabla 12. Programa térmico para la determinación multielemental de Cd, Cu, Cr, Ni y Pb por ETAAS	33
Tabla 13. Condiciones instrumentales empleadas para las medidas en ETAAS	34
Tabla 14. Intervalo de concentración para la determinación de los elementos en algas mediante FAAS y CV-AFS.	34
Tabla 15. Límites de detección LOD, masas características <i>m_c</i> y % de recuperación...37	
Tabla 16. Género y especie de muestras recolectadas en diferentes localidades.	38
Tabla 17. Concentraciones obtenidas para todas las muestras analizadas	39
Tabla 18. Concentraciones ($\mu\text{g g}^{-1}$) determinadas en <i>Ulva rígida</i> proveniente del golfo de Thermaikos, Grecia	41
Tabla 19. Concentraciones promedio para cada localidad muestreada.	42
Tabla 20. Concentraciones promedio para cada especie de alga.....	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sitios de captación de las muestras de algas	29, 30
Figura 2. Esquema de digestión total para la disolución de las muestras de algas.....	31
Figura 3. Esquema para la oxidación de las muestras previo al análisis de Hg en algas por CV-AFS	32
Figura 4. Algunas especies de algas analizadas.....	38
Figura 5. Gráficos de la concentración promedio para las muestras analizadas.....	40
Figura 6. Gráficos de la concentración promedio en cada especie de alga.	44
Figura 7. Diagrama de cajas y bigotes para los elementos con diferencias significativas entre localidades.....	47
Figura 8. Diagrama de cajas y bigotes para los elementos con diferencias significativas en distintas especies	48
Figura 9. Diagrama de cajas y bigotes para los elementos con diferencias significativas entre localidades excluyendo Higuero Edo. Miranda	49
Figura 10. Gráficos de la interacción Especie - Zona para <i>Padina gymnospora</i> y <i>Ulva lactuca</i>	50
Figura 11. Dendograma obtenido para las muestras de algas	52
Figura 12. Correlaciones significativas obtenidas en la data.....	52
Figura 13. Correlación entre el Ca y el Mg	53
Figura 14. Correlaciones del Ni con otros elementos.....	54
Figura 15. Grafico de Análisis de componentes principales.....	55
Figura 16. Planta de generación eléctrica “Ricardo Zuloaga” (Taguao).....	57

I. INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental es uno de los factores con mayor incidencia en el deterioro de los recursos acuáticos del planeta. El análisis de sus causas y consecuencias, al igual que los mecanismos involucrados en su identificación y mitigación, es materia de preocupación para las autoridades ambientales y la comunidad científica mundial ^[1].

El ingreso de los metales pesados al ciclo hidrológico proviene de dos fuentes principales, las de origen litológico o geoquímico, cuyo aporte se da a partir de los minerales que por causas de meteorización y erosión son arrastrados al agua, y las de origen antrópico, debido a la actividad humana. De manera que, la minería, los procesos industriales y los residuos domésticos vienen a ser fuentes importantes que contribuyen al incremento de estos agentes contaminantes en el agua ^[2].

La contaminación por metales pesados es altamente peligrosa, ya que estos elementos no son degradables ni química ni biológicamente. Una vez emitidos, pueden permanecer en el ambiente durante cientos de años y su concentración en los seres vivos aumenta a medida que son ingeridos por otros, por lo que la ingesta de plantas o animales contaminados puede conducir a daños irreversibles por intoxicación ^[1].

En respuesta a una creciente preocupación por los efectos que, en los ecosistemas acuáticos, puedan generar las actividades antrópicas, las algas están siendo utilizadas como monitores ambientales, tanto para establecer la salud de los ecosistemas, como para deducir las condiciones ambientales del pasado y así poder inferir el futuro. De esta manera, se ha establecido una cantidad de programas de monitoreo a nivel mundial para valorar las condiciones ambientales de distintos sistemas acuáticos.

El monitoreo ha contribuido a valorar la respuesta de la comunidad algal a diferentes condiciones de salinidad, acidificación, toxicidad y contaminación química, mostrando la posibilidad de utilizar las algas como indicadores de calidad del agua ^[1].

Las algas son organismos muy antiguos que, prácticamente, habitan en todos los ecosistemas del planeta, presentando una amplia gama de tamaños, formas y estrategias ecológicas. Como lo demuestra la historia, el ser humano ha utilizado estos organismos desde tiempos inmemorables y a través de la ciencia, ha podido establecer la enorme importancia que representan en procesos ecológicos, actividades económicas, medicinales y ambientales. Numerosos productos para la industria química, farmacéutica y de alimentos son obtenidos a partir de algas, por lo que en muchos lugares se extraen en grandes volúmenes y en otros se cultivan masivamente ^[1].

Para emplear las especies de algas como un bioindicador de un sistema acuático, es importante determinar las especies de algas que cumplen con una serie de requisitos para ser consideradas como indicadores adecuados en estudios ambientales, así como observar su comportamiento en diferentes sistemas acuáticos, con el fin de poder realizar comparaciones posteriores de distintos tipos de contaminación, y de esta manera, diagnosticar la salud de los ecosistemas acuáticos y desarrollar estrategias de manejo y conservación de los mismos.

El monitoreo es una de las herramientas de vital relevancia para la gestión ambiental, ya que permite evaluar las tendencias temporales y espaciales de la calidad o estado de salud del ambiente. Dicha herramienta permite: (1) implementar acciones “*a priori*” evitando que la degradación ambiental adquiera un carácter irreversible, (2) evaluar los efectos de la introducción de contaminantes al ambiente, (3) identificar las fuentes de contaminación y, (4) desarrollar criterios de calidad ambiental con fines regulatorios ^[3].

Bajo este enfoque, se propone el análisis de diferentes especies de algas de distintas localidades de la costa venezolana y de la isla de Margarita, Venezuela con el fin de observar su comportamiento en la absorción de los metales pesados Ca, Fe, Zn, Mg, Pb, Cd, Ni, Cr, Cu y Hg. Esta información permitirá, en estudios posteriores, determinar su utilidad como bioindicadores de contaminación.

El muestreo será llevado a cabo con el apoyo de la Facultad de Farmacia y la determinación del contenido metálico se realizará a través de técnicas analíticas basadas en la espectrometría atómica, la Espectrometría de Absorción Atómica Electrotérmica (ETAAS), Espectrometría de Fluorescencia Atómica con Vapor Frio (CV-AFS) y Espectrometría de absorción atómica con llamas (FAAS)) en el Centro de Química Analítica de la Universidad Central de Venezuela.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La contaminación es un problema ambiental que afecta a nuestro planeta, y se produce por la adición de cualquier sustancia al medio ambiente, en cantidades tales que cause efectos adversos en los seres humanos, animales, vegetales, materiales o en el funcionamiento natural del ecosistema, a corto o a largo plazo ^[4]. A las sustancias o formas de materia que causan estos efectos se le denomina contaminantes tóxicos ^[1].

2.1 Contaminación acuática

El agua contiene pequeñas concentraciones naturales de metales pesados que son necesarios para el desarrollo de los organismos vivos y no resultan perjudiciales para el ecosistema. El problema surge cuando un aumento de la concentración natural de estos elementos los convierte en sustancias tóxicas para los organismos y su acumulación en la cadena trófica puede volverlos también tóxicos para el hombre ^[1].

La contaminación acuática es uno de los tipos de contaminación más frecuente, y puede surgir a partir de factores naturales, o bien debido a diferentes procesos desarrollados por el hombre a los cuales se denominan factores antrópicos ^[5]. Entre estos últimos se encuentran las industrias, las descargas urbanas, la navegación, la agricultura, la ganadería, el turismo y las actividades diarias del hombre ^[1].

La contaminación antrópica en las aguas puede provenir de varias fuentes, ya sean puntuales o difusas. La contaminación puntual ocurre en zonas de descargas de efluentes cloacales, aguas servidas, sumideros o desagüe de fábricas. Por el contrario, las fuentes difusas se deben a arrastres desde otras zonas o bien por percolación de

soluciones ^[6]. Esta es una de las principales causas que contribuye con la entrada de los metales en el agua salada, durante los periodos de lluvia ^[7].

A medida que el hombre satisface sus necesidades y el desarrollo industrial se acentúa cada vez más, la calidad de las aguas se ha visto cada vez más afectada. Por esta razón, en los últimos años un gran número de agencias ambientales de todo el mundo han desarrollado métodos para la evaluación de la calidad del agua basados en la utilización de comunidades biológicas como indicadores de contaminación, a fin de establecer una alternativa de monitoreo de la calidad de las aguas ^[8].

Así mismo, las precipitaciones son uno de los factores que afectan en mayor grado la concentración de metales pesados solubles en los cuerpos de aguas, tal como lo observaron González *et al.* (1983) ^[9], quienes observaron que los niveles de Cd, Pb, Zn y Cu aumentaron drásticamente en los sistemas acuáticos en el otoño tras una fuerte sequía. Lo que ocurre con las precipitaciones es que las aguas de escorrentías se enriquecen de metales, los cuales fluyen hasta los sistemas acuáticos aumentando drásticamente la concentración de los mismos cambiando sus características físicas y químicas.

2.2 Metales pesados

Se denominan metales pesados aquellos que tienen una densidad superior a $5.0 \text{ g (cm}^3\text{)}^{-1}$. Dentro de esta categoría se encuentran una gran cantidad de elementos químicos ^[1]. En la Tabla 1 se muestran los principales elementos que pueden ser considerados metales pesados ^[10].

Tabla 1. Principales elementos considerados metales pesados ^[10].

Elemento	Nº atómico	Elemento	Nº atómico
Berilio (Be)	4	Arsénico (As)*	33
Aluminio (Al)	13	Selenio (Se) **	34
Vanadio (V)	23	Molibdeno (Mo)	42
Cromo (Cr)	24	Plata (Ag)	47
Manganeso (Mn)	25	Cadmio (Cd)	48
Hierro (Fe)	26	Estaño (Sn)	50
Cobalto (Co)	27	Bario (Ba)	56
Níquel (Ni)	28	Mercurio (Hg)	80
Cobre (Cu)	29	Talio (Tl)	81
Zinc (Zn)	30	Plomo (Pb)	82

* semi-metal, ** no metal

Algunos de los metales pesados son esenciales para la vida. Por ejemplo, el hierro forma parte de la hemoglobina de la sangre y el cobalto de la vitamina B -12, siendo también un activador de enzimas. Al igual que el manganeso, el cobre y el zinc participan en la síntesis de enzimas y el molibdeno participa en los procesos de transferencia de electrones. Sin embargo los metales esenciales pueden convertirse también en metales tóxicos si su concentración sobrepasa la concentración óptima para los organismos como el caso del cobre ^[1].

El plomo y el mercurio forman parte de los metales considerados como muy tóxicos, sobre los que se han realizado la mayor cantidad de estudios de toxicidad y bioacumulación, ya que la mayoría de éstos no cumplen ninguna función nutritiva, bioquímica ni fisiológica, por lo que se acumulan en los organismos causando daños adversos ^[1].

Es importante destacar que los mecanismos biológicos para la eliminación del mercurio son deficientes, por lo cual este metal se biomagnifica (acumulación progresiva) a lo largo de la cadena alimenticia. En bajas concentraciones, es

sumamente tóxico tanto para animales como para plantas; en consecuencia un aumento sobre los niveles de referencia, podría tener efectos perjudiciales sobre cualquier organismo expuesto ^[1].

2.3 Estudios ambientales en aguas y especies biológicas en base a su contenido metálico

Uno de los principales criterios para determinar la cantidad de metales en un sistema natural, se basa en comparar las concentraciones de los metales analizados con los valores máximos permitidos para un ambiente determinado, los cuales son establecidos por organismos nacionales e internacionales.

En Venezuela, la contaminación acuática ha sido un tema trascendental por lo cual el Ministerio del Poder Popular para el Ambiente (MinAmb) ha establecido un conjunto de normas en las cuales se clasifica a las aguas en varios tipos, de acuerdo a su uso, estableciéndose para cada una de ellas características como: oxígeno disuelto, concentración de metales, color, turbidez, fluoruros, pH, etc.

De acuerdo al artículo 6º del Decreto 883, 2005 ^[11] de la Gaceta Extraordinaria de Venezuela, la clasificación de los cuerpos de agua o sectores de éstos, se utilizará sólo a efectos de la gestión de la calidad de las aguas, para garantizar sus usos mediante el control de los vertidos de efluentes líquidos. Esta clasificación atenderá a una condición de la calidad de los cuerpos de agua o sectores de éstos, reconociendo que la mejor calidad es aquella que permite la mayor cantidad de usos ambientales y sociales, los cuales se ven restringidos a medida que la calidad disminuye. Las características de esta clasificación aparecen detalladas en la Tabla 2.

Tabla 2. Clasificación de las aguas venezolanas (Según Decreto 883, 2005, Venezuela)

TIPO DE AGUA	USOS ASOCIADOS
EXCELENTE O CLASE 1	Fuente de abastecimiento previo acondicionamiento para uso doméstico, protección de las comunidades hidrobiológicas, recreación de contacto total, riego de hortalizas y legumbres consumidas en crudo y frutas sin remoción de piel, riego de cultivos arbóreos, cereales y de forraje, cría natural o intensiva (acuicultura) de especies destinadas a la alimentación humana, abrevadero de animales, armonía paisajística, comercio y navegación, industrial.
MUY BUENA O CLASE 2	Fuente de abastecimiento previo acondicionamiento para uso doméstico, protección de las comunidades hidrobiológicas, recreación de contacto total, riego de hortalizas y legumbres consumidas en crudo y frutas sin remoción de piel, riego de cultivos arbóreos, cereales y de forraje, cría natural o intensiva (acuicultura) de especies destinadas a la alimentación humana, abrevadero de animales, armonía paisajística, comercio y navegación, industrial.
BUENA O CLASE 3	Fuente de abastecimiento previo acondicionamiento para uso doméstico, recreación de segundo contacto, riego de cultivos arbóreos, cereales y de forraje, cría natural o intensiva (acuicultura) de especies destinadas a la alimentación humana, abrevadero de animales, armonía paisajística, comercio y navegación, industrial.
ACEPTABLE O CLASE 4	Armonía paisajística; comercio y navegación; industrial.

* Las Aguas salobres cuya salinidad está entre 0.5 % y 30 % y las aguas saladas con salinidades iguales o superiores a 30 % podrán ser excelentes, muy buenas, buenas o aceptables, de acuerdo a los criterios establecidos en esta normativa, sin considerar los parámetros relativos a salinidad ni los usos destinados a riego.

De acuerdo al artículo 2º del Decreto 883, 2005 ^[11] de la Gaceta Extraordinaria de Venezuela, las acciones de conservación y mejoramiento estarán dirigidas principalmente a la reducción o prevención de la generación de efluentes, el mejoramiento de la calidad del efluente, el empleo de tecnologías más limpias de producción, el establecimiento de límites máximos de elementos contaminantes en los vertidos, así como las prácticas de reciclaje y reúso. Algunos de los parámetros físicos, químicos y biológicos, para cada uso se presentan a continuación en la Tabla 3 ^[11].

Tabla 3. Parámetros físicos, químicos y biológicos de las aguas saladas o salobres según el Decreto 883, 2005, Venezuela ^[11].

Parámetro	Límite máximo Clase 1 (mg/L)	Límite máximo Clase 2 (mg/L)	Límite máximo Clase 3 (mg/L)	Límite máximo Clase 4 (mg/L)
Aluminio	0,2	0,2	1	2
Arsénico	0,01	0,05	0,05	10,05
Bario	0,7	0,7	1	1
Berilio	0,004			
Boro	0,3	0,3	1	5
Cadmio	0,003	0,003	0,005	0
Calcio	200	200	200	
Cobre total	0,2	0,2	0,2	2
Cromo total	0,05	0,05	0,05	1
Hierro	1	1	5	5
Litio		2,5	2,5	
Magnesio	70	70	70	
Manganeso	0,1	0,2	0,2	
Mercurio total	0,001	0,001	0,001	0
Molibdeno	0,01	0,01	0,01	
Níquel	0,02	0,02	0,2	
Plata	0,05	0,05	0,05	0
Potasio		20	20	
Plomo	0,01	0,01	0,05	0
Selenio	0,01	0,02	0,02	0
Sodio	140	140		
Vanadio	0,1	0,1	0,1	
Zinc	5	5	5	5
Bicarbonatos		370	370	
Carbonatos		5	5	
Cianuro total	0,07	0,07	0,2	0
Cloruros	300	250	250	
Fluoruros	<1,5	1,5	< 1,5	<1,5
Nitritos + Nitratos (N)	10	10	no específica	
Sulfatos	340	340	340	
Oxígeno Disuelto	> 5	> 5	>5 o al 60% del valor de saturación	> 2
pH	6,5 -8,5	6,5 – 8,5	6,5 – 8,5	3,8-10,5
Sólidos disueltos totales	1300	1300	1300	
Conductividad E.(μS/cm)		2000		
Biocidas	0,1			0
Organofosforados				
Biocidas Organoclorados	0,02			0

(**) Aplica solo a aguas salobres o saladas

A los efectos del Decreto 883, 2005 ^[11] de la Gaceta Extraordinaria de Venezuela se establecen los siguientes límites máximos de calidad de los efluentes líquidos que sean o vayan a ser descargados, en forma directa o indirecta, al medio marino-costero, siempre y cuando el cuerpo de agua objeto de la descarga, no haya sido clasificado o posea una reglamentación específica sobre vertido de efluentes líquidos (Ver Tabla 4) ^[11].

Tabla 4. Límites máximos de calidad de los efluentes líquidos que sean o vayan a ser descargados, en forma directa o indirecta, al medio marino-costero (Venezuela) ^[11].

Parámetros	Límite o rango de cumplimiento (mg/L)
Aluminio	5
Arsénico	0,5
Bario	5
Cadmio	0,2
Cobalto	0,5
Cobre	2
Cromo	0,5
Mercurio	0,01
Níquel	2
Nitrógeno	40
Plata	0,1
Plomo	0,5
Selenio	0,05
Zinc	5
Cianuro	0,2
Fluoruros	5
Fósforo	10
Sulfuros	2
Demanda Química de Oxígeno	350
pH	6-9
Sólidos flotantes	Ausentes
Sólidos suspendidos	80
Sólidos sedimentados	1

Igualmente, la Environmental Protection Agency (EPA) ^[12] de Estados Unidos ha establecido los valores máximos permitidos de algunos metales para aguas de mar, los cuales se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Concentraciones máximas de metales permitidas en aguas saladas, según la EPA ^[12].

Contaminante	Concentración
As	69
Au	1,9
Cd	40
Cu	4,8
Cr	0,016
Fe	----
Mn	----
Hg	1,8
Se	290
Ni	74
Pb	210
V	----
Zn	90

* Concentraciones en $\mu\text{g L}^{-1}$

2.4 Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación

La flora y la fauna acuática crecen y se desarrollan en condiciones químicas y físicas características. Las alteraciones naturales o antrópicas del marco ambiental repercuten en la distribución y sobrevivencia de los organismos ^[13]. Actualmente, se reconoce que el estudio de los organismos acuáticos podría proporcionar una información más compleja sobre la calidad del agua, que la calificación directa de la misma ^[14]. Basado en este concepto, se desarrolla el empleo de bioindicadores como un método para medir la calidad del agua.

Un indicador es un componente de medición asociado a un factor de riesgo, que proporciona una medida cuantitativa o cualitativa de su evolución, en magnitud a un fenómeno. Específicamente, los bioindicadores son organismos o comunidad de organismos, cuya presencia indica alguna condición medioambiental definida y que responden, fisiológica o conductualmente, a un amplio espectro de sustancias o concentraciones tóxicas, sean éstas de origen orgánico o inorgánico, natural o de influencia humana ^[15].

Un elemento importante es la elección del organismo indicador, que en parte está asociado al tipo de contaminación ^[13].

Los metales trazas son tóxicos para los organismos acuáticos y también son significativamente acumulados por numerosas especies marinas. Las bacterias, hongos, peces, mejillones y algas, han demostrado poseer la capacidad de absorber metales pesados en diferentes ambientes. En particular, las macroalgas son reconocidas por concentrar los metales hasta niveles muchas veces más elevados que los que se encuentran en las aguas circundantes ^[14].

En la Tabla 6 se muestra un grupo de organismos que pueden ser empleados como indicadores de la calidad del agua, así como las principales ventajas y desventajas de su empleo como indicadores ^[13].

2.5 Algas como indicadores de contaminación

Las algas son un conjunto de organismos vegetales, que carecen de raíz, tallo, y hojas verdes. Contienen clorofila, por lo que pueden realizar la fotosíntesis. Viven en hábitats acuáticos y lugares húmedos. El cuerpo del alga puede ser unicelular o pluricelular en forma de filamento, de cinta o de lámina. Aunque se encuentran calificadas actualmente como plantas, éstas forman un reino propio llamado protista,

asignándosele una división individual según la composición de su pared celular, las características de sus reservas alimenticias o la presencia de otros pigmentos fotosintéticos ^[16].

Tabla 6. Organismos que pueden ser empleados como indicadores de la calidad del agua ^[13].

Organismo	Ventajas	Desventajas
Bacterias	Metodología rutinaria bien desarrollada; respuesta rápida a cambios incluyendo contaminación. Indicadores de contaminación fecal. Fácil muestreo.	Células que no han sido originadas en el punto de muestreo. Poblaciones recuperadas rápidamente de una contaminación intermitente. Se requiere equipo especial.
Protozoarios	Valores sapróbicos bien conocidos. Rápida respuesta a cambios. Fácil muestreo.	Buena habilidad y conocimiento para identificar taxones. Células que no han sido originadas en el punto de muestreo.
Algas (fitoplancton)	Tolerantes a la contaminación bien documentada. Indicadores utilizados para la eutroficación e incremento de turbidez.	Experiencia en taxonomía. Problemas de muestreo con ciertos grupos. No muy usadas para la contaminación orgánica severa.
Macro-invertebrados	Diversidad de formas y hábitats. Muchas especies sedentarias que pueden identificar efectos en el sitio de muestreo. Todas las comunidades responden al cambio. Especies de larga vida. Pueden indicar efectos de contaminación en el tiempo.	Dificultades cuantitativas de muestreo. Sustrato importante durante las muestras. Algunas especies se deben transportar en aguas en movimiento. Conocimiento necesario de su ciclo de vida. Algunos grupos tienen dificultad para su identificación.
Macrofitas	Especie fija a un sustrato, usualmente con facilidad de verse e identificarse. Buenos indicadores de material suspendido y enriquecimiento de nutrientes.	Respuesta a la contaminación no bien documentada frecuentemente a contaminación intermitente. Presencia principalmente estacional
Peces	Método bien desarrollado. Efecto fisiológico inmediato obvio. Pueden indicar el efecto en la cadena alimenticia. Fácil identificación.	Las especies pueden migrar para evitar la contaminación.

Dentro de las algas, las más utilizadas como bioindicadores de contaminación ambiental son las algas marinas, las cuales son plantas propias del medio acuático salado que, en atención a su color se dividen en pardas, rojas o verdes. Las algas pardas (*Phaeophyta*) deben su color a la fucoxantina. Las que crecen en costas rocosas son muy características ya que poseen gran tamaño y son utilizadas como fertilizante por su riqueza en sales minerales. Dentro de este grupo también se encuentran las algas tóxicas, las cuales son venenosas debido a la contaminación del mar por productos químicos de las aguas residuales, fertilizantes y pesticidas. Otras no menos importantes son las algas rojas (*Rhodophyta*) y las algas verdes (*Chlorophyta*) [16], [17].

La pared celular de las algas se compone de una variedad de polisacáridos y proteínas. Algunas de estas proteínas contienen grupos carboxílicos, sulfatos o fosfatos que son excelentes lugares para la retención de metales [14].

Las macroalgas ligan iones metálicos libres, únicamente mediante dos procesos fisicoquímicos. El primero es rápido y reversible e involucra la absorción del ión metálico sobre la superficie externa de la pared celular. Este proceso puede ser iónico ó por formación de complejos con los ligandos de la pared celular. Los polímeros que componen la pared celular son ricos en grupos carboxílicos, fosforílicos, hidróxilos y aromáticos que pueden ligar cationes o producir complejos orgánicos que pueden influir en la absorción de metales. El segundo mecanismo de incorporación de metales es más lento, está regulado por el metabolismo celular y los metales se almacenan en el citoplasma, en vacuolas ricas en polifenoles. Como producto de esta acumulación, las algas pueden alcanzar contenidos de elementos traza de varios órdenes de magnitud más elevados con respecto al de las aguas [17]. Este contexto causa preocupación debido a que los metales bioacumulados en los tejidos de las algas, pueden ser transferidos a otros niveles tróficos, incluyendo al hombre.

Las algas son organismos acuáticos capaces de indicar la calidad del agua gracias a su sensibilidad a los cambios del medio en el que viven, por lo tanto se convierten en una referencia del estado ecológico de cualquier sistema acuático. Estas se encuentran entre los organismos más adecuados para realizar estudios de contaminación por metales pesados en los ecosistemas acuáticos. A menudo han sido utilizadas como bioindicadores de contaminación de metales pesados en agua de mar, ya que son organismos que persisten en el tiempo, poseen la capacidad de acumular metales y se encuentran en los lugares propensos a la contaminación ^[7].

La utilidad del empleo de las algas para monitorear los metales en el medio acuático, se basa en el hecho de que estas especies responden básicamente a los metales presentes en solución en las aguas estudiadas. Además, se reconoce que las comunidades de algas podrían proveer una información más compleja sobre la calidad del agua que el estudio directo de la misma, llevando a cabo pruebas químicas, en lugares y tiempos definidos ^[14].

Específicamente, en las algas, se produce una bioacumulación de elementos presentes en el medio donde crecen o se cultivan, llegando a constituir entre el 5% y el 20% de su materia seca ^[18].

2.5.1 Requisitos que deben cumplir las algas para ser consideradas un bioindicador adecuado

Solo algunos organismos que cumplen una serie de requisitos previos han demostrado ser bioindicadores adecuados, ya que deben tener una amplia distribución en las aguas costeras, fácil reconocimiento y la posibilidad de identificar a los individuos de diferentes edades. Además, la concentración de metales varía con la edad del organismo así como en diferentes partes de la planta, siendo en general, mayor en las

partes más antiguas de las algas y menor en las puntas de crecimiento rápido, ya que las partes viejas de las algas están expuestas al ambiente por más tiempo que las partes jóvenes, al igual que ocurre con las algas más antiguas, en las cuales su tiempo de exposición a las aguas circundante es mayor ^[14].

De manera adicional, estos organismos deben persistir en el tiempo y poseer la capacidad de acumular metales. Adicional a que se encuentren en los lugares propensos a la contaminación, éstos organismos deben ser abundantes en toda la zona de estudio, fáciles de identificar taxonómicamente y de fácil recolección ^[7].

2.5.2 Concentraciones de metales en algas

Es de importancia conocer cuales metales son esenciales para las algas y cuales resultan tóxicos, ya que algunos de ellos, a pesar de no ser dañinos, al aumentar sus niveles normales llegan a convertirse en un factor perjudicial tanto para las algas como para cualquier organismo vivo. Hay algunas especies de algas que poseen la capacidad natural de desarrollar mecanismos de adaptación para la descontaminación, incluyendo la liberación extracelular de ciertos compuestos ^[14]. En la Tabla 7 se muestran las concentraciones de algunos metales pesados en diferentes algas.

2.5.3 Análisis de metales en muestras de algas

En el estudio del contenido metálico en algas marinas se encuentran diferentes trabajos, los cuales se citan en la Tabla 8. En estos trabajos se observa que en la mayoría, las muestra se trata previamente mediante liofilización y se lleva a solución mediante altas temperaturas y empleando mezclas de ácidos. También se observa la importancia de la digestión asistida por horno microondas.

Tabla 7. Concentraciones de metales esenciales y tóxicos de algas, de la Antártica ($\mu\text{g/g}$) ^{[14], [17]}.

Especie	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn
<i>Ascoseira mirabilis</i> ^[14]	42,2±1,9	1,66±0,10	26,4±1,2	3,80±0,21	9,11±0,31	75,1±4,0	2,02±0,11
<i>Ascoseira mirabilis</i> ^[17]		1,70 ± 0,10		3,8±0,2	9,1±0,3	81±4	
<i>Palmaria decipiens</i> ^[14]	9,80±0,41	0,24±0,01	139±5	2,05±0,10	6,03±0,22	260±9	4,01±0,20
<i>Palmaria decipiens</i> ^[17]		0,20±0,01		2,2±0,1	6,0±0,2	255±9	
<i>Desmarestia anceps</i> ^[14]	28,7±1,3	1,00±0,06	155±6	3,25±0,19	4,05±0,22	108±4	2,00±0,11
<i>Monostroma hariotti</i> ^[14]	6,59±0,29	<0,1	357±10	11,1±0,6	15,2±0,6	3,095±35	4,09±0,20
<i>Adenocystis utricularis</i> ^[14]	32,6±1,4	10,4±0,67	50,2±2,7	1,80±0,09	1,54±0,07	325±13	5,51±0,30
<i>Desmarestia antarctica</i> ^[14]	52,8±2,2	<0,10	301±11	2,70±0,17	<0,20	35,2±1,1	1,52±0,09
<i>Desmarestia antarctica</i> ^[17]		<0,10		2,8±0,2	<0,20	32±1	
<i>Himantothallus grandifolius</i> ^[14]	112±4	<0,10	389±14	3,60±0,19	1,00±0,05	23,6±1,0	0,53±0,03
<i>Iridaea cordata</i> ^[14]	27,7±1,5	0,55±0,02	82,3±3,0	4,26±0,21	<0,20	45,4±2,0	1,51±0,10
<i>Iridaea cordata</i> ^[17]		0,65±0,02		4,3 ± 0,2	<0,20	48±2	
<i>Phaeurus antarcticus</i> ^[14]	61,4±2,9	0,70±0,04	182±7	12,1±0,77	4,11±0,22	1400±30	17,1±0,8
<i>Phaeurus antarcticus</i> ^[17]		0,75±0,04		12,1±0,8	4,1±0,2	1630±30	
<i>Georgiella confluens</i> ^[14]	4,99±0,32	0,45±0,02	2,40±0,1	7,23±0,47	11,4±0,5	37,0±1,0	0,33±0,02
<i>Myriogramme mangini</i> ^[14]	5,00±0,22	2,20±0,14	38,3±2,4	1,60±0,06	9,50±0,45	75,3±3,3	6,54±0,40
<i>Myriogramme mangini</i> ^[17]		2,40±0,14		1,6±0,1	10,0±0,4	75±3	

Especie	Mo	Ni	Pb	Se	Sr	V	Zn
<i>Ascoseira mirabilis</i> ^[14]	<0,6	–	<0,6	<0,6	307±12	1,30±0,06	13,3±0,6
<i>Ascoseira mirabilis</i> ^[17]			<0,6			1,1±0,1	13,3±0,6
<i>Palmaria decipiens</i> ^[14]	0,80±0,05	8,16±0,42	<0,6	1,54±0,08	12,5±0,6	6,29±0,28	8,02±0,30
<i>Palmaria decipiens</i> ^[17]			<0,6			6,3±0,3	8,0±0,3
<i>Desmarestia anceps</i> ^[14]	<0,6	8,64±0,44	<0,6	<0,6	472±13	3,39±0,12	<0,1
<i>Monostroma hariotti</i> ^[14]	<0,6	4,68±0,24	1,57±0,08	6,54±0,27	47,4±2,2	38,4±0,8	15,0±0,6
<i>Adenocystis utricularis</i> ^[14]	<0,6	3,96±0,23	1,40±0,07	<0,6	367±14	3,99±0,14	<0,1
<i>Desmarestia antarctica</i> ^[14]	<0,6	1,80±0,11	<0,6	<0,6	296±9	0,10±0,01	6,32±0,22
<i>Desmarestia antarctica</i> ^[17]			<0,6			0,10±0,01	6,3±0,2
<i>Himantothallus grandifolius</i> ^[14]	<0,6	8,28±0,47	<0,6	<0,6	500±9	2,19±0,13	2,50±0,16
<i>Iridaea cordata</i> ^[14]	<0,6	3,36±0,14	1,60±0,08	<0,6	38,6±1,6	2,10±0,14	<0,1
<i>Iridaea cordata</i> ^[17]			1,6±0,1			2,1±0,1	<0,1
<i>Phaeurus antarcticus</i> ^[14]	<0,6	8,76±0,42	7,59±0,42	<0,6	400±11	15,0±0,6	5,04±0,30
<i>Phaeurus antarcticus</i> ^[17]			8,7±0,4			18,0±0,6	5,0±0,3
<i>Georgiella confluens</i> ^[14]	1,02±0,05	6,12±0,21	1,23±0,05	<0,6	12,0±0,5	4,84±0,24	<0,1
<i>Myriogramme mangini</i> ^[14]	<0,6	2,40±0,13	4,90±0,23	<0,6	6,05±0,25	0,50±0,03	<0,1
<i>Myriogramme mangini</i> ^[17]			4,3±0,2			0,50±0,01	<0,1

La determinación de los metales traza se realiza generalmente mediante ICP-OES, debido a su capacidad multielemental. Sin embargo, el análisis se ve restringido por los límites de detección, que a veces no permite el análisis de algunas trazas tóxicas de metales, por lo que se emplean también técnicas más sensibles como ICP-MS y ETAAS.

2.6 Estudios realizados en algas marinas con el fin de ser utilizadas como bioindicadores de contaminación por metales

Farías *et al.* (2002) ^[14] realizaron estudios de metales trazas tóxicos y esenciales en once especies de algas de la Antártica. Los metales cuantificados fueron As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sr, V, y Zn. Las muestras se llevaron a solución mediante la digestión asistida por microondas y los elementos se determinaron por plasma inductivamente acoplado con espectrometría de emisión óptica (ICPOES). Los niveles más altos de elementos trazas se encontraron en *Monostroma Hariotii* y *Phaeurus antarcticus* con concentraciones de hasta 3.095 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Fe. Debido a los niveles de elementos trazas encontrados en *Monostroma hariotii* y su amplia distribución en la Península Antártica, este organismo puede ser considerado como un adecuado biomonitor para futuros estudios.

Vodopivec C. *et al.* (2004) ^[17] continuaron con el estudio de Farías *et al.* (2002) ^[14], encontrando que los mayores niveles de metales se hallaron en *Phaeurus Antarcticus*. En este trabajo se discute su posible empleo como biomonitor de metales pesados en los ecosistemas marinos costeros de la península Antártica.

Otro trabajo es el de Klimmek *et al.* (2001) ^[19] el cual evaluó la capacidad de 30 cepas de algas para observar su acumulación de metales pesados como Cd, Ni, Pb y Zn. La cuantificación de los metales se realizó mediante espectrometría de absorción atómica con atomización electrotermia (ETAAS).

Tabla 8. Análisis de metales en algas de agua de mar ^{[14], [7], [20]}.

Autor	Especies	Metales	Tratamiento de la muestra	Técnica Analítica
Fariás <i>et.al</i> ^[14]	<i>Ascoseira mirabilis</i> <i>Palmaria decipiens</i> <i>Desmarestia anceps</i> <i>Monostroma hariotti</i> <i>Adenocystis utricularis</i> <i>Desmarestia antarctica</i> <i>Himantothallus grandifolius</i> <i>Iridaea cordata</i> <i>Phaeurus antarcticus</i> <i>Georgiella confluens</i> <i>Myriogramme mangini</i>	As Cd Co Cr Cu Fe Mn Mo Ni Pb Se Sr V Zn	Digestión acida asistida por microondas. * Procedimiento previo: secado en horno a 80 °C, homogenizadas y pulverizadas * Procedimiento de digestión MW utiliza para mineralizar las muestras de algas: - Peso de la muestra: 0.5 g. - Reactivos: 8 ml HNO ₃ + 2 ml H ₂ O ₂ + 2 ml HF (Primer ciclo MW). 2 ml HNO ₃ + 2 ml HClO ₄ (segundo ciclo MW) - Volumen final 50 ml.	(ICPOES)
Wallenstein <i>et al</i> ^[7]	<i>Corallina elongata</i> <i>Gelidium microdon</i> <i>Osmundea truncata</i> <i>Porphyra sp</i> <i>Cystoseira humilis</i> <i>Fucus spiralis</i>	Ca Cd Co Cs Cu Fe Hg K Mg Mn Ni Pb Rb Se Zn	Digestión asistida por microondas. * Procedimiento previo: lavadas con agua destilada + secado en horno a 80 °C hasta peso cte. * Procedimiento de digestión MW utiliza para mineralizar las muestras de algas: - Peso de la muestra: 0.5 g. - Reactivos: 5 ml HNO ₃ + 3 ml H ₂ O ₂ (Primer ciclo MW). 0.1 ml HF + 3.5 ml HCl (segundo ciclo MW)	(HR-ICP-MS)
Sagredo C. <i>et al</i> ^[20]	<i>Durvillaea antarctica</i>	Zn Cd Pb Cu	* Procedimiento previo: lavadas con agua de mar + agua destilada + secadas en la estufa a 60 °C. * Procedimiento para el programa de ataque de digestión: - Peso de la muestra: 1 g + estufa a 70 °C - Reactivos: 3 mL HCL + 1 HNO ₃ + estufa a 70 °C.. HClO ₄ + estufa a 70 °C. HF + estufa a 70 °C. Lavadas con HCL 2M - Volumen final 25 ml.	Voltametría de redisolución anódica

Tabla 8 – continuación. Análisis de metales en algas de agua de mar ^{[17], [19]}.

Autor	Especies	Metales	Tratamiento de la muestra	Técnica Analítica
Vodopivec C. et al. ^[17]	<i>Ascoseira mirabilis</i> <i>Palmaria decipiens</i> <i>Desmarestia antarctica</i> <i>Iridaea cordata</i> <i>Phaeurus antarcticus</i> <i>Myriogramme mangini</i>	Cd Cr Cu Fe Pb V Zn	Digestión ácida asistida por microondas. * Procedimiento previo: lavadas con agua de mar desmineralizada liofilizadas * Procedimiento de digestión MW utiliza para mineralizar las muestras de algas: - Peso de la muestra: 0.5 g. - Reactivos: 8 ml HNO ₃ + 2 ml H ₂ O ₂ + 2 ml HF (Primer ciclo MW). 2 ml HNO ₃ + 2 ml HClO ₄ (segundo ciclo MW) - Volumen final 50 ml.	(ICPOES).
Klimmek et al. ^[19]	30 cepas de algas	Cd, Ni, Pb y Zn		(ETAAS)

De igual forma Wallenstein *et al.* (2008) ^[7] realizaron estudios para proporcionar los niveles de referencia de un conjunto de elementos en las algas inter-mareales, que se producen abundantemente en cuerpos rocosos alrededor de la isla de São Miguel (Azores). Comparando los resultados, entre zonas no urbanas con los afectados por el desarrollo urbano o por actividad de aguas hidrotermales, encontraron que los niveles de metales en macroalgas varían en función de varios factores ambientales. Por lo tanto, se debe tener precaución cuando se comparan los niveles de metales entre distintas zonas con diferentes características. De igual forma, afirman que las algas que concentraron mayor cantidad de metales fueron las que se encontraban en las partes más profundas, factor que podría favorecer el intercambio de los elementos con el agua de mar circundante.

Los resultados obtenidos por Sagredo *et al.* (2007) ^[20] concluyen en que la concentración de Cd en la *Durvillaea antarctica* sobrepasa los niveles estipulados en las normas chilenas para aguas saladas, por lo que el consumo de esta alga, que es tipo comercial y se emplea para el consumo alimentario, debe ser controlado.

En Venezuela se han realizado estudios ambientales, empleando bioindicadores, sin embargo hasta donde conocemos, no se encontraron estudios con el uso de algas como organismo bioindicador. En Venezuela así como en Latinoamérica se está empleando los líquenes u hongos liquenizados como bioindicadores. Los trabajos más importantes realizados corresponden a los de Quijada ^[21] y Requiz ^[22]. Tampoco se puede dejar de mencionar la revisión bibliográfica realizada por Hawksworth, Iturriaga y Crespo ^[23] sobre los líquenes como bioindicadores en general en Latinoamérica. La búsqueda de la estandarización del uso de los líquenes como bioindicadores en Venezuela como un método efectivo y de bajo costo lleva a la necesidad del conocimiento preciso de la diversidad de la liquenobiota en el país ^[24]. En la Tabla 9 se citan algunos trabajos realizados con organismos utilizados como bioindicadores de contaminación ambiental.

El uso de bioindicadores ambientales es cada vez mas citado en la literatura científica, recientes estudios se han enfocado en el uso y los atributos de las algas como organismos indicadores de contaminación. También se han evaluado los efectos de la concentración de determinados metales sobre algunas especies de algas con el fin de proponerlas como posibles monitores de contaminación de metales pesados en ambientes acuáticos ^[25]. El uso de especies que hiperacumulan metales solo se ha documentado en los últimos veinte años, y hasta el momento se conoce por lo menos 45 familias de especies capaces de acumular metales ^[26]. Algunas de ellas pueden acumular Cu, Co, Cd, Mn, Ni, Se, o Zn en niveles que superan de cien a mil veces los acumulados normalmente por las especies. En las algas, específicamente, se produce

una bioacumulación de los elementos presentes en el medio donde crecen o se cultivan [18].

Tabla 9. Estudios en Venezuela empleando líquenes como bioindicadores ambientales.

Autores	Especie bioindicadora	Lugar del estudio	Estudio realizado
Quijada H. Melesio. A ^[21] .	Líquenes	Caracas, Venezuela	Implementación de líquenes como biomonitores de contaminación por metales pesados (Pb,Cu, Zn, Cd, Ni).
Réquiz María Gabriela ^[22] .	Líquenes	Caracas, Venezuela	Determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) utilizando líquenes como bioindicadores en estudios de contaminación atmosférica.
Hawksworth David L., Iturriaga Teresa y Crespo Ana. ^[23] .	Líquenes	Latino América	Líquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los trópicos.
Hernández M. Jesus E. ^[24] .	Líquenes	Caracas, Venezuela	Estudios sobre los líquenes como bioindicadores de la contaminación atmosférica
Bretschneider S, Marcano V. ^[27] .	Líquenes	Valle de Mérida, Venezuela	Utilización de líquenes como indicadores de contaminación por metales pesados y otros agentes

El presente trabajo está enfocado a generar información sobre el contenido de metales pesados en algunas especies de algas de la costa central de Venezuela y de la isla de Margarita, la cual sirva de base para determinar la posibilidad de su empleo como bioindicadores ambientales de las aguas marinas, así como para establecer algunas zonas de elevada exposición a la contaminación.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar el contenido metálico en varias especies de algas marinas de la costa central venezolana y de la isla de Margarita así como su posible empleo como bioindicadores de contaminación ambiental.

3.2 Objetivos específicos

- Validar las metodologías analíticas empleadas en el análisis químico de las muestras de algas.
- Determinar la concentración total de Ca, Fe, Zn y Mg mediante FAAS, Pb, Cd, Cu, Cr, y Ni mediante ETAAS y Hg, mediante CV-AFS, en diferentes especies de algas.
- Comparar las concentraciones de los metales obtenidas con valores señalados para las mismas especies u otras, señaladas en la literatura.
- Evaluar el efecto de la especie y de la zona de recolección, así como su interacción sobre el contenido metálico de la especie de alga, para determinar las localidades más expuestas y las especies de algas que pudieran ser empleadas como bioindicadoras.
- Evaluar posibles relaciones entre las variables (elementos, localidades y especies) que permitan establecer posibles fuentes y origen de la contaminación.

IV. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Equipos

Las muestras de algas se secaron al frío en un liofilizador Marca LABCONCO, modelo FREEZONE 6, con capacidad para liofilizar 16 muestras simultáneamente, operando a una temperatura de -50°C y a una presión de 0,293 mbar.

En el tratamiento de las muestras de algas se empleó un digestor de microondas marca CEM modelo MDS 2000, el cual cuenta con un controlador de presión y temperatura (máximo 200 psi y 200°C), con una potencia de 630 watts. Se emplearon recipientes para altas presiones (ACV-50).

La concentración de los metales se determinó empleando los siguientes equipos:

- Espectrofotómetro de absorción atómica con atomización electrotérmica, Marca Perkin Elmer, Modelo SIMAA 6000. El espectrofotómetro está equipado con un corrector de fondo basado en el efecto Zeeman longitudinal, emplea hornos calentados transversalmente y un detector CMOS, con capacidad de detectar hasta 6 elementos simultáneamente.
- Espectrofotómetro de Fluorescencia Atómica con vapor frío, Marca Analytikjena, Modelo Mercur. Este espectrómetro posee un automuestreador AS-52 y doble amalgama de oro, de empleo optativo.
- Espectrofotómetro de absorción atómica con llamas (FAAS) marca Perkin Elmer, modelo A Analyst 200, que consta de un monocromador de doble haz, una red master GBC Ebert-Fastie con longitud focal de 333mm, 1200 líneas/mm y un detector

fotomultiplicador Hamamatsu R446 con respuesta espectral en el intervalo de 185 nm a 999 nm. La introducción de muestra se realizó mediante un nebulizador de lecho de impacto.

4.2 Reactivos

Se emplearon estándares unielementales de 1000 mg L^{-1} , de Cu y Hg, Fe, marca Fluka Chemical, de Ni y Pb, Zn, marca Riedel de Haên y de Cd y Cr, Ca, Mg, Marca Merck.

Los reactivos utilizados en el procedimiento de digestión total de las muestras fueron: peróxido de Hidrógeno (H_2O_2) al 30%, ácido Fluorhídrico (HF) al 48% p/p y ácido nítrico (HNO_3) al 65% p/p, de marcas Riedel de Haên, donde los dos últimos fueron tetradestilados en un destilador de teflón.

Los reactivos utilizados para el tratamiento previo al análisis por (CV-AFS) fueron: Clorhidrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) al 98% p/p, marca Scharlau, Bromato de potasio (KBrO_3), marca Dowell, ácido Clorhídrico (HCl) al 35% p/p, Marca Riedel de Haên, purificado en un destilador de teflón, Cloruro de estaño ($\text{SnCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Certificado T142-500, $\text{Hg} \leq 0.005 \text{ ppm}$) y Bromuro de potasio (KBr) (Certificado P205-500, $\text{Hg} \leq 0.005 \text{ ppm}$) de Marcas Fisher Chemicals.

4.3 Metodología

4.3.1 Muestreo

Se recolectaron muestras de diferentes especies de algas en distintas zonas de la costa central y de la isla de Margarita, Venezuela. En el muestreo se tomaron en cuenta los factores de abundancia y representatividad de las especies de algas en la

zona y su fácil recolección e identificación, así como la cercanía de las localidades a actividades antrópicas. La recolección de las algas fue realizada por investigadores especialistas que laboran en la Facultad de Farmacia.

El muestreo se realizó en diferentes fechas por lo que, en algunos casos, se cuenta con más de una muestra por tipo de alga. Lamentablemente, no se pudieron localizar las mismas especies de algas en todas las zonas de muestreo. En total, se contó con muestras de nueve especies de algas, recolectadas en doce localidades diferentes, para un total de veintiséis muestras de algas. En la Tabla 10 se muestra la información detallada del muestreo.

Una vez realizada la colecta, las muestras fueron preservadas en hielo hasta la llegada al laboratorio. Parte del material se procesó como exsiccata, y la porción restante se utilizó para realizar los estudios morfoanatómicos y taxonómicos, para lo cual se preservó en agua de mar al 4% en formaldehído, y otra parte se lavó con agua de mar, seguido de agua destilada y desionizada antes de proceder a su liofilización, para su posterior análisis químico.

Las áreas de estudio fueron las localidades de Cepe, Estado Aragua (A Cepe); Muelle de Pto Cabello, Edo. Carabobo (CM Puerto Cabello); Higuerote Marina Carrasco, Edo. Miranda (M Higuerote MC); Chuspa Playa Caribe, Edo. Miranda (Mch Caribe); Chuspa Playa El Indio, Edo. Miranda (Mch El Indio); La Caranta, Edo. Nueva Esparta (NE La Caranta); Manzanillo, Edo. Nueva Esparta (NE Manzanillo); Punta Arena, Edo Nueva Esparta (NE Punta Arena); El Tirano, Edo. Nueva Esparta (NE El Tirano); Margarita, Edo. Nueva Esparta (NE Desco); Chichiriviche de la Costa, Edo Vargas (V Chichi de la Costa) y Arrecife Taguao, Edo. Vargas (V taguao). Las ubicaciones de las localidades se muestran en la Figura 1.

Tabla 10. Información sobre las muestras recolectadas.

# Muestra	Genero Y Especie	Zona de muestreo	Nº de colector	Fecha de muestreo	Coordenadas	Observaciones
23	<i>Chaetomorpha antennina</i>	Edo. Carabobo, Muelle de Pto. Cabello	3122	08/04/2010	10°29'20"N; 68°00'27"W	Embarcaderos, actividades antrópicas
12	<i>Chaetomorpha antennina</i>	Edo. Miranda, Chuspa Playa El Indio	5-07-02-2010	07/02/2010	10°37'11"N; 66°18'55"W	Plataforma rocosa, 21°C
20	<i>Chaetomorpha antennina</i>	Edo. Nueva Esparta, Tirano	3106	01/04/2010	11°06'41"N; 63°50'38"W	
5	<i>Chaetomorpha antennina</i>	Edo. Vargas, Taguao Arrecife	3086	20/02/2010	10°34'47"N; 67°06'09"W	Planta eléctrica y sus depósitos combustible, poblaciones cercanos.
8	<i>Cladophora chaetomorpha</i>	Edo. Miranda, Higuero Marina Carrasco	3075	15/12/2010	10°32'28"N; 66°05'12"W	Cercanía a actividades antrópicas
30	<i>Cladophora prolifera</i>	Edo. Miranda, Chuspa Playa Caribe	PE-2	29/04/2010	10°37'51,37"N; 66°18'59"W	
3	<i>Padina gymnospora</i>	Edo. Aragua, Cepe	2-14-2-2010	14/02/2010	10°31'73"N; 10°31'73"W	Zona Mesolitoral temp: 25°C , gradiente 2
29	<i>Padina gymnospora</i>	Edo. Miranda, Chuspa Playa Caribe	PE-1	29/04/2010	10°37'51,37"N; 66°18'59"W	
1	<i>Padina gymnospora</i>	Edo. Vargas, Taguao Arrecife	3050	16/05/2009	10°34'47"N; 67°06'09"W	Planta eléctrica y sus depósitos combustible y poblaciones en sitios cercanos.
7	<i>Padina gymnospora</i>	Edo. Vargas, Taguao Arrecife	3067	08/02/2010	10°34'47"N; ; 67°06'09"W	Planta eléctrica y sus depósitos combustible y poblaciones en sitios cercanos.
16	<i>Padina gymnospora</i>	Edo. Vargas, Taguao Arrecife	3085	20/02/2010	10°34'47"N; 67°06'09"W	Planta eléctrica y sus depósitos combustible y poblaciones en sitios cercanos.
26	<i>Padina vickersiae</i>	Edo. Aragua, Cepe	11-19-4-2010	19/04/2010	10°31'73"N; 10°31'73"W	Placa rocosa, fuerte oleaje, temp: 25°C , gradiente 2
28	<i>Padina vickersiae</i>	Edo. Nueva Esparta, Margarita (Desconocido)	3107	29/03/10	10°59'51''N; 63°47'30''W	

Tabla 10. (Continuación) Información sobre las muestras recolectadas.

# Muestra	Genero Y Especie	Zona de muestreo	Nº de colector	Fecha de muestreo	Coordenadas	Observaciones
4	<i>Sargassum cymosum</i>	Edo. Aragua, Cepe	1-14-02-2010	14/02/2010	10°31'73"N; 10°31'73"W	Placa rocosa, fuerte oleaje, temp: 25°C , gradiente 3
27	<i>Sargassum cymosum</i>	Edo. Nueva Esparta, La Caranta	3107	29/03/2010	10°59'51"N; 63°47'30"W	
31	<i>Sargassum sp</i>	Edo. Miranda, Chuspa Playa Caribe	PE-3	29/04/2010	10°37'51,37"N; 66°18'59"W	
25	<i>Ulva lactuca</i>	Edo. Aragua, Cepe	10-19-4-2010	19/04/2010	10°31'73"N; 10°31'73"W	Zona Mesolitoral temp: 25°C , gradiente 2
22	<i>Ulva lactuca</i>	Edo. Carabobo, Muelle de Pto. Cabello	3109	08/04/2010	10°29'20"N; 68°00'27"W	Embarcaderos, actividades antrópicas
32	<i>Ulva lactuca</i>	Edo. Miranda, Chuspa Playa Caribe	PE-4	29/04/2010	10°37'51,37"N; 66°18'59"W	
14	<i>Ulva lactuca</i>	Edo. Miranda, Chuspa Playa El Indio	7-07-02-2010	07/02/2010	10°27'23"N; 66°18'33"W	Plataforma rocosa, 21°C
18	<i>Ulva lactuca</i>	Edo. Miranda, Chuspa Playa El Indio	8-27-2-2010	07/02/2010	10°27'23"N; 66°18'33"W	Plataforma rocosa, 21°C
19	<i>Ulva lactuca</i>	Edo. Nueva Esparta, Manzanillo	3102	01/04/2010	11°09'25"N; 63°53'26"W	
21	<i>Ulva lactuca</i>	Edo. Nueva Esparta, Punta Arena	3108	30/03/2010	11°04'20"N; 64°14'55"W	
9	<i>Ulva lactuca</i>	Edo. Vargas, Chichiriviche de la Costa	3094	20/02/2010	10°32'58"N; 67°14'20"W	Poblaciones cercanos, desembocaduras de ríos, plataforma rocosa oleaje moderado
17	<i>Ulva lactuca</i>	Edo. Vargas, Taguao Arrecife	3056	16/05/2010	10°34'47"N; 67°06'09"W	Planta eléctrica y sus depósitos combustible y poblaciones en sitios cercanos.
24	<i>Ulva reticulata</i>	Edo. Nueva Esparta, La Caranta	3123	29/03/2010	10°59'51"N; 63°47'30"W	

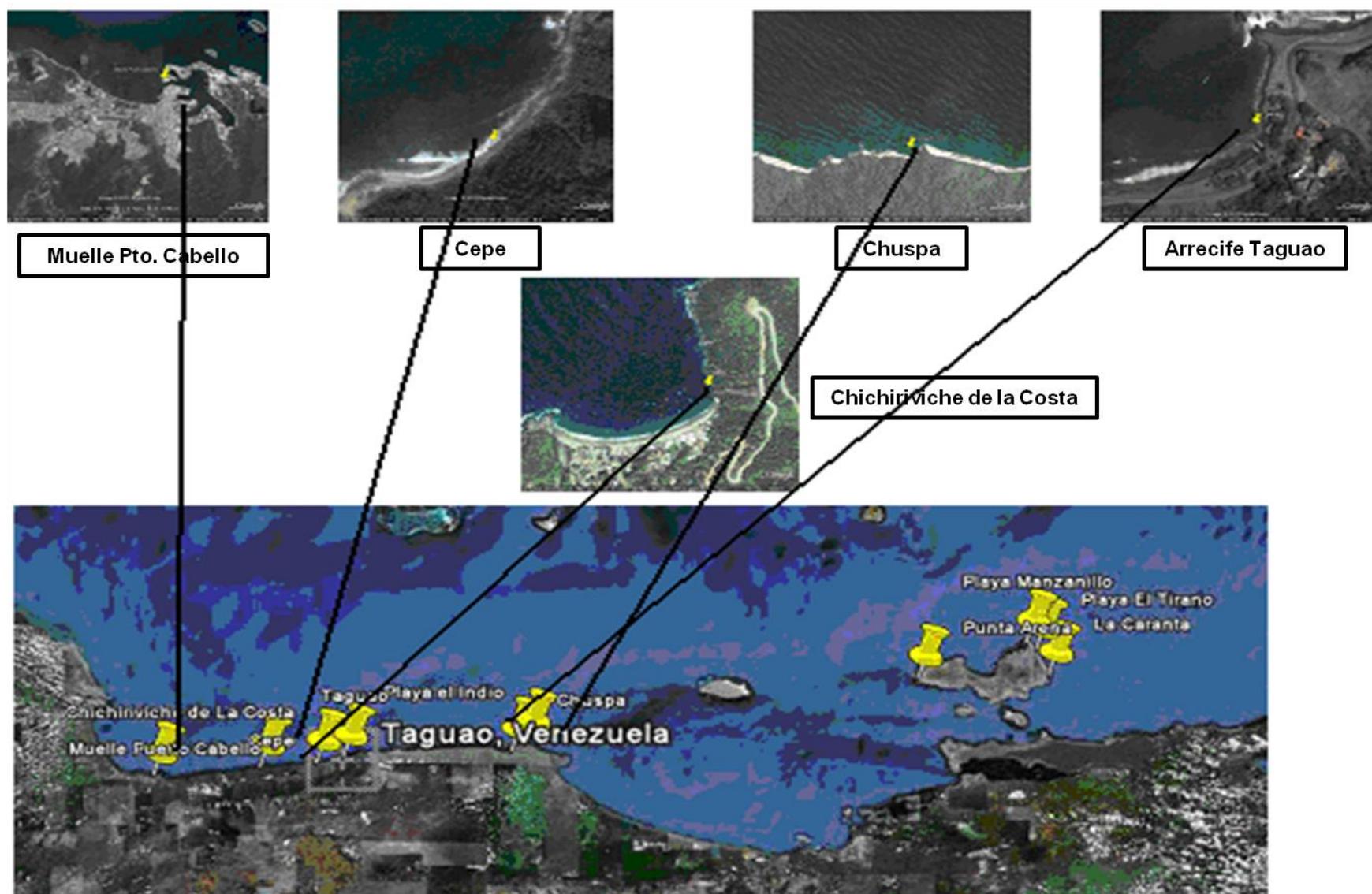


Figura 1(a). Sitios de colecta de las muestras de algas.

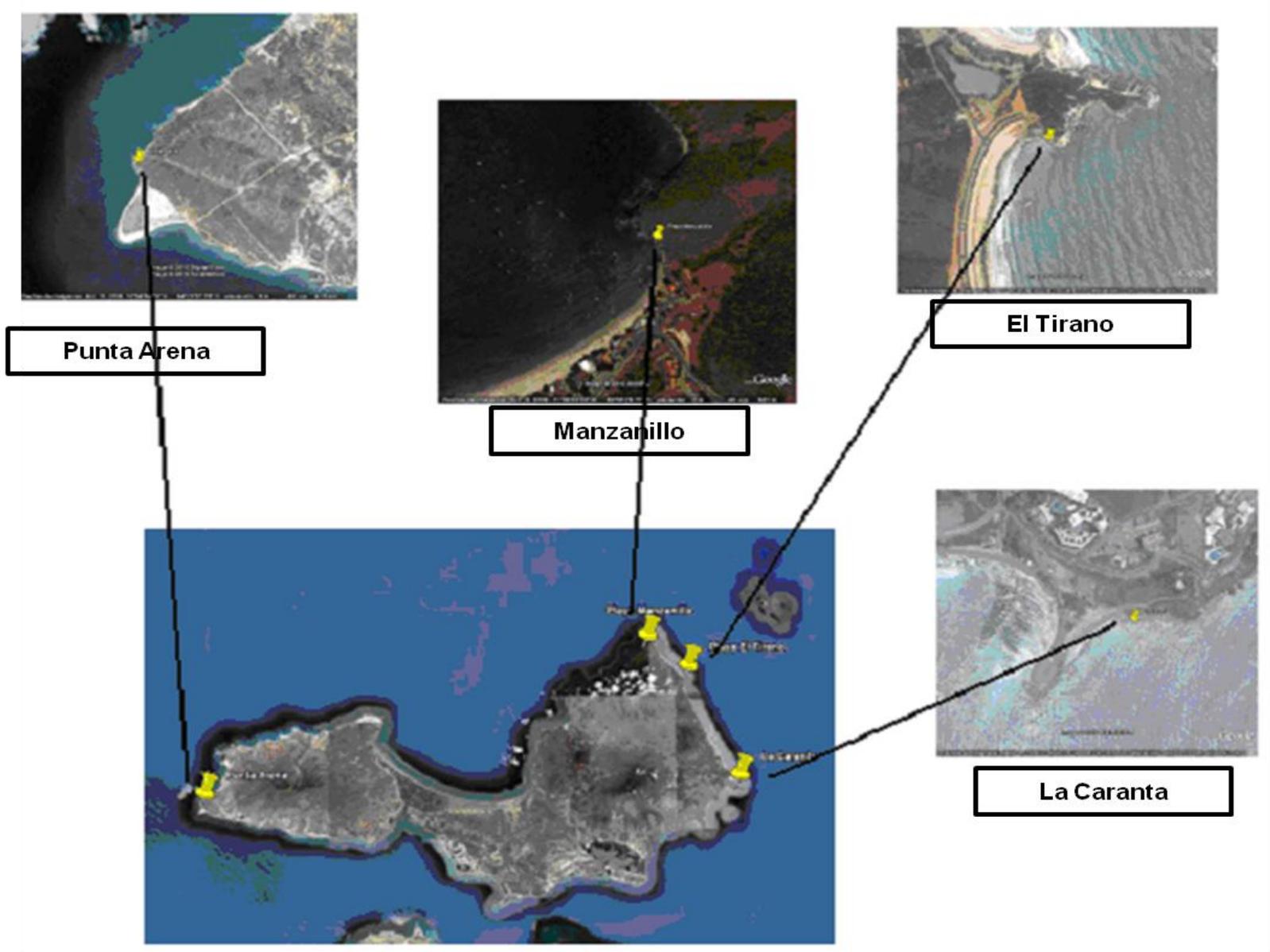


Figura 1(b). Sitios de colecta de las muestras de algas.

4.3.2 Tratamiento de las muestras

Las muestras de algas se lavaron, se liofilizaron y se llevaron a solución mediante digestión ácida empleando un microondas. El procedimiento de digestión utilizado fue optimizado por Aru R. ^[28] (Figura 2), y el programa de digestión del CEM se muestra en la Tabla 11. El HNO₃ 65% fue tridestilado previamente.

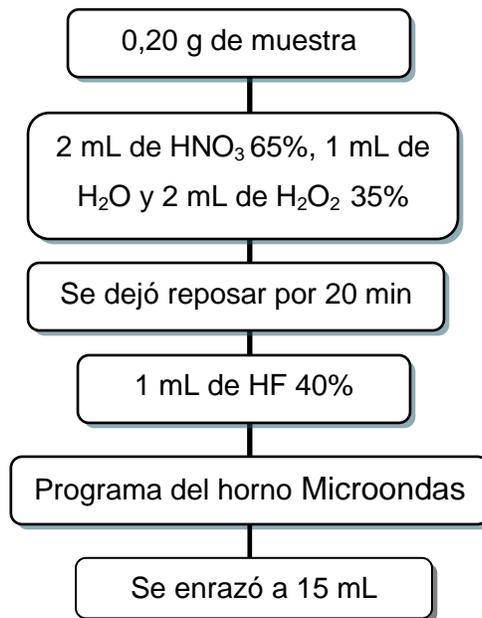


Figura 2. Esquema de digestión total para la disolución de las muestras de algas ^[28].

Tabla 11. Programa de la digestión de las algas en el Microondas ^[29].

ETAPA	(1)	(2)	(3)
POTENCIA (%)	68	68	68
PRESIÓN (PSI)	100	120	150
TIEMPO RAMPA (min)	15:00	15:00	15:00
TAP* (min)	15:00	15:00	15:00
FAN SPEED, %	100	100	100

* TAP: tiempo que permanece la muestra a la presión indicada.

4.3.3 Análisis químico

a. Análisis de Hg mediante CV-AFS.

La metodología empleada fue validada en muestras certificadas de tejido de ostra e hígado de bovino por Palma M. ^[30]. Dicha metodología se muestra en la Figura 3.

El análisis de Hg mediante CV-AFS contempló dos etapas: la etapa de oxidación y la de generación del vapor frío. La etapa de oxidación consistió en un tratamiento químico de la muestra antes de ser introducida en el equipo de CV-AFS. La oxidación se realizó mediante una solución de KBr y KBrO_3 , la cual se preparó a partir de la mezcla de 0,278 g de KBrO_3 en 50 mL de agua y 1,190 g de KBr en 50 mL. El exceso de oxidante se eliminó con clorhidrato de hidroxilamina al 10 %, el cual se preparó con 5 g de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ en 50 mL de agua.

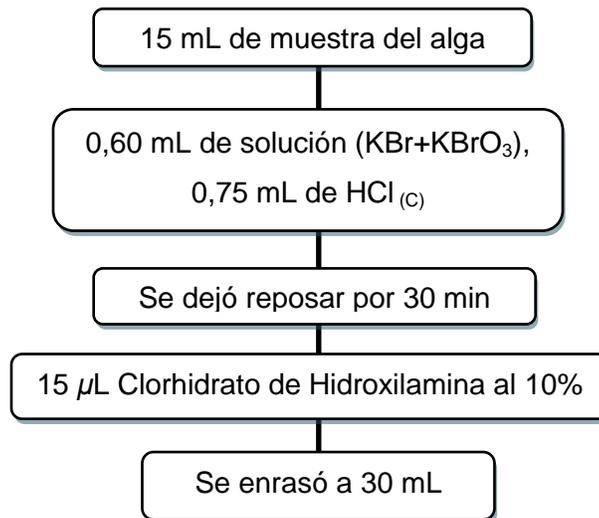


Figura 3. Esquema de la oxidación de las muestras para el análisis de Hg por CV-AFS

La etapa de reducción para la generación del vapor frío de Hg se realizó en el equipo de CV-AFS y consistió en la mezcla de la muestra con una solución de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en HCl. Esta solución se preparó a partir de 6.53 g de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 50 mL de $\text{HCl}_{(c)}$ y se llevó a 100 mL.

Debido a la elevada sensibilidad del equipo, fue necesario destilar el $\text{HCl}_{(c)}$ por lo menos una vez, para evitar posibles contaminaciones.

b . Análisis multielemental de Cd, Cu, Ni, Cr y Pb mediante ETAAS

El contenido metálico de Pb, Cd, Cu, Cr, y Ni en las muestras se determinó mediante el análisis multielemental por ETAAS. Para ello se empleó la mezcla $5 \mu\text{g Pd}(\text{NO}_3)_2 + 3 \mu\text{g Mg}(\text{NO}_3)_2$, denominada modificador universal, como modificador químico, un volumen de inyección de $15 \mu\text{L}$ y un programa de temperatura optimizado previamente (Tabla 12). Esta metodología fue validada en muestras de ostra e hígado de bovino por Aru R. ^[28]. En la Tabla 13 se muestran las longitudes de onda y tiempos de integración de la señal empleados para cada analito.

Tabla 12. Programa térmico para la determinación multielemental de Cd, Cu, Cr, Ni y Pb por ETAAS ^[28]

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo de rampa (s)	Tiempo de permanencia (s)	Flujo de Ar (mLmin^{-1})
Secado I	110	1	20	250
Secado II	130	15	30	250
Calcinado	600	10	20	250
Enfriamiento	30	1	2	250
Atomización	2300	0	6	*
Limpieza	2450	1	3	250

* Tiempo de lectura: entre 2,0 y 5,0 s de acuerdo a cada analito (ver tabla 13)

Tabla 13. Condiciones instrumentales empleadas para las medidas en ETAAS ^[28]

Elemento	λ (nm)	Tiempo lectura (s)
Cd	228,8	2,0
Cu	357,9	5,5
Cr	324,8	3,5
Ni	232,0	5,0
Pb	283,3	3,0

c . Análisis de Ca, Fe, Zn, Mg mediante FAAS

El contenido metálico de Ca, Fe, Zn y Mg se determinó mediante FAAS, usando la mezcla acetileno-aire. Para los elementos Ca y Mg se empleó Sr (3.500 mg Kg^{-1}) como supresor de ionización. Los intervalos de concentración de los patrones utilizados para la determinación de los elementos se encuentran presentados en la Tabla 14, junto con la longitud de onda característica de cada elemento.

Tabla 14. Intervalo de concentración para la determinación de los elementos en algas mediante FAAS y CV-AFS.

Elemento	Intervalo de Concentración (mg L^{-1})	Longitud de onda (nm)
Ca	1 – 10	239,9
Mg	0,5 – 10	285,2
Zn	0,1 – 0,5	308,2
Fe	1 – 10	252,3
*Hg	0,05 – 5	-

*La concentración de Hg está dada en ($\mu\text{g L}^{-1}$)

d. Determinación del contenido metálico en las muestras de algas

El análisis del contenido metálico se realizó por duplicado empleando las metodologías optimizadas. La técnica cuantitativa empleada fue la curva de calibración externa.

La validación de las metodologías de análisis mediante CV-AFS y ETAAS se realizó empleando el porcentaje de recuperación (%R), como figura de mérito de la exactitud, ya que no se contó con material de referencia apropiadas para el tipo de muestra analizada. Así mismo, se determinó el coeficiente de variación (CV) y el límite de detección ($LOD=3s_B/m$) como figuras de mérito asociadas a la precisión y sensibilidad, respectivamente.

4.3.4. Estudio ambiental de las muestras

El resultado del contenido metálico en las muestras analizadas fue empleado para obtener la siguiente información:

1. Comparar las concentraciones obtenidas en las muestras recolectadas, con las señaladas por otros autores.
2. Determinar la influencia de la especie de alga o la localidad de origen en el contenido de metales (análisis ANOVA de una vía) para establecer las localidades contrastantes (más o menos expuestas) y la(s) posible(s) especies bioindicadoras y de cual(es) metal(es).
3. Determinar la posible interacción de los factores “especie” y “localidad” en el contenido de metales en las muestras colectadas (análisis ANOVA de dos vías).
4. Establecer el posible agrupamiento entre las variables consideradas en el estudio: contenido metálico, especies y localidades, para obtener información sobre posible fuente y origen de los elementos (análisis de agrupamiento por Cluste Análisis, correlaciones múltiples empleando al coeficiente de Spearman como estadístico y Análisis de componentes principales (PCA)).

4.4 Lugar de trabajo

Los estudios morfológicos y taxonómicos fueron realizados por el Prof. Gerard Haiek en el Herbario V. M. Ovalles, Fac. de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. El tratamiento de las muestras y su análisis químico se realizó en los laboratorios del Centro de Química Analítica (CQA) de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Análisis químico

En la Tabla 15 se muestran los límites de detección instrumental y metodológico (LOD), masas características (m_o) y porcentajes de recuperación obtenidos y reportados mediante el análisis por ETAAS y CV- AFS.

Tabla 15. Límites de detección LOD*, masas características m_o * y % de recuperación.

Elemento	m_o Obtenida (pg)	m_o Reportada (pg)	LOD Obtenido ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD obtenidos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	%Ri
Cd	2,5	1,3	0,08	0,01	100
Cu	9,4	17	0,4	0,02	98
Cr	20,5	7	0,7	0,17	92
Ni	32,4	20	2,0	0,02	88
Pb	60,4	30	2,5	0,20	114
Hg	-	-	0,006	0,002	110

* m_o : masa característica, masa de analito equivalente a una señal de absorbancia de 0,0044 ua.

*LOD: Límite de detección ($3s_{dv}/m$ donde m = pendiente de la curva de calibración)

5.2 Muestras de algas analizadas

En la Tabla 16 se muestra un resumen con datos sobre la procedencia y número de muestras de alga por especie y localidad (un total de 26), en la figura 4 se observa algunas de las especies de algas analizadas.

Tabla 16. Género y especie de muestras recolectadas en diferentes localidades.

Especies de algas	Localidades											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Chaetomorpha antennina</i>			X				X		X	X		
<i>Cladophora Chaetomorpha</i>								X				
<i>Cladophora prolifera</i>						X						
<i>Padina gymnospora</i>	X					X			XXX			
<i>Padina vickersiae</i>	X											X
<i>Sargassum cymosum</i>	X				X							
<i>Sargassum sp</i>						X						
<i>Ulva lactuca</i>	X	X		X	X		XX		X	X	X	
<i>Ulva reticulata</i>					X							

1: Edo. Aragua, Cepe

2: Edo. Nueva Esparta, Manzanillo

3: Edo. Nueva Esparta, Tirano

4: Edo. Nueva Esparta, Punta Arena

5: Edo. Nueva Esparta, La Caranta

6: Edo. Miranda, Chuspa Playa Caribe

7: Edo. Miranda, Chuspa Playa El Indio

8: Edo. Miranda, Higuero Marina Carrasco

9: Edo. Vargas, Taguao Arrecife

10: Edo. Carabobo, Muelle de Pto. Cabello

11: Edo. Vargas, Chichiriviche de la Costa

12: Edo. Nueva Esparta, Margarita (Desco)



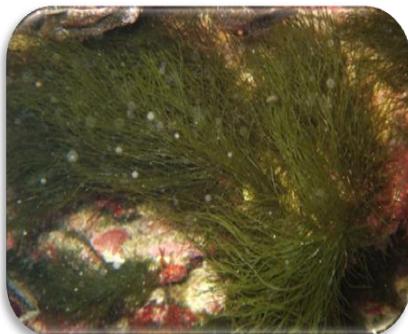
Padina gymnospora



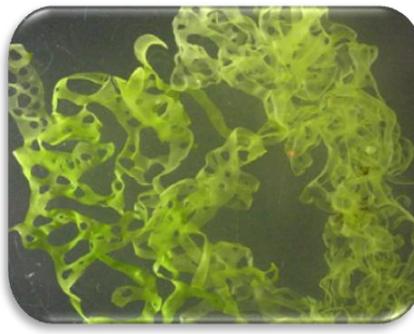
Ulva lactuca



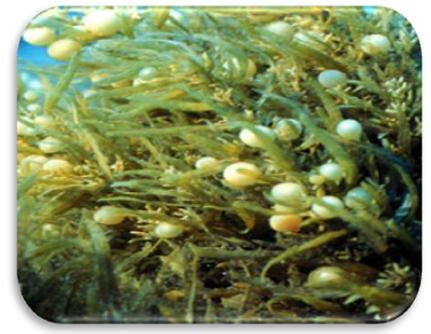
Chaetomorpha antennina



Cladophora prolifera



Ulva reticulata



Sargassum sp

Figura 4. Algunas especies de algas analizadas.

5.3 Contenido metálico de muestras de algas analizadas

En la Tabla 17 se presentan los intervalos de concentración obtenidos para los elementos determinados en todas las especies de algas analizadas, así como sus concentraciones promedio, desviación estándar y coeficiente de variación. En el Apéndice 1 se muestran los resultados para cada muestra analizada.

Tabla 17. Concentraciones obtenidas para todas las muestras analizadas*

Elemento	intervalo	Promedio \pm sdv	CV (%)
Pb	0,4 - 12,4	2 \pm 3	103
Cd	0,06 - 1,2	0,6 \pm 0,3	49
Ni	1,0 - 14,5	4 \pm 3	79
Cr	0,3 - 12,5	3 \pm 4	97
Cu	2,3 - 98,9	14 \pm 21	150
Hg	0,05 - 0,90	0,1 \pm 0,2	119
Ca	2,8 - 16,1	8 \pm 4	49
Fe	0,03 - 5,2	0,8 \pm 1,3	149
Zn	0,01 - 0,2	0,06 \pm 0,04	73
Mg	0,9 - 7,1	4 \pm 2	52

* Concentraciones Promedio \pm sdv, expresadas en mg g⁻¹ para Ca, Fe, Zn y Mg y en μ g g⁻¹ para el resto, (N= 26)

En la Figura 5 se presentan los gráficos de la concentración promedio (\pm sdv) obtenida para los elementos mayoritarios y trazas, donde fue excluido el valor de concentración máxima de cobre (99 \pm 1), con la finalidad de lograr una mejor visualización.

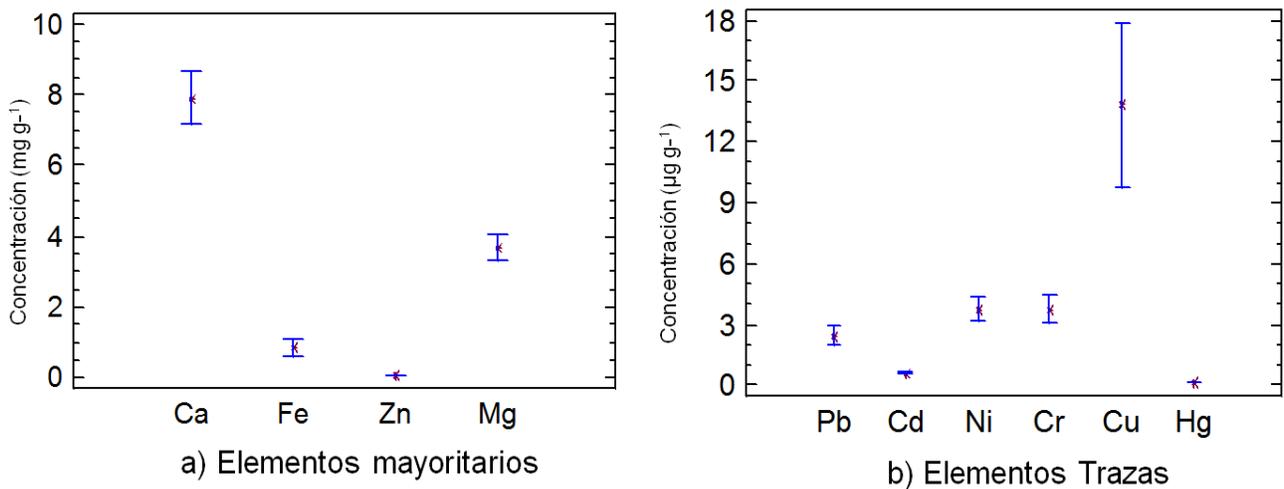


Figura 5. Gráficos de la concentración promedio para las muestras analizadas

Los elementos mostrados en la Figura 5a presentaron valores de concentración más elevadas (Ca>Mg>Fe>Zn). De estos elementos, los que arrojaron los coeficientes de varianza más bajos fueron el Ca y el Mg, los cuales forman parte esencial del contenido metálico de las algas marinas y su baja variabilidad se debe a que se encuentran en todas las especies de algas analizadas, ya que son considerados elementos mayoritarios^[31]. El Mg forma parte de la estructura de la clorofila tanto en algas verdes (clorofila a), como en algas rojas y pardas (clorofila c y d). El Ca es parte esencial de la pared celular, fortaleciendo su estructura^[1, 32].

El Ca se encuentra en mayor proporción que el Mg, 8 ± 4 y 4 ± 2 (mg g⁻¹), respectivamente, debido a que el Ca se combina con los carbonatos y constituye la estructura del esqueleto calizo, interior o exterior, tanto en las algas marinas como en los foraminíferos y los corales que viven en el fondo del mar^[33]. Los valores obtenidos para el Ca son comparables a los señalados por otros autores^[34] así como para el

Mg ^[35], mientras que Carrillo, 2002 ^[31] ha señalado valores superiores en un orden de magnitud para ambos elementos.

Otros elementos mayoritarios en las algas como el Zn, Cu y Fe, se presentaron en menores proporciones que el Ca y el Mg, y son considerados microelementos esenciales ^[31]. Los metales Cd y Pb son elementos tóxicos y su presencia en las algas, así como la de Ni y Cr, está asociada a actividades antrópicas. Los valores determinados para estos elementos en las algas analizadas en este trabajo, son comparables a los obtenidos en *Ulva rígida* proveniente del golfo de Thermaikos, Grecia ^[34], excepto para el Pb, Fe y Mg, cuyos valores se muestran en la Tabla 18.

Tabla 18. Concentraciones ($\mu\text{g g}^{-1}$) determinadas en *Ulva rígida* proveniente del golfo de Thermaikos, Grecia ^[34].

elementos	df	$x \pm \text{sdv}$	Intervalo
Mn	31	194±32, 2	27, 0–783
Pb	31	748±206	10, 0–3213
Fe	30	385±37, 9	121–1018
Zn	31	26, 1±2, 3	6, 3–54, 7
Cu	30	4, 7±0, 3	2, 5–8, 2
Cd	30	0, 24±0, 05	0, 02–1, 40
Co	31	0, 90±0, 12	0, 14–2, 36
Ni	31	2, 21±0, 19	0, 74–4, 46
Cr	31	4, 78±1, 09	0, 53–28, 4
Na	31	23900±1570	9000–41600
K	31	12300±1200	4000–29300
Ca	31	990±116	530–3930
Mg	31	24800±1210	11600–38300

Uno de los procesos que realizan las algas para incorporar metales a su célula se denomina biosorción, transcurre en muy poco tiempo y es similar tanto en la pared celular como en toda la célula, por lo que en ambas estructuras se introducen (en un tiempo similar) metales como cadmio, plomo y cobre, mediante un intercambio de iones en el que el Na, Mg y Ca resultan desplazados a favor de los metales pesados, luego el

metal puede unirse a distintos grupos funcionales como aminas, alcoholes, fosfatos, hidroxilos entre otros ^[36].

En la Tabla 19 se presentan las concentraciones promedios (\pm sdv) de todas las especies en cada localidad muestreada. Las concentraciones de los elementos mayoritarios (Ca y Mg) varían poco entre localidades.

Tabla 19. Concentraciones promedio (\pm sdv) de los metales en cada localidad.

Localidades	n	Pb	Cd	Ni	Cr	Cu
Edo. Vargas, Taguao Arrecife	5	3 \pm 2	0,6 \pm 0,3	7 \pm 5	6 \pm 4	19 \pm 16
Edo. Aragua, Cepe	4	0,8 \pm 0,5	0,6 \pm 0,1	1,8 \pm 0,4	1,1 \pm 0,8	5 \pm 2
Edo. Miranda, Chuspa Playa Caribe	4	2,1 \pm 0,9	0,5 \pm 0,2	2,7 \pm 0,5	2 \pm 1	2,8 \pm 0,5
Edo. Miranda, Chuspa Playa El Indio	3	1,7 \pm 0,7	0,5 \pm 0,4	1,8 \pm 0,7	1,3 \pm 0,9	4,0 \pm 0,7
Edo. Carabobo, Muelle de Pto. Cabello	2	4,3 \pm 0,8	0,083 \pm 0,002	2,95 \pm 0,09	3 \pm 1	34 \pm 4
Edo. Nueva Esparta, La Caranta	2	2 \pm 2	0,6 \pm 0,1	2,6 \pm 0,9	5 \pm 4	5 \pm 1
Edo. Miranda, Higuero Marina Carrasco	1	12,45	0,64	9,22	8,8	98,89
Edo. Nueva Esparta, Manzanillo	1	0,59	0,93	2,36	0,74	6,23
Edo. Nueva Esparta, Margarita	1	1,58	1,24	3,88	12,08	5,94
Edo. Nueva Esparta, Punta Arena	1	1,33	0,83	2,41	3,1	5,65
Edo. Nueva Esparta, Tirano	1	0,61	0,82	3,11	0,58	15,97
Edo. Vargas, Chichiriviche de la Costa	1	5,1	0,55	5,55	7,2	7,97

Localidades	n	Hg	Ca	Fe	Zn	Mg
Edo. Vargas, Taguao Arrecife	5	0,12 \pm 0,01	10 \pm 4	2 \pm 1	0,043 \pm 0,036	5 \pm 2
Edo. Aragua, Cepe	4	0,08 \pm 0,02	7 \pm 3	0,4 \pm 0,7	0,06 \pm 0,07	2,2 \pm 0,9
Edo. Miranda, Chuspa Playa Caribe	4	0,09 \pm 0,04	8 \pm 6	0,3 \pm 0,3	0,08 \pm 0,04	3 \pm 1
Edo. Miranda, Chuspa Playa El Indio	3	0,11 \pm 0,08	8 \pm 5	0,14 \pm 0,15	0,018 \pm 0,005	4 \pm 3
Edo. Carabobo, Muelle de Pto. Cabello	2	0,10 \pm 0,02	7 \pm 4	0,9 \pm 0,8	0,09 \pm 0,02	6 \pm 1
Edo. Nueva Esparta, La Caranta	2	0,49 \pm 0,53	5 \pm 2	1 \pm 2	0,06 \pm 0,04	1,3 \pm 0,2
Edo. Miranda, Higuero Marina Carrasco	1	0,09	4,95	5,19	0,139	1,72
Edo. Nueva Esparta, Manzanillo	1	0,05	6,84	0,07	0,056	2,46
Edo. Nueva Esparta, Margarita	1	0,06	6,87	0,25	0,043	6,1
Edo. Nueva Esparta, Punta Arena	1	0,13	10,44	0,12	0,096	5,56
Edo. Nueva Esparta, Tirano	1	0,26	4,38	0,04	0,065	3,28
Edo. Vargas, Chichiriviche de la Costa	1	0,08	13,03	1,06	0,022	3,3

* Concentraciones Promedio \pm sdv, expresadas en mg g⁻¹ para Ca, Fe, Zn y Mg y en μ g g⁻¹ para el resto

** n: numero de muestras. Para n=1 se muestra el valor único de concentración.

Las localidades que presentan el menor contenido metálico fueron, Cepe Edo. Aragua y Playas El Tirano y Manzanillo situadas en el Edo Nueva Esparta. La localidad con el mayor contenido metálico fue Higuerote Marina Carrasco Edo. Miranda, donde se encontraron los mayores valores de Cu, Pb, Ni, Fe, seguida por Taguo Edo. Vargas.

En la Tabla 20 se presentan las concentraciones promedios obtenidas para cada elemento en todas las localidades, en cada especie de alga analizada. En la Figura 6 se muestran los gráficos de concentración correspondientes a cada una de las especies de algas. Para mejor visualización de estos gráficos, se excluyó un valor elevado para el Cu en el caso de *Padina gymnospora* ($46 \pm 5 \mu\text{g g}^{-1}$) y *Ulva lactuca* ($3,7 \pm 0,6 \mu\text{g g}^{-1}$).

Tabla 20. Concentraciones promedio (\pm sdv) de los metales en cada especie de alga*.

Especies	n	Pb	Cd	Ni	Cr	Cu
<i>Ulva lactuca</i>	9	2 \pm 1	0,5 \pm 0,3	3 \pm 1	2,4 \pm 2,1	10 \pm 11
<i>Padina gymnospora</i>	5	3 \pm 2	0,7 \pm 0,1	6 \pm 5	6 \pm 5	15 \pm 18
<i>Chaetomorpha antennina</i>	4	2 \pm 2	0,5 \pm 0,4	3 \pm 1	3 \pm 3	16 \pm 12
<i>Padina vickersiae</i>	2	1,1 \pm 0,7	0,8 \pm 0,6	3 \pm 1	6 \pm 8	4 \pm 3
<i>Sargassum cymossum</i>	2	2 \pm 2	0,64 \pm 0,04	2,4 \pm 1,3	1,3 \pm 1,3	3,8 \pm 0,1
<i>Cladophora chaetomorpha</i>	1	12,4	0,6	9,2	8,8	98,9
<i>Cladophora prolifera</i>	1	2,8	0,8	3,1	2,1	2,6
<i>Sargassum sp</i>	1	1,3	0,4	2,1	1	2,3
<i>Ulva reticulata</i>	1	0,4	0,5	2	7,2	5,8

Especies	n	Hg	Ca	Fe	Zn	Mg
<i>Ulva lactuca</i>	9	0,1 \pm 0,05	8 \pm 4	0,3 \pm 0,3	0,06 \pm 0,05	3 \pm 2
<i>Padina gymnospora</i>	5	0,1 \pm 0,02	11 \pm 3	1,3 \pm 1,4	0,05 \pm 0,03	4 \pm 2
<i>Chaetomorpha antennina</i>	4	0,15 \pm 0,09	7 \pm 5	1,0 \pm 1,1	0,05 \pm 0,04	6 \pm 2
<i>Padina vickersiae</i>	2	0,07 \pm 0,01	9 \pm 2	0,2 \pm 0,1	0,03 \pm 0,01	4 \pm 2
<i>Sargassum cymossum</i>	2	0,5 \pm 0,6	3,5 \pm 0,2	1 \pm 2	0,02 \pm 0,006	1,0 \pm 0,1
<i>Cladophora chaetomorpha</i>	1	0,09	4,9	5,2	0,14	1,7
<i>Cladophora prolifera</i>	1	0,06	16,1	0,8	0,05	4,4
<i>Sargassum sp</i>	1	0,15	5,3	0,09	0,13	3,4
<i>Ulva reticulata</i>	1	0,12	6,9	0,07	0,09	1,5

* Concentraciones Promedio \pm sdv, expresadas en mg g⁻¹ para Ca, Fe, Zn y Mg y en $\mu\text{g g}^{-1}$ para el resto.

** n: numero de muestras. Para n=1 se muestra el valor único de concentración.

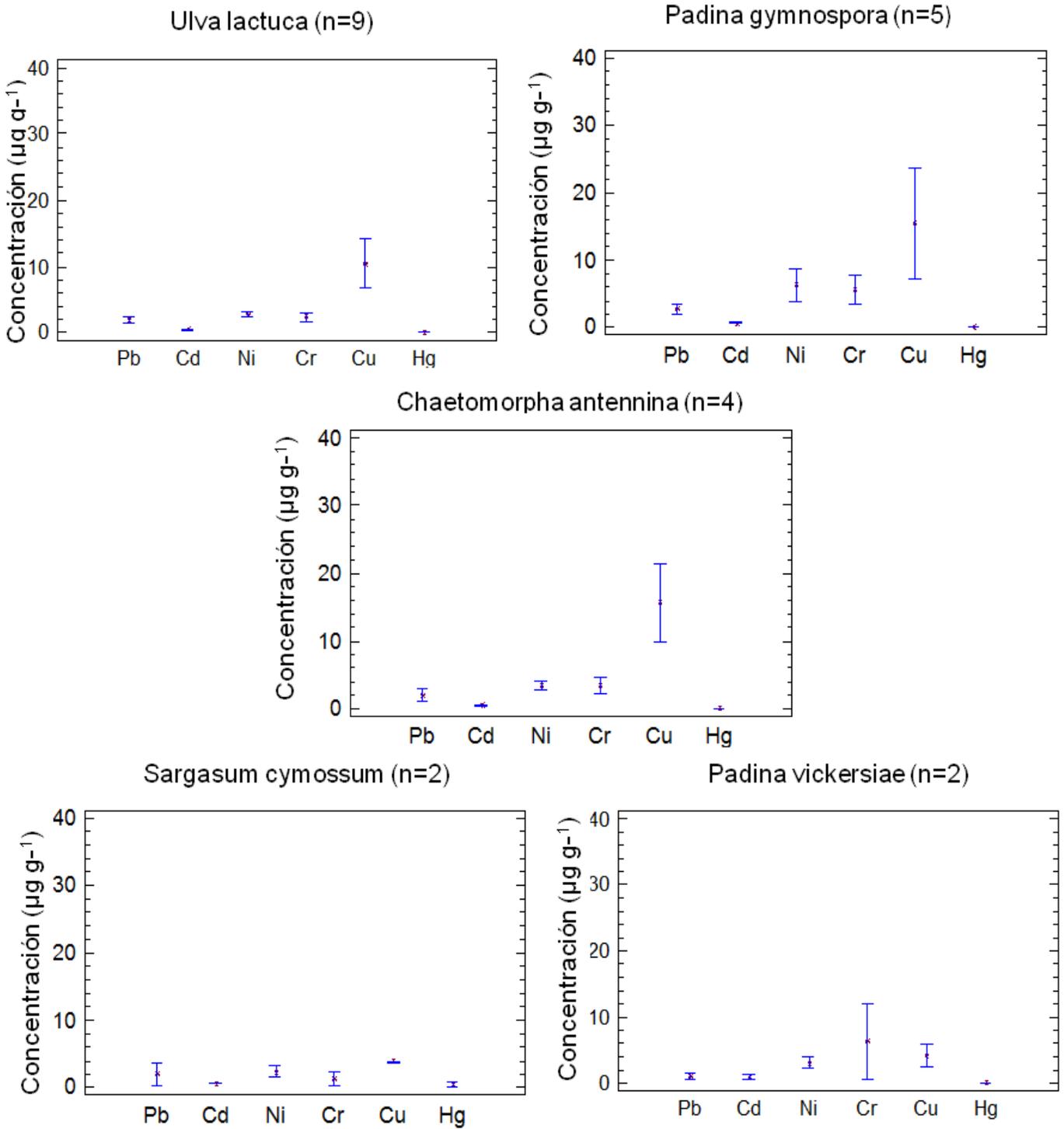


Figura 6. Gráficos de la concentración promedio en cada especie de alga.

La variación en el contenido de los metales entre las especies de algas, resultó ser amplia, incluso dentro de una misma especie, debido a que la composición química de éstas varía según el grupo taxonómico y en función de factores ambientales, geográficos y variaciones fisiológicas ^[31]. En el Apéndice 2 se presentan los coeficientes de varianza (CV) y los intervalos de concentraciones para cada una de las especies de algas analizadas.

Las especies con el mayor contenido de metales pesados fueron *Padina gymnospora* (ver Figura 5a) y *Cladophora chaetomorpha* (ver Tabla 20) en las zonas de Taguao Edo. Vargas y de Higuerote Marina Carrasco Edo. Miranda. Es importante destacar la especie *Padina gymnospora* también se recolectó en la localidad de Cepe Edo. Aragua, apareciendo en este lugar con el menor contenido metálico.

5.4 Estudio de los efectos de la especie y la localidad sobre el contenido metálico

Se estudió el efecto de la localidad y la especie sobre la concentración de los elementos en las algas. Para ello se aplicó la prueba ANOVA de una vía ($P= 0,05$). Esta prueba compara las diferencias entre los valores medios de concentración de cada elemento entre localidades o especies y requiere que la población de datos se distribuya normalmente y que las varianzas sean homogéneas. Debido al bajo número de muestras, no se hicieron pruebas para demostrar la distribución normal de la data.

Las pruebas de varianza mostraron diferencias significativas para los elementos Cd y Hg entre especies y para el Hg entre localidades. En estos casos se aplicó la prueba de rangos de Kruskal - Wallis para determinar diferencias entre las medias. En el apéndice 3 se muestran los valores de df, F y P correspondiente a la prueba ANOVA de una vía.

Los resultados obtenidos mostraron que no hay diferencias significativas entre el promedio de la concentración de los elementos Ca, Mg y Zn ni entre especies ni entre localidades (ver Apéndice 3), lo cual se puede atribuir a que estos metales son esenciales para las algas marinas. En particular, Machado, 2007 ^[36] afirma que la incorporación de zinc a las algas aumenta linealmente con el logaritmo de la concentración de zinc en el agua, dato que no se puede comprobar ya que no se realizaron análisis en las aguas.

Así mismo, los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas en la concentración media de Pb, Cu, Cr, Fe entre localidades y de Pb, Cu y Fe entre especies. En la Figura 7 se presentan los diagramas de cajas y bigotes para los elementos cuyas medias difieren significativamente entre localidades.

Los valores más elevados de Pb, Cu y Fe se encontraron en la localidad de Higuero Marina Carrasco, Edo. Miranda. Las siguientes localidades con mayores contenidos de Cu fueron el Muelle de Pto. Cabello, Edo. Carabobo, seguido de Taguao, Edo. Vargas. Para el caso del Cr, los valores más elevados se encontraron en La Caranta Edo. Nueva Esparta, seguido de Taguao e Higuero Marina Carrasco.

Aunque no se encontraron diferencias significativas para los elementos Cd y Ni ($P=0,118$ y $P=0,1433$ respectivamente), dada la importancia toxicológica que representan estos elementos y el bajo número de réplicas, por especie y localidades, que contempló el análisis, pudiera considerarse un nivel de confianza menor y atribuir diferencias significativas entre localidades para estos dos elementos con el 85% de confianza. De esta manera se destaca el valor elevado para el Cd en la localidad La Caranta Edo. Nueva Esparta y para él Ni en la localidad de Taguao Edo. Vargas, lo cual es importante destacar, ya que en esta zona también se encontraron valores elevados de Cu, Cr y Pb.

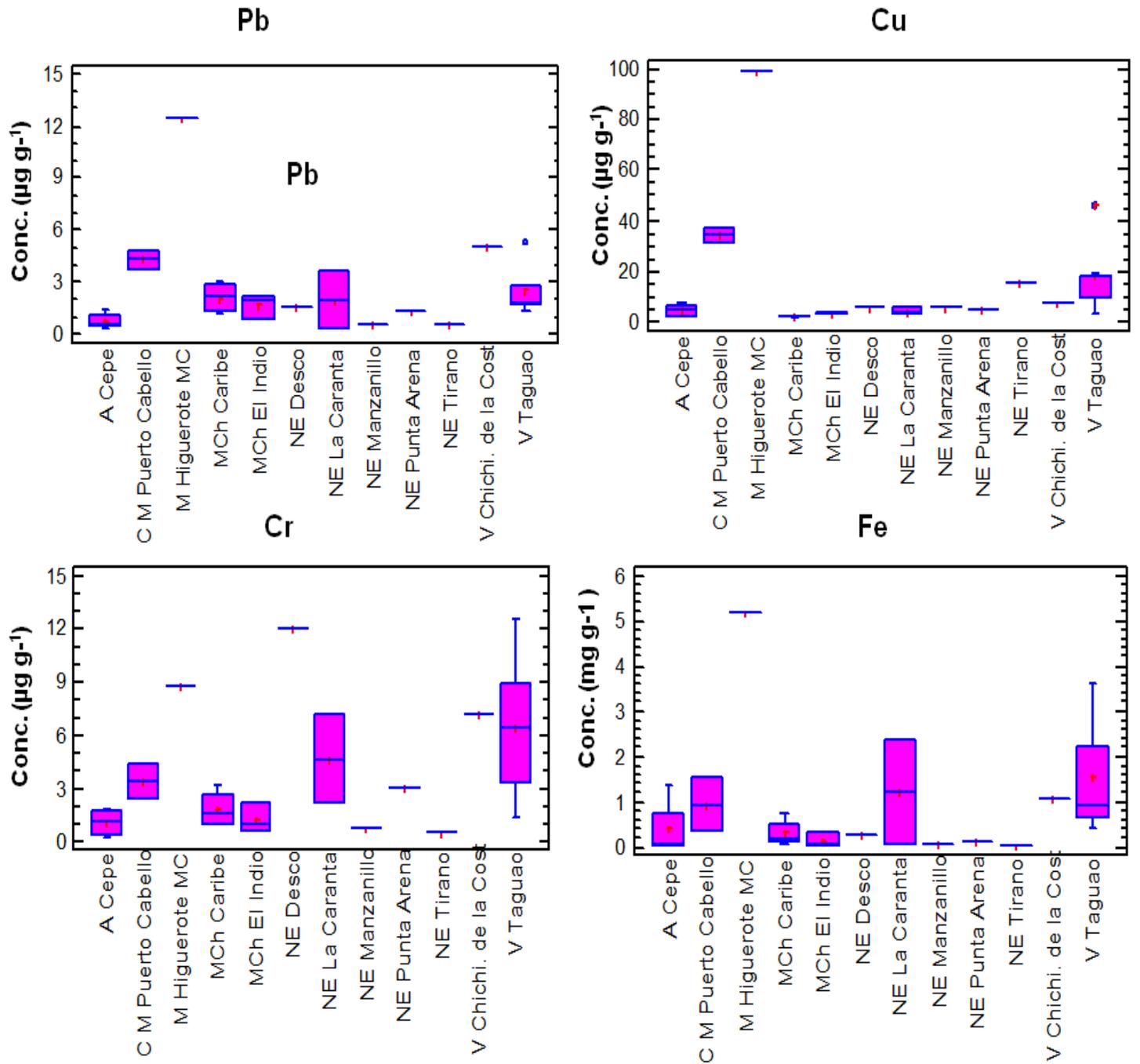


Figura 7. Diagrama de cajas y bigotes para los elementos con diferencias significativas entre localidades (ANOVA una via $P=0,05$)

En la Figura 8 se muestran los diagramas de cajas y bigotes para los elementos que presentaron diferencias significativas en sus concentraciones promedio entre las especies de algas. Los resultados revelan que la especie *Cladophora chaetomorpha* (con n=1) se diferencia del resto presentando la mayor concentración de Pb, Cu y Fe. Esta especie fue colectada en Higuero de Marina Carrasco Edo. Miranda, donde precisamente se encontraron las diferencias significativas para los mismos elementos. La especie que mostró el siguiente mayor valor de Fe y Cu fue *Padina gymnospora*.

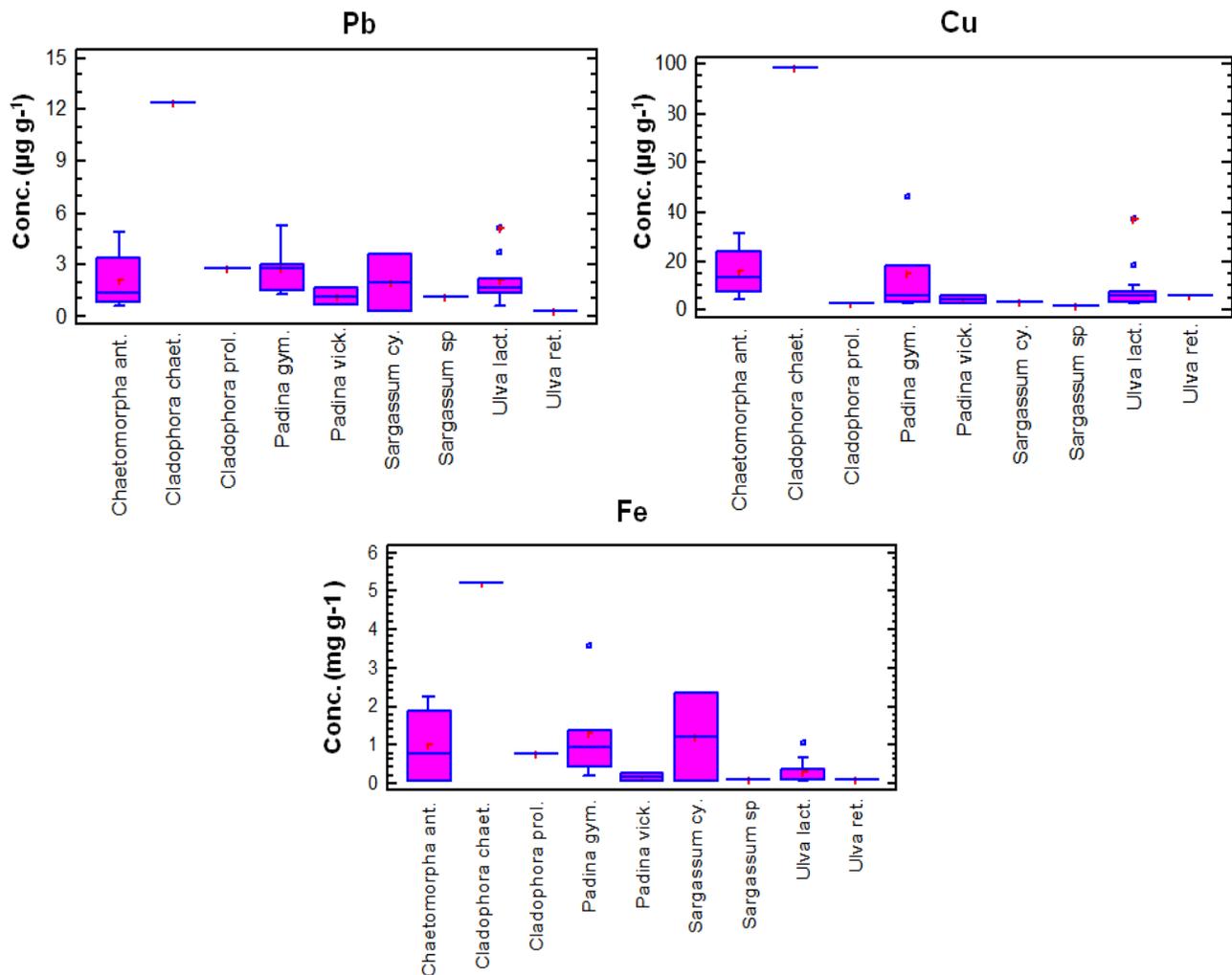


Figura 8. Diagrama de cajas y bigotes para los elementos con diferencias significativas en distintas especies (ANOVA una vía P=0,05)

Dado que la muestra correspondiente a la especie *Cladophora chaelomorpha* localizada en Higuero Marina Carraco Edo. Miranda resultó diferente significativamente del resto de las muestras, se excluyó de la data para determinar diferencias significativas entre especies y entre localidades para el resto de la data, aplicando nuevamente el análisis ANOVA de una vía.

Los resultados mostraron diferencias significativas para el Cu y el Cr entre localidades, resultando una muestra colectada en Taguao y otra en La Caranta Edo. Nueva Esparta las que mostraron las diferencias, respectivamente. En la Figura 9 se muestra el diagrama de cajas y bigotes correspondiente y en el Apéndice 4 se muestran los valores de df, F y P obtenidos en el análisis.

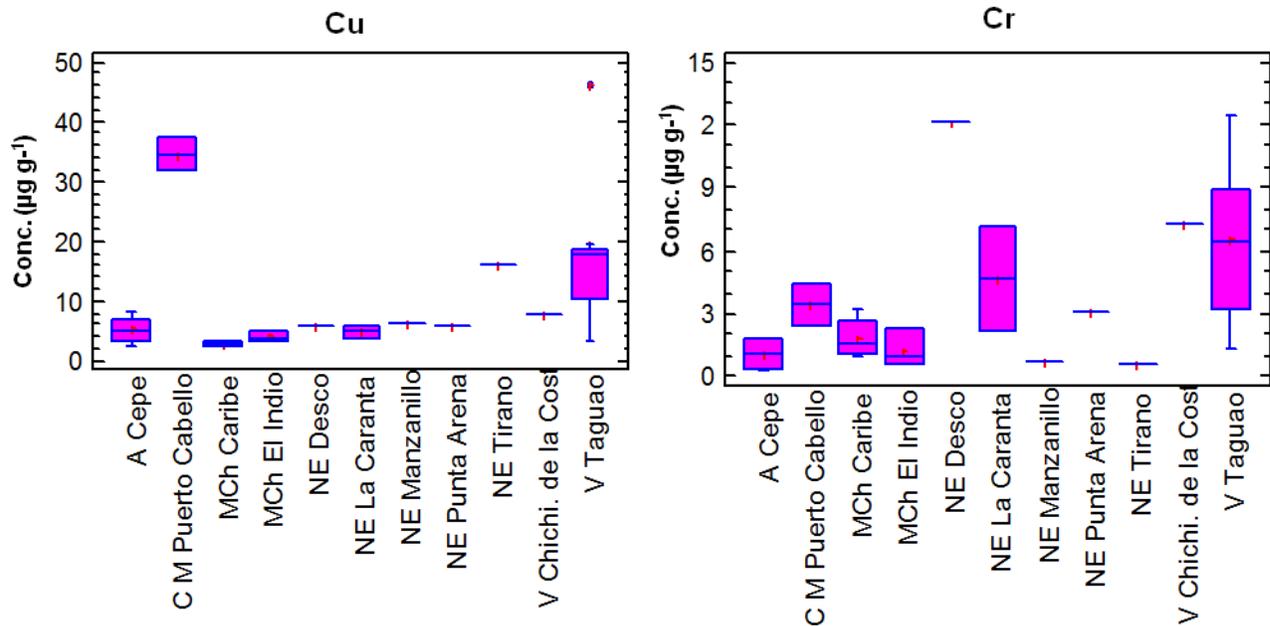


Figura 9. Diagrama de cajas y bigotes para los elementos con diferencias significativas entre localidades excluyendo Higuero Edo. Miranda (ANOVA una vía, $P=0,05$)

5.4.1 Estudio de la interacción entre los efectos de la especie y la localidad sobre el contenido metálico

El estudio de la interacción entre los efectos de la especie y la localidad (factores) sobre el contenido metálico en las algas, se realizó con ocho muestras (Apéndice 5) correspondientes a dos especies de alga (*Padina Gymnospora* y *Ulva Lactuca*), colectadas en tres localidades (Edo. Aragua, Cepe; Edo. Miranda, Chuspa Playa Caribe y Edo. Vargas, Taguao Arrecife). El estudio se realizó aplicando el análisis ANOVA de dos vías ($P=0,05$), para el cual se tuvo que transformar la data del Cr y Ca, ya que sus varianzas no resultaron homogéneas.

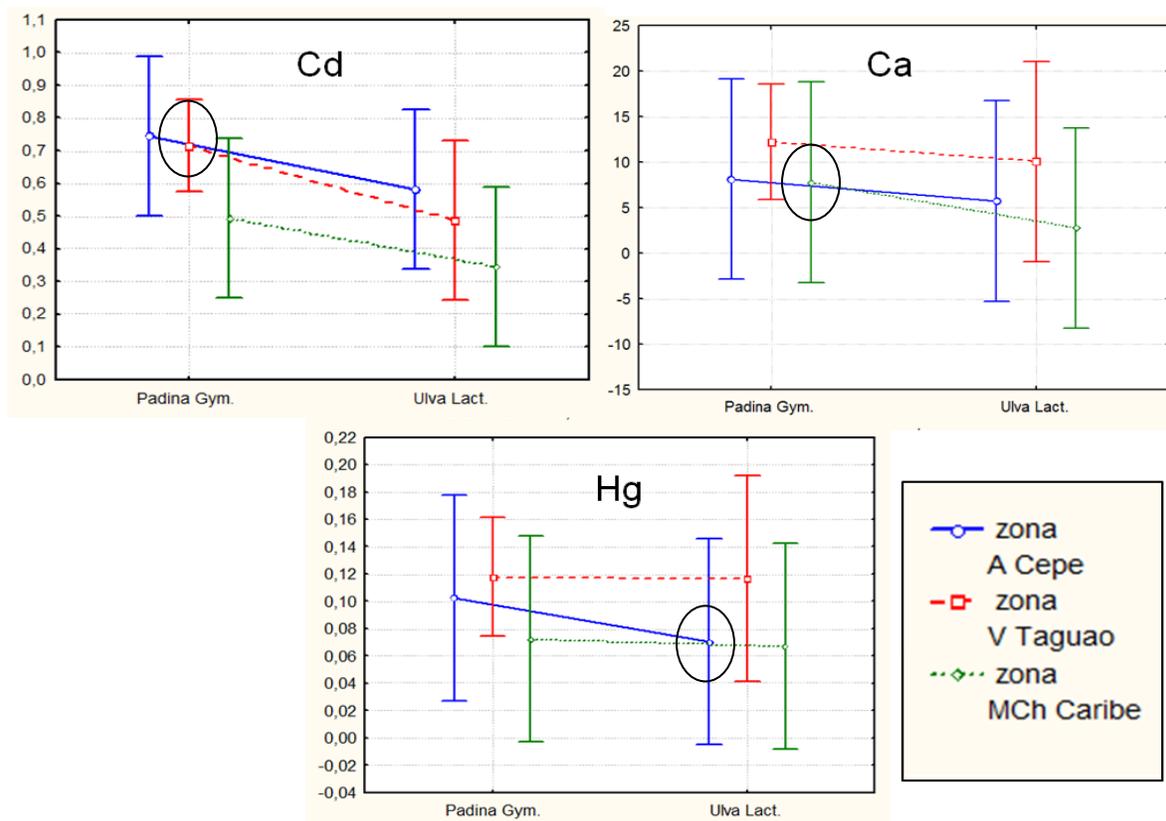


Figura 10. Gráficos de la interacción Especie - Zona para *Padina gymnospora* y *Ulva lactuca*

Los resultados (Apéndice 6) indicaron que no hay interacción entre los factores especie y localidad sobre la concentración de los metales en las muestras analizadas. Sin embargo, para el Cd, Hg y Ca se encontró un intercepto significativo entre dos localidades (Figura 10) en cada caso, que apuntan a diferencias entre las medias de Cd y Hg entre las localidades de Cepe y Chuspa Playa Caribe Edo. Miranda, encontrándose en esta última localidad las menores concentraciones de ambos elementos, y de Ca entre Cepe y Taguao, encontrándose en esta última localidad las mayores concentraciones.

5.5. Estudios de agrupamiento

Se realizó un análisis preliminar de agrupamiento (*Cluster Analysis*), así como otros de correlaciones múltiples y de Análisis de componentes principales (PCA) para conocer como se relacionan las variables de la data en estudio.

Análisis de agrupamiento

El análisis de cluster es un análisis preliminar de agrupamiento. El dendograma obtenido se muestra en la Figura 11, donde se observa que los metales Pb, Cu, Fe, Ni y Cr están relacionados entre sí, y se encuentran cercanos a la variable Muestreo, mientras que el Mg, Zn, Ca y Cd están más cercanos a la variable Muestra (especie).

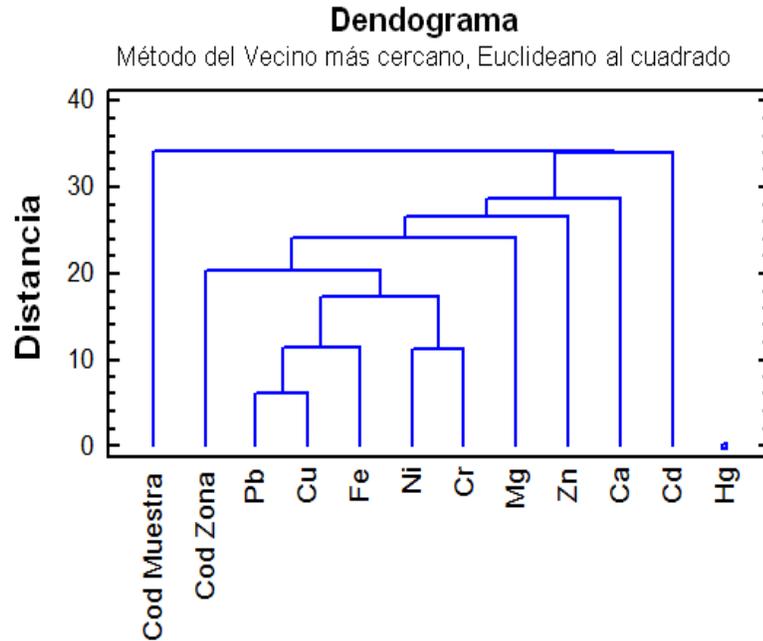


Figura 11. Dendrograma obtenido para las muestras de algas

Correlaciones múltiples

El estudio de correlaciones múltiples realizado, empleando como estadístico el coeficiente de Spearman (Apéndice 7), mostró correlaciones significativas ($P=0,05$) entre distintas variables (Figura 12).

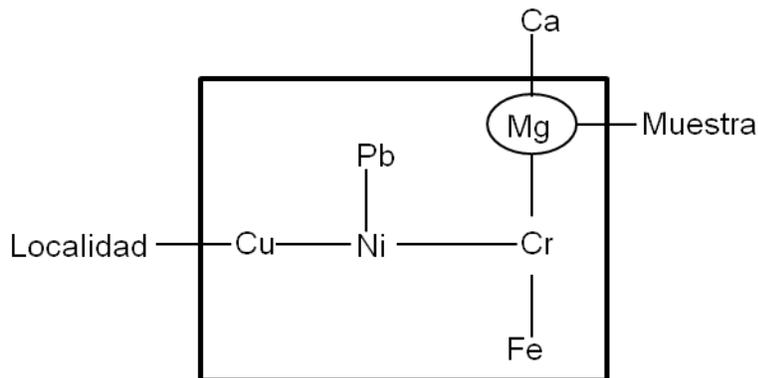


Figura 12. Correlaciones significativas obtenidas en la data

Entre las correlaciones significativas obtenidas ($P=0,05$) se encontró la del Mg con la especie, así como entre el Mg y el Ca (Figura 13), atribuidas a que ambos elementos mayoritarios forman parte del contenido metálico de las algas marinas. El calcio compite con otros iones cargados positivamente, como el Mg^{+2} , Na^+ y K^+ , [1, 32] es por esta razón que estos elementos están estrechamente relacionados.

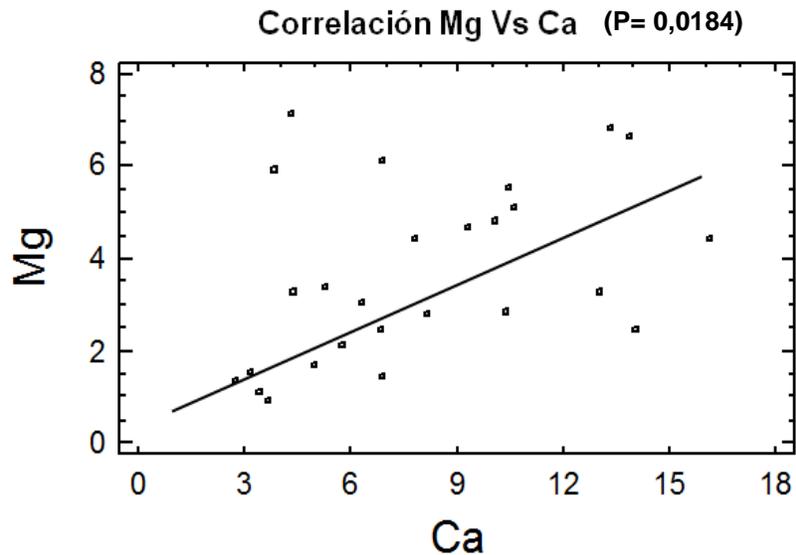


Figura 13. Correlación entre el Ca y el Mg

Otra de las correlaciones importantes es la obtenida entre la localidad y todos los elementos excepto el Ca (Figura 12). Entre los elementos se encontraron correlaciones positivas entre el Ni y los elementos Fe, Cu, Cr y Pb (Figura 14).

En la Figura 14 c) se observa la correlación Cr vs Ni donde se observan dos puntos que salen de la tendencia de la correlación y que corresponden a valores de La Caranta, en la isla de Margarita. Así mismo, en la Figura 14 d) se observan dos tendencias de diferente pendiente en la correlación Pb vs Ni.

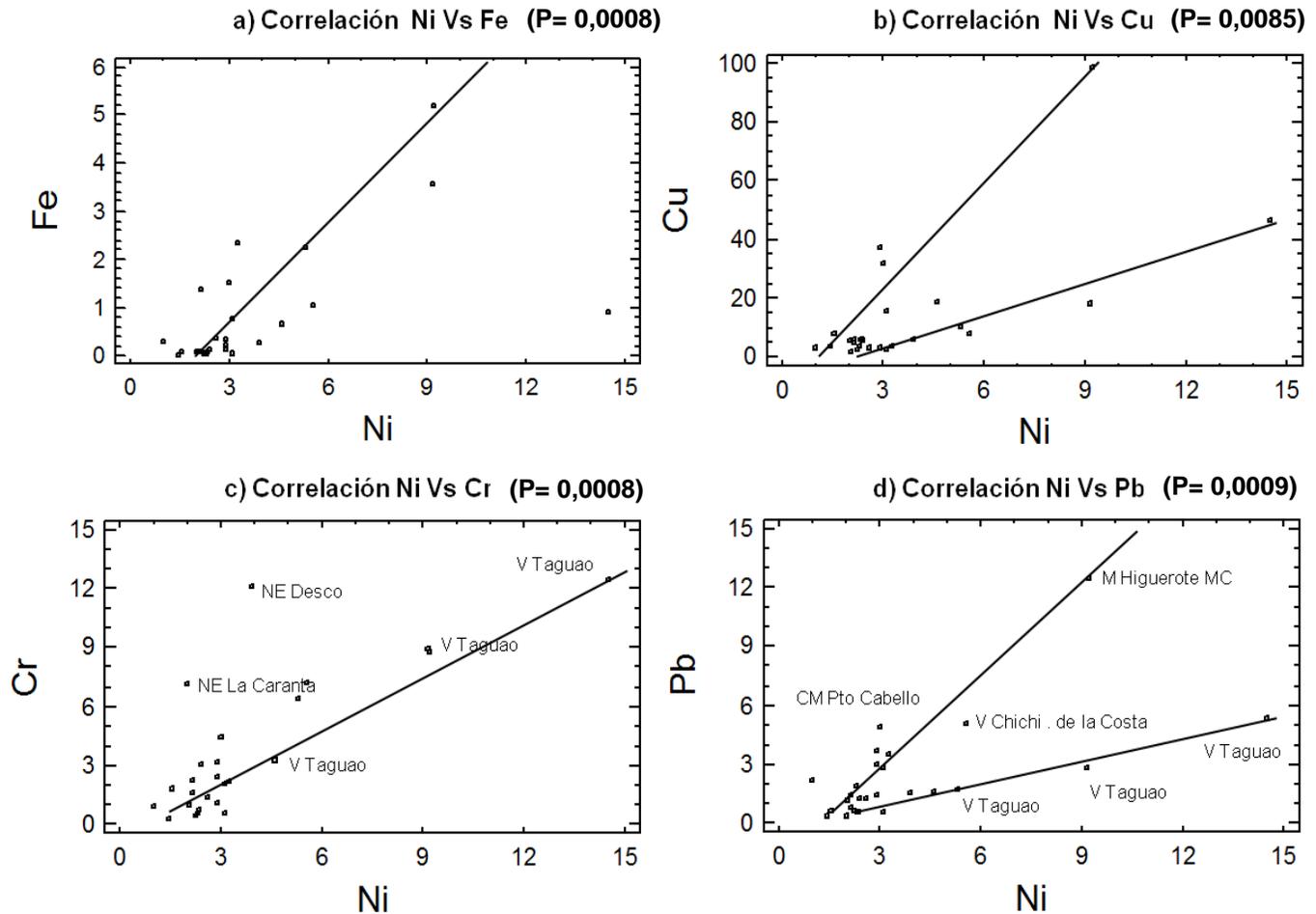


Figura 14. Correlaciones del Ni con otros elementos

Análisis de Componentes principales

Este análisis factorial encontró cuatro componentes principales que explican el 75,2% de la varianza de la data (Apéndice 8). En la Figura 15 se muestran los gráficos correspondientes, en donde se observa que el Componente 1 (33,96%) agrupa a los elementos Pb, Ni, Cu, Cr y Fe, los cuales pueden asociarse a la localidad debido a su cercanía. Adicionalmente, la presencia de los elementos Ni y Cr estaría explicada por el Componente 2. Este Componente 2 (19,6%), explica la variabilidad del Mg, y junto con el Componente 3 (11,26%) explicaría la de Ca y de la especie (Cód. Muestra) con la

cual se podrían agrupar. El Componente 3 explicaría la presencia de Cd y el Componente 4 (10,37 %) la de Zn.

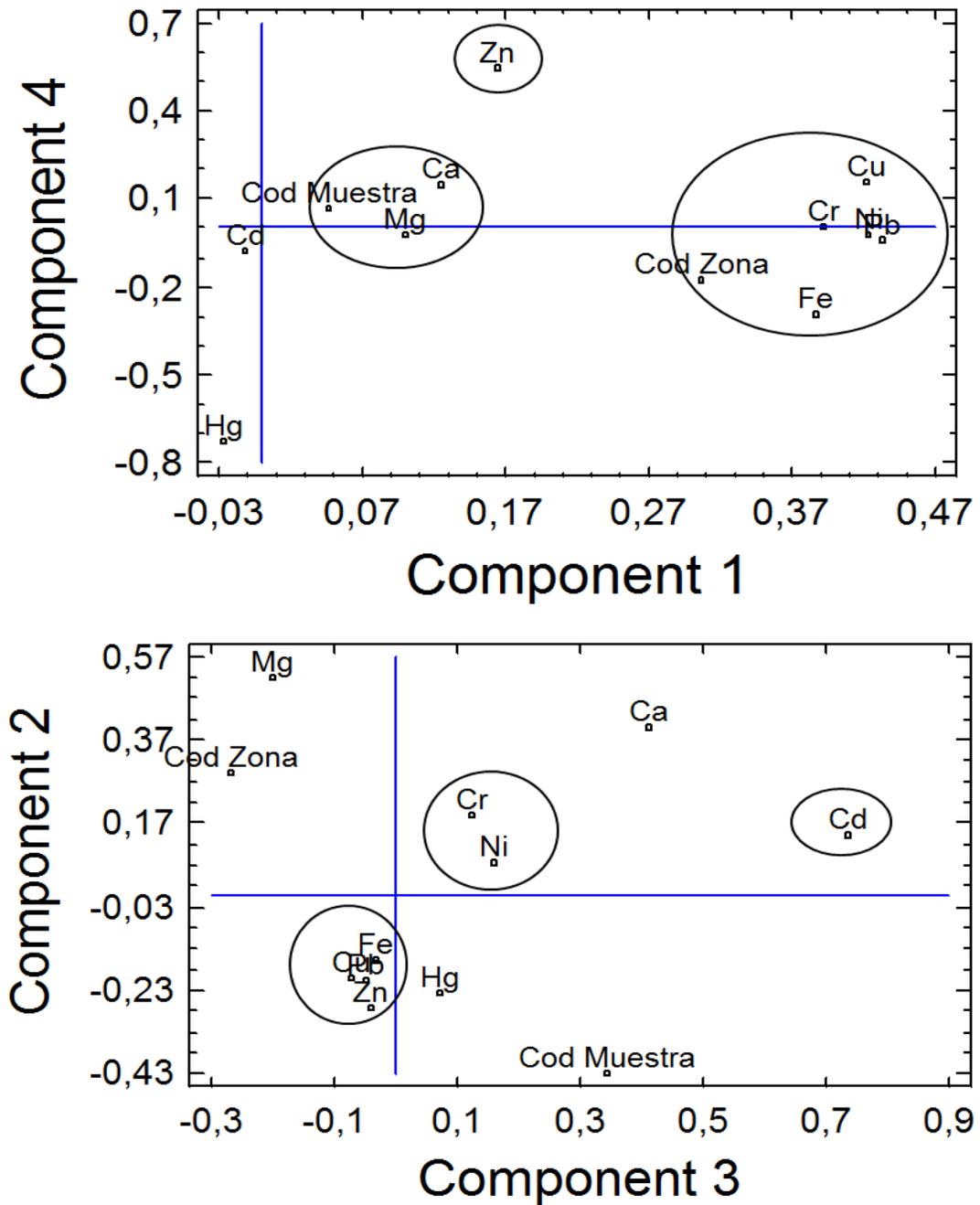


Figura 15. Grafico de Análisis de Componentes Principales

5.6 Posibles fuentes de entrada de metales pesados en las aguas marinas en distintas localidades de la costa central y de la isla de margarita, Venezuela.

Los resultados obtenidos mediante los diferentes instrumentos de análisis estadísticos aplicados a la data, muestran que la exposición de las especies de algas en ambientes posiblemente contaminados, modifica su contenido de metales. De esta manera, los mayores valores de concentraciones de los elementos Cu, Cr, Fe y Pb se encontraron en una especie localizada en una marina que tiene un amplio movimiento, Marina Carrasco en Higuerote, la cual presentó diferencias significativas del resto de las localidades. Todos estos elementos se observaron asociados entre sí y a la localidad. Así mismo, de acuerdo a los resultados obtenidos, los lugares con menor exposición fueron Cepe Edo Aragua, Chuspa Playa Caribe y las localidades de Punta Arenas y Manzanillo ubicadas en el Edo Nueva Esparta.

Así mismo, se destaca la diferencia significativa obtenida para el Ni en una zona de elevado tráfico de cargueros de petróleo, Taguao, donde se encuentra la planta eléctrica “Ricardo Zuloaga” (hoy conocida como “Josefa Joaquina Sánchez” ubicada en el sector Arrecife de la población de Tacoa Edo. Vargas. En la Figura 16 se muestra una imagen de la misma y su cercanía a las aguas marinas de esa localidad. Este resultado concuerda con lo señalado en la literatura, que indica que el Ni entra en las aguas de mar por descargas de plantas de energía eléctrica ^[37], así como por emisiones de crudo y sus derivados. La correlación del Ni con el Cr no resulta sorprendente ya que éste es otro metal que se encuentra en los derivados del petróleo, así como en pigmentos de pintura, por lo que su asociación muestra al crudo como su origen común ^[2,38,39] en esta localidad. La correlación entre el Ni y el Fe, pudiera asociarse con la presencia del Fe en las aguas y suelos de la misma zona, a consecuencia de la herrumbre de los tanqueros que traen el crudo y de otras embarcaciones turísticas, que termina precipitando al suelo marino.



Figura 16. Planta de generación eléctrica “Ricardo Zuloaga” (Taguao)

La forma dual de la correlación existente entre Ni y el Pb, indica que el Pb se introduce por dos fuentes distintas, siendo la que corresponde a la menor relación Pb/Ni la misma que para el Ni, es decir emisiones de crudo en las aguas. La tendencia donde la relación Pb/Ni es mayor se observa en las otras localidades donde el tráfico es turístico (Muelle Pto. Cabello, Chichiriviche de la costa e Higuero Marina Carrasco Edo. Miranda), donde el elemento se asociaría a los desechos de gasolina, entre otras sustancias tóxicas por embarcaciones y medios de transportes acuáticos turísticos y de pesca, que, debido a su uso persistente por años, pudiera permanecer acumulado en los suelos y rocas de las zonas expuestas.

Aunque el diseño muestral no fue el más idóneo para dar indicios de diferencias entre especies en cuanto a su capacidad como especie biomonitor, los resultados obtenidos para las especies con mayor número de replicas analizadas, *Padina gymnospora* y *Ulva lactuca*, muestran un intervalo amplio de concentraciones de los metales analizados, y fueron las que se repitieron en más localidades, por lo que ambas pudieran ser empleadas. Otros de los factores a tener en cuenta para su selección serían el ciclo y tiempo de vida, y facilidad para su toma.

VI. CONCLUSIONES

La población de algas analizadas mostró concentraciones elevadas de Pb, Cu, Cr, Fe en la localidad de la Marina Carrasco en Higuero, la cual se diferenció significativamente del resto de las localidades, seguida de Taguao donde se encontraron concentraciones elevadas y diferentes significativamente de Ni.

El agrupamiento de los elementos muestra que el origen de los elementos Ni y Cr son principalmente las emisiones importantes de crudo al agua de mar, donde precipitarían al suelo en la zona de Taguao, donde el crudo regularmente es descargado para su consumo en la planta eléctrica Ricardo Zuloaga. En esta localidad, las concentraciones de Fe en las algas se ve aumentada por la precipitación de compuestos de Fe asociados a la herrumbre de los tanqueros que traen el crudo. Estos derrames de crudo también aportarían concentraciones importantes de Pb y Cu, aunque el principal aporte de Pb estaría asociado al empleo de gasolina y combustibles por las embarcaciones en zonas turísticas, lo cual domina la concentración de este elemento en las algas en las zonas turísticas como la Marina Carrasco de Higuero, el Muelle de Puerto Cabello y Chichiriviche de la Costa.

Las localidades menos expuestas correspondieron a las playas de Cepe Edo Aragua, Playa Caribe en Chuspa y algunas playas del Edo Nueva Esparta como Punta Arenas y Manzanillo.

Aunque no se encontraron diferencias entre las especies de algas, en cuanto a su capacidad para su empleo como especies biomonitoras, el amplio intervalo de concentraciones de los diferentes metales tóxicos encontrados en la *Padina gymnospora* y la *Ulva lactuca*, junto a su abundancia y presencia en varias de las zonas muestreadas, podría ser elementos para seleccionarlas para próximos estudios.

VII. RECOMENDACIONES

Para la escogencia de especies de algas a ser empleadas como bioindicadores de metales en aguas marinas, es importante plantear un diseño muestral previo dirigido que garantice el alcance de los objetivos planteados. En particular destacar la importancia de contar con réplicas independientes por especie en cada localidad, a fin de realizar un buen análisis estadístico.

El muestreo no debe diferenciarse en tiempo para evitar efectos de la estacionalidad de las corrientes de aguas y movimientos del suelo.

Asimismo, es importante contar con muestras de sedimentos que permitan determinar, además de la concentración de los metales, el nivel de contaminación en las algas, como es el Factor de Bioacumulación.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] **Peña E., Palacios M. y Ospina N.**, (2005), Algas como indicadoras de contaminación, Primera Edición, Editorial Universidad del Valle, Colombia-Cali, 17,18, 51-59.
- [2] **Forstner, U.**, (1981), Metal pollution assessment from sediment analysis En: Metal Pollution in the Aquatic Environment. Forstner & Wittmann (Eds.), Springer-Verlag Berlin, Chapt D, 110-196.
- [3] **Soto E., Leighton G.**, (1995), Indicadores biológicos de ecosistemas marinos de fondos blandos y su importancia en los programas de monitoreo ambiental, Universidad de Valparaíso, Instituto de oceanología, Laboratorio de Ecología e impacto ambiental, Villa del mar-Chile.
- [4] **Beltrami C.**, (2001), La contaminación, Segunda edición, editorial Longseller, Buenos Aires-Argentina.
- [5] **Aguilar, L.**, Blog Contaminación Ambiental. <http://contaminacion-ambiente.blogspot.com/2006/10/que-es-la-contaminacion-ambiental.html>. Consultado septiembre 2009.
- [6] **Luján A.**, (2000), Las algas, indicadoras de la calidad del agua. Universidad Nacional de Río Cuarto, Facultad de ciencias exactas, Dpto. de ciencias Naturales., Córdoba-Argentina.
- [7] **Wallenstein F., Couto R., Amaral A., Wilkinson M., Neto A. y Rodrigues A.**, (2009), Baseline metal concentrations in marine algae from São Miguel (Azores) under different ecological conditions – Urban proximity and shallow water hydrothermal activity. *Marine Pollution Bulletin*. 58, 424-455.
- [8] **Barbour M., Gerritsen J., Snyder B., y Stribling J.**, (1999), Rapid Bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish. *Environmental Protection Agency*, Office of Water, Washington, D.C.

- [9] **Gonzalez M.J., Fernandez M. y Hernandez M.L.**, (1990), Influence of acid mine water of the distribution of heavy metals in soils of Doñana National Park. Application of multivariate analysis. *Environmental technology*. 11, 1025-1032.
- [10] **Schinitman N. I.**, (2004), *Metales pesados, ambiente y salud*. www.ecoportel.net consultado Septiembre 2009.
- [11] **Decreto 883**, (1995), Gaceta Oficial Extraordinaria. 5.021.
- [12] **United States Environmental Protection Agency (EPA)**, (2006), National Recommended Water Quality Criteria.
- [13] **Lanza G., Hernández S. y Carbajal J.**, (2002), Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación (bioindicadores), Primera edición, editorial Plaza y Valdés, México, 19.
- [14] **Farías S., Pérez S., Vodopivec C. y Smichowski P.**, (2002), Levels of essential and potentially toxic trace metals in Antarctic macro algae, *Spectrochimica Acta Part B* 57, 2133–2140.
- [15] **Wilson J.**, (1994), The role of bioindicators in estuarine management. *Estuaries*, 17(1A), 94–101.
- [16] **Vázquez D.**, (2004), Diccionario de ciencias, Tercera edición, editorial Oxford-Complutense, Madrid-España, 33-34.
- [17] **Vodopivec C., Farías S. y Smichowski P.**, (2004), Niveles de metales pesados en seis especies de algas marinas de la península Antártica, *Actas del V° Simposio Argentino y I° Latinoamericano sobre Investigaciones Antárticas CD-ROM*, Resumen Expandido N° 203BG, 4pp. www.dna.gov.ar/CIENCIA/SANTAR04/CD/INDEX.HTM. Consultado septiembre 2009.
- [18] **Ospina N. y Peña E.**, (2004), Alternativas de monitoreo de calidad de aguas: algas como bioindicadores, *Acta Nova*, Vol. 2, N°4.
- [19] **Klimmek S., Stan H.J., Wilke A., Bunke G., Buchhloz R.**, (2001), Comparative analysis of the biosorption of cadmium, lead, nickel, and zinc by algae, *Environ. Sci. Technol*, 35, 4283–4288.

- [20] **Sagredo C., Hernández S., Herrera C. y Franco C.**, (2007), Análisis cualitativo y cuantitativo de metales traza de una especie alga, mediante voltametría de redisolución anódica, *Ciencia Ahora*, 19 (3). Universidad Católica de la Santísima Concepción. <http://www.ciencia-ahora.cl/toc.htm>. Consultado septiembre 2009.
- [21] **Quijada M.**, (2006), Implementación de líquenes como biomonitores de contaminación por metales pesados (Pb, Cu, Zn, Cd, Ni), en la ciudad de Caracas, Venezuela, Trabajo especial de grado, Facultad de Ciencias. Departamento de Geoquímica, Universidad Central de Venezuela, Caracas-Venezuela.
- [22] **Réquiz M. G.**, (2006), Determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) utilizando líquenes como bioindicadores en estudios de contaminación atmosférica en el área de la Ciudad de Caracas, Venezuela, Trabajo especial de grado, Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela, Caracas-Venezuela.
- [23] **Hawksworth, D. L., Iturriaga T. y Crespo A.**, (2005), Líquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los trópicos, *Rev. Iberoam Micol.* 22, 71-82.
- [24] **Hernández J. E.**, (2007), Estudios sobre los líquenes como bioindicadores de la contaminación atmosférica en Caracas, Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela, Jardín Botánico de Caracas, Universidad central de Venezuela, Caracas-Venezuela.
- [25] **Barreiro R., Real C. y Carballeira A.**, (1993), Heavy-metal accumulation by fucus ceranoides in a small estuary in north-west spain. *Marine Environmental Research*, 36, 39–61.
- [26] **Guerinot M. y Salt D.**, (2001), Fortified foods and phytoremediation: Two sides of the same coin. *Plant Physiology*, 125, 164–167.
- [27] **Bretschneider S., Marcano V.**, (1995), Utilización de líquenes como indicadores de contaminación por metales pesados y otros agentes en el Valle de Mérida, Resumen I, Congreso Venezolano de Ficología. *Forest Venez*, 1, 35 36.

- [28] **Aru R.** (2008), Estudio del contenido de metales pesados en aguas y peces del Embalse Suata- Edo Aragua. Trabajo especial de grado, Universidad Central de Venezuela.
- [29] **Horno microondas marca CEM, modelo MDS 2000. Manual del equipo,** Procedimiento y programa de digestión propuesto para algas, BI-8.
- [30] **Palma M.,** (2009), Evaluación de contenido de metales pesados en aguas y peces del Lago de Valencia, Trabajo especial de grado, Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela, Caracas-Venezuela.
- [31] **Carrillo S., Casas M., Ramon F.,** (2002), Algas marinas de Baja California Sur, México: Valor nutrimental. *ALAN*, vol.52, no.4, p.400-405. ISSN 0004-0622.
- [32] **Smart,** Growing intelligently. <http://www.smart-fertilizer.com/pmf>. Consultado Octubre 2010
- [33] **Guerrero M.,** (1991), La Ciencia para todos, Primera edición, Editorial Fondo de Cultura Económica, S.A. ISBN 968-16-3634-1. México, D.F. http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/12/htm/sec_16.htm]. Consultado Octubre 2010.
- [34] **Malea P & Haritonidis S,** (2000), Use of the green alga *Ulva rigida* C. Agardh as an indicator species to reassess metal pollution in the Thermaikos Gulf, Greece, after 13 years, *Journal of Applied Phycology* 12: 169–176. Thessaloniki, Greece.
- [35] **Johnston HW.,** (1966), The biological and economic importance of algae. Part 2. *Tatuara*. 14:30-63.
- [36] **Machado J.,** (2007), Plantas que retienen metales pesados. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, D.F México.
- [37] **Lenntech,** water treatment solutions. <http://www.lenntech.com/index.htm>. Consultado Octubre 2010.
- [38] **MOPU,** (1982), Los residuos tóxicos y peligrosos. Dirección General del Medio Ambiente, Madrid, pag 398.
- [39] **Klein L.A., Lang M., Nash M. y Kirschner SL.,** (1974), Sources of metals in New York City wastewater. *Journal water Pollution Control Fed.* 46, 2653-2663

IX. APÉNDICES

Apéndice 1. Concentraciones promedios de los metales pesados determinados en las replicas de muestras de algas analizadas

N	Nº de colector	Genero y especie	Pb	Cd	Ni	Cr	Cu	Hg	Ca**	Fe**	Zn**	Mg**
23	3122	<i>Chaetomorpha antennina</i>	4,86 ± 0,09	0,0818±0,0002	3,02 ±0,05	4,42 ± 0,03	31,78 ± 0,01	0,1172 ± 0,0003	4,35	1,53	0,102	7,13
12	5-07-02-2010	<i>Chaetomorpha antennina</i>	0,9 ± 0,1	0,85 ± 0,04	2,1 ± 0,2	2,3 ± 0,4	4,8 ± 0,2	0,063 ± 0,004	13,84	0,07	0,022	6,65
20	3106	<i>Chaetomorpha antennina</i>	0,6 ± 0,1	0,82 ± 0,01	3,11 ±0,07	0,6 ± 0,2	16,0 ± 0,7	0,26 ± 0,02	4,38	0,04	0,065	3,28
5	3086	<i>Chaetomorpha antennina</i>	1,8 ± 0,3	0,121 ± 0,005	5,3 ± 0,2	6,4 ± 0,2	10,4 ± 0,3	0,13 ± 0,01	3,85	2,24	0,025	5,90
8	3075	<i>Cladophora chaetomorpha</i>	12,4 ± 0,8	0,64 ± 0,03	9 ± 1	8,80 ± 0,03	99 ± 1	0,09 ± 0,06	4,95	5,19	0,139	1,72
30	PE-2	<i>Cladophora prolifera</i>	2,82 ±0,02	0,82 ± 0,02	3,10 ±0,05	2,13 ± 0,01	2,58 ± 0,02	0,0616 ± 0,0008	16,11	0,76	0,047	4,41
3	2-14-2-2010	<i>Padina gymnospora</i>	1,5 ± 0,5	0,74 ± 0,02	2,15 ±0,09	1,7 ± 0,2	6,2 ± 0,5	0,10 ± 0,02	8,14	1,38	0,028	2,82
29	PE-1	<i>Padina gymnospora</i>	3,0 ± 0,2	0,49 ± 0,02	2,91 ±0,05	3,2 ± 0,1	3,20 ± 0,03	0,072 ± 0,003	7,80	0,22	0,054	4,44
1	3050	<i>Padina gymnospora</i>	5,30 ±0,02	0,67 ± 0,01	14,5 ± 0,4	12,5 ± 0,1	46 ± 5	0,101 ± 0,003	14,05	0,93	0,104	2,47
7	3067	<i>Padina gymnospora</i>	1,30 ±0,02	0,779 ± 0,006	2,61 ±0,03	1,4 ± 0,3	3,3 ± 0,9	0,136 ± 0,005	9,30	0,39	0,019	4,69
16	3085	<i>Padina gymnospora</i>	2,79 ±0,05	0,70 ± 0,02	9,1 ± 0,4	8,9 ± 0,1	18 ± 2	0,11709±0,00003	13,34	3,58	0,048	6,85
26	11-19-4-2010	<i>Padina vickersiae</i>	0,62 ±0,03	0,45 ± 0,03	2,24 ±0,03	0,5 ± 0,1	2,4 ± 0,5	0,0722 ± 0,0003	10,38	0,06	0,024	2,83
28	3107	<i>Padina vickersiae</i>	1,58 ±0,07	1,24 ± 0,02	3,9 ± 0,3	12,1 ± 0,7	5,9 ± 0,3	0,063 ± 0,009	6,87	0,25	0,043	6,10
4	1-14-02-2010	<i>Sargassum cymosum</i>	0,37 ±0,04	0,61 ± 0,02	1,45 ±0,08	0,3 ± 0,2	3,9 ± 0,1	0,06 ± 0,02	3,67	0,03	0,018	0,91
27	3107	<i>Sargassum cymosum</i>	3,58 ±0,06	0,67 ± 0,02	3,3 ± 0,6	2,2 ± 0,1	3,7 ± 0,1	0,87 ± 0,04	3,39	2,35	0,027	1,12
31	PE-3	<i>Sargassum sp</i>	1,2 ± 0,3	0,40 ± 0,02	2,1 ± 0,3	1,0 ± 0,3	2,3 ± 0,6	0,155 ± 0,003	5,27	0,09	0,129	3,37
25	10-19-4-2010	<i>Ulva lactuca</i>	0,6 ± 0,1	0,583 ± 0,002	1,55 ±0,04	1,9 ± 0,3	8,1 ± 0,1	0,07 ± 0,03	5,74	0,08	0,170	2,14
22	3109	<i>Ulva lactuca</i>	3,74 ±0,03	0,084 ± 0,004	2,89 ±0,06	2,461±0,009	37 ± 2	0,083 ± 0,008	10,62	0,35	0,078	5,10
32	PE-4	<i>Ulva lactuca</i>	1,4 ± 0,1	0,345 ± 0,009	2,9 ± 0,1	1,1 ± 0,1	3,2 ± 1,2	0,0673 ± 0,0007	2,75	0,11	0,090	1,35
14	7-07-02-2010	<i>Ulva lactuca</i>	1,9 ± 0,1	0,60 ± 0,04	2,3 ± 0,2	0,6 ± 0,2	3,7 ± 0,6	0,1975 ± 0,0006	6,28	0,05	0,013	3,06
18	8-27-2-2010	<i>Ulva lactuca</i>	2,16 ±0,08	0,056 ± 0,005	1,0 ± 0,1	0,96 ± 0,09	3,4 ± 0,6	0,063 ± 0,004	3,17	0,31	0,019	1,56
19	3102	<i>Ulva lactuca</i>	0,59 ±0,09	0,932 ± 0,008	2,36 ±0,07	0,74 ± 0,02	6,2 ± 0,7	0,053 ± 0,003	6,84	0,07	0,056	2,46
21	3108	<i>Ulva lactuca</i>	1,3 ± 0,5	0,828 ± 0,004	2,4 ± 0,2	3,1 ± 0,1	5,65 ± 0,09	0,132 ± 0,002	10,44	0,12	0,096	5,56
9	3094	<i>Ulva lactuca</i>	5,1 ± 0,2	0,55 ± 0,05	5,5 ± 0,6	7,20 ± 1,02	8,0 ± 0,6	0,077 ± 0,002	13,03	1,06	0,022	3,30
17	3056	<i>Ulva lactuca</i>	1,7 ± 0,1	0,487 ± 0,005	4,58 ±0,08	3,28 ± 0,03	18,7 ± 0,5	0,116 ± 0,005	10,05	0,65	0,019	4,80
24	3123	<i>Ulva reticulata</i>	0,37 ±0,07	0,505 ± 0,002	2,0 ± 0,1	7,2 ± 0,6	5,81 ± 0,01	0,12 ± 0,01	6,90	0,07	0,090	1,46

* Concentraciones expresadas en mg g⁻¹ para Ca, Fe, Zn y Mg y para el resto en µg g⁻¹, $\bar{x} \pm s_{dv}$, N = 2.

** una única replica analizada

Apéndice 2a. Promedios e intervalos de concentraciones para los metales en *Padina gymnospora* *

Elemento	Intervalo	Promedio \pm sdv	CV (%)
Pb	3 \pm 2	1,3 - 5,3	58
Cd	0,7 \pm 0,1	0,49 - 0,78	16
Ni	6 \pm 5	2,15 - 14,49	87
Cr	6 \pm 5	1,36 - 12,47	89
Cu	15 \pm 18	3,21 - 46,27	119
Hg	0,11 \pm 0,02	0,07 - 0,14	22
Ca	11 \pm 3	7,80 - 14,05	28
Fe	1,3 \pm 1,4	0,22 - 3,58	104
Zn	0,05 \pm 0,03	0,02 - 0,10	65
Mg	4 \pm 2	2,47 - 6,85	41

* Concentraciones expresadas en mg g⁻¹ para Ca, Fe, Zn y Mg y para el resto en μ g g⁻¹

$$\bar{x} \pm \text{sdv}, N = 5$$

Apéndice 2b. Promedios e intervalos de concentraciones para los metales en *Sargassum cymossum* *

Elemento	Intervalo	Promedio \pm sdv	CV (%)
Pb	0,37 - 3,58	2 \pm 2	115
Cd	0,61 - 0,67	0,64 \pm 0,04	7
Ni	1,45 - 3,26	2,4 \pm 1,3	54
Cr	0,32 - 2,18	1,25 \pm 1,32	105
Cu	3,73 - 3,93	3,8 \pm 0,1	4
Hg	0,06 - 0,87	0,5 \pm 0,6	123
Ca	3,39 - 3,67	3,5 \pm 0,2	6
Fe	0,03 - 2,35	1 \pm 2	138
Zn	0,02 - 0,03	0,023 \pm 0,006	28
Mg	0,91 - 1,12	1,0 \pm 0,1	15

* Concentraciones expresadas en mg g⁻¹ para Ca, Fe, Zn y Mg y para el resto en μ g g⁻¹

$$\bar{x} \pm \text{sdv}, N = 2$$

Apéndice 2c. Promedios e intervalos de concentraciones para los metales en *Ulva lactuca* *

Elemento	Intervalo	Promedio \pm sdv	CV (%)
Pb	0,59 - 5,10	2 \pm 1	71
Cd	0,06 - 0,93	0,5 \pm 0,3	60
Ni	0,99 - 5,55	3 \pm 1	50
Cr	0,61 - 7,20	2,4 \pm 2,1	87
Cu	3,17 - 37,18	10 \pm 11	106
Hg	0,05 - 0,20	0,10 \pm 0,05	48
Ca	2,75 - 13,03	8 \pm 4	47
Fe	0,05 - 1,06	0,3 \pm 0,3	110
Zn	0,01 - 0,17	0,06 \pm 0,05	83
Mg	1,35 - 5,56	3 \pm 2	48

* Concentraciones expresadas en mg g⁻¹ para Ca, Fe, Zn y Mg y para el resto en μ g g⁻¹

$$\bar{x} \pm \text{sdv}, N = 9$$

Apéndice 2d. Promedios e intervalos de concentraciones para los metales en *Chaetomorpha antennina* *

Elemento	Intervalo	Promedio \pm sdv	CV (%)
Pb	0,61 - 4,86	2 \pm 2	96
Cd	0,08 - 0,85	0,5 \pm 0,4	90
Ni	2,14 - 5,31	3 \pm 1	40
Cr	0,58 - 6,42	3 \pm 3	75
Cu	4,76 - 31,78	16 \pm 12	74
Hg	0,06 - 0,26	0,145 \pm 0,085	59
Ca	3,85 - 13,84	7 \pm 5	73
Fe	0,04 - 2,24	1,0 \pm 1,1	113
Zn	0,02 - 0,10	0,054 \pm 0,038	71
Mg	3,28 - 7,13	6 \pm 2	30

* Concentraciones expresadas en mg g⁻¹ para Ca, Fe, Zn y Mg y para el resto en μ g g⁻¹

$$\bar{x} \pm \text{sdv}, N = 4$$

Apéndice 2e. Promedios e intervalos de concentraciones para los metales en *Padina vickersiae* *

Elemento	Intervalo	Promedio \pm sdv	CV (%)
Pb	1,1 \pm 0,7	0,62 - 1,58	62
Cd	0,8 \pm 0,6	0,45 - 1,24	66
Ni	3 \pm 1	2,24 - 3,88	38
Cr	6 \pm 8	0,52 - 12,08	130
Cu	4 \pm 3	2,41 - 5,94	60
Hg	0,07 \pm 0,01	0,06 - 0,07	10
Ca	9 \pm 2	6,87 - 10,38	29
Fe	0,2 \pm 0,1	0,06 - 0,25	85
Zn	0,03 \pm 0,01	0,02 - 0,04	41
Mg	4 \pm 2	2,83 - 6,10	52

* Concentraciones expresadas en mg g⁻¹ para Ca, Fe, Zn y Mg y para el resto en μ g g⁻¹

$$\bar{x} \pm \text{sdv}, N = 4$$

Apéndice 3. ANOVA de una vía, toda la data.

Elementos	Especie			Zona		
	df	F	P	df	F	P
Pb						
Entre grupos	8	5,35	0,0018	11	8,45	0,0002
Dentro de grupos	17			14		
Total	25			25		
Cd		KW*				
Entre grupos	8	0,53	0,8146	11	1,96	0,118
Dentro de grupos	17			14		
Total	25			25		
Ni						
Entre grupos	8	1,2	0,3532	11	1,83	0,1433
Dentro de grupos	17			14		
Total	25			25		
Cu						
Entre grupos	8	6,27	0,0008	11	11,21	0
Dentro de grupos	17			14		
Total	25			25		
Cr						
Entre grupos	8	1,03	0,4519	11	2,9	0,0319
Dentro de grupos	17			14		
Total	25			25		
Hg		KW*			KW*	
Entre grupos	8	1,47	0,2379	11	1,32	0,3059
Dentro de grupos	17			14		
Total	25			25		
Ca						
Entre grupos	8	1,65	0,1837	11	0,46	0,9018
Dentro de grupos	17			14		
Total	25			25		
Fe						
Entre grupos	8	3,63	0,0121	11	2,89	0,0327
Dentro de grupos	17			14		
Total	25			25		
Zn						
Entre grupos	8	1,18	0,3648	11	0,88	0,5745
Dentro de grupos	17			14		
Total	25			25		
Mg						
Entre grupos	8	2,08	0,0967	11	2,01	0,1101
Dentro de grupos	17			14		
Total	25			25		

*KW: se le aplicó la prueba de Kruskal – Wallis

Apéndice 4. ANOVA de una vía sin la localidad de Higuerote Marina Carrasco Edo. Miranda.

Elementos	Especie			Zona		
	df	F	P	df	F	P
Pb						
Entre grupos	7	0,47	0,8459	10	2,22	0,0838
Dentro de grupos	17			14		
Total	24			24		
Cd						
Entre grupos	7	0,61	0,7437	10	2,15	0,0927
Dentro de grupos	17			14		
Total	24			24		
Ni						
Entre grupos	7	0,85	0,5659	10	1,54	0,225
Dentro de grupos	17			14		
Total	24			24		
Cu						
Entre grupos	7	0,49	0,8304	10	2,77	0,04
Dentro de grupos	17			14		
Total	24			24		
Cr						
Entre grupos	7	0,88	0,5418	10	2,82	0,0378
Dentro de grupos	17			14		
Total	24			24		
Hg						
Entre grupos	7	1,67	0,1829	10	1,45	0,2563
Dentro de grupos	17			14		
Total	24			24		
Ca						
Entre grupos	7	1,78	0,1568	10	0,46	0,8923
Dentro de grupos	17			14		
Total	24			24		
Fe						
Entre grupos	7	0,88	0,5426	10	0,9	0,5565
Dentro de grupos	17			14		
Total	24			24		
Zn						
Entre grupos	7	0,83	0,579	10	0,64	0,7554
Dentro de grupos	17			14		
Total	24			24		
Mg						
Entre grupos	7	2,17	0,0907	10	2,05	0,1065
Dentro de grupos	17			14		
Total	24			24		

Apéndice 5. Muestras empleadas en el estudio de la interacción entre los efectos de la especie y la localidad sobre el contenido metálico (ANOVA de dos vías)

Muestras	Especie	Zona de muestreo
1	<i>Padina Gymnospora</i>	Edo. Aragua, Cepe
2	<i>Padina Gymnospora</i>	Edo. Miranda, Chuspa Playa Caribe
3	<i>Padina Gymnospora</i>	Edo. Vargas, Taguao Arrecife
4	<i>Padina Gymnospora</i>	Edo. Vargas, Taguao Arrecife
5	<i>Padina Gymnospora</i>	Edo. Vargas, Taguao Arrecife
6	<i>Ulva Lactuca</i>	Edo. Aragua, Cepe
7	<i>Ulva Lactuca</i>	Edo. Miranda, Chuspa Playa Caribe
8	<i>Ulva Lactuca</i>	Edo. Vargas, Taguao Arrecife

Apéndice 6. ANOVA de dos vía con toda la data

	Pb	SS	df	MS	F	P
Intercepto		24,05164	1	24,05164	5,908734	0,135642
Especie		2,82595	1	2,82595	0,694247	0,492380
Zona		2,35503	2	1,17751	0,289278	0,775628
Esp. y zona		0,17249	2	0,08625	0,021188	0,979251
Error		8,14105	2	4,07052		
Cd						
Intercepto		2,128228	1	2,128228	664,2266	0,001502
Especie		0,054271	1	0,054271	16,9383	0,054276
Zona		0,065760	2	0,032880	10,2619	0,088795
Esp. y zona		0,002384	2	0,001192	0,3721	0,728820
Error		0,006408	2	0,003204		
Ni						
Intercepto		97,94378	1	97,94378	2,766662	0,238148
Especie		4,25066	1	4,25066	0,120070	0,762019
Zona		32,55035	2	16,27518	0,459732	0,685057
Esp. y zona		6,49806	2	3,24903	0,091777	0,915938
Error		70,80286	2	35,40143		
Cu						
Intercepto		716,8925	1	716,8925	1,501695	0,345135
Especie		0,7190	1	0,7190	0,001506	0,972568
Zona		423,9887	2	211,9944	0,444070	0,692487
Esp. y zona		10,7278	2	5,3639	0,011236	0,988889
Error		954,7780	2	477,3890		
CrT						
Intercepto		0,984405	1	0,984405	3,663732	0,195714
Especie		0,074726	1	0,074726	0,278112	0,650600
Zona		0,222498	2	0,111249	0,414043	0,707192
Esp. y zona		0,064659	2	0,032329	0,120323	0,892600
Error		0,537378	2	0,268689		
Hg						
Intercepto		0,056056	1	0,056056	183,1318	0,005416
Especie		0,000275	1	0,000275	0,8976	0,443423
Zona		0,002875	2	0,001437	4,6957	0,175570
Esp. y zona		0,000307	2	0,000153	0,5010	0,666240
Error		0,000612	2	0,000306		
Ca						
Intercepto		409,0546	1	409,0546	62,26866	0,015683
Especie		17,4009	1	17,4009	2,64887	0,245157
Zona		46,1946	2	23,0973	3,51600	0,221435
Esp. y zona		2,7843	2	1,3922	0,21192	0,825134
Error		13,1384	2	6,5692		
Fe						
Intercepto		3,117098	1	3,117098	1,069088	0,409796
Especie		1,079727	1	1,079727	0,370320	0,604738
Zona		1,151147	2	0,575573	0,197407	0,835138
Esp. y zona		0,388959	2	0,194480	0,066702	0,937469
Error		5,831323	2	2,915662		
Zn						
Intercepto		0,032635	1	0,032635	17,56705	0,052484
Especie		0,003594	1	0,003594	1,93450	0,298804
Zona		0,004589	2	0,002294	1,23503	0,447422
Esp. y zona		0,009710	2	0,004855	2,61352	0,276739
Error		0,003715	2	0,001858		
Mg						
Intercepto		76,60839	1	76,60839	15,98160	0,057251
Especie		2,49018	1	2,49018	0,51949	0,545921
Zona		7,38243	2	3,69122	0,77004	0,564959
Esp. y zona		3,20622	2	1,60311	0,33443	0,749383
Error		9,58708	2	4,79354		

Apéndice 7. Resultados del análisis de correlaciones de la localidad, especie de alga y las concentraciones totales de los elementos obtenidas en las algas, empleando el coeficiente de Spearman.

	Cod Muestra	Cod Zona	Pb	Cd	Ni
Cod Muestra		-0,2382 (26)	0,0019 (26)	-0,0687 (26)	-0,1921 (26)
		0,2337	0,9923	0,7312	0,3368
Cod Zona	-0,2382 (26)		0,6607 (26)	-0,1919 (26)	0,6018 (26)
	0,2337		0,0010	0,3373	0,0026
Pb	0,0019 (26)	0,6607 (26)		-0,2433 (26)	0,6628 (26)
	0,9923	0,0010		0,2238	0,0009
Cd	-0,0687 (26)	-0,1919 (26)	-0,2433 (26)		0,1364 (26)
	0,7312	0,3373	0,2238		0,4954
Ni	-0,1921 (26)	0,6018 (26)	0,6628 (26)	0,1364 (26)	
	0,3368	0,0026	0,0009	0,4954	
Cr	-0,1559 (26)	0,6606 (26)	0,5878 (26)	0,0465 (26)	0,6695 (26)
	0,4357	0,0010	0,0033	0,8160	0,0008
Cu	-0,2693 (26)	0,4018 (26)	0,3672 (26)	0,0281 (26)	0,5266 (26)
	0,1781	0,0445	0,0663	0,8884	0,0085
Hg	-0,1830 (26)	0,1330 (26)	0,1416 (26)	-0,0995 (26)	0,2590 (26)
	0,3602	0,5060	0,4791	0,6188	0,1953
Ca	-0,1475 (26)	0,2340 (26)	0,1652 (26)	0,3750 (26)	0,2294 (26)
	0,4609	0,2420	0,4089	0,0608	0,2513
Fe	-0,0632 (26)	0,5417 (26)	0,7781 (26)	-0,1020 (26)	0,6683 (26)
	0,7518	0,0068	0,0001	0,6100	0,0008
Zn	0,1063 (26)	-0,0914 (26)	0,1087 (26)	-0,0435 (26)	0,1419 (26)
	0,5950	0,6476	0,5869	0,8278	0,4781
Mg	-0,5579 (26)	0,5744 (26)	0,2175 (26)	0,1078 (26)	0,3259 (26)
	0,0053	0,0041	0,2769	0,5900	0,1032

Apéndice 7. (Continuación) Resultados del análisis de correlaciones de la localidad, especie de alga y las concentraciones totales de los elementos obtenidas en las algas, empleando el coeficiente de Spearman.

	Cr	Cu	Hg	Ca	Fe
Cod Muestra	-0,1559 (26)	-0,2693 (26)	-0,1830 (26)	-0,1475 (26)	-0,0632 (26)
Cod Zona	0,4357 0,6606 (26)	0,1781 0,4018 (26)	0,3602 0,1330 (26)	0,4609 0,2340 (26)	0,7518 0,5417 (26)
Pb	0,0010 0,5878 (26)	0,0445 0,3672 (26)	0,5060 0,1416 (26)	0,2420 0,1652 (26)	0,0068 0,7781 (26)
Cd	0,0033 0,0465 (26)	0,0663 0,0281 (26)	0,4791 -0,0995 (26)	0,4089 0,3750 (26)	0,0001 -0,1020 (26)
Ni	0,8160 0,6695 (26)	0,8884 0,5266 (26)	0,6188 0,2590 (26)	0,0608 0,2294 (26)	0,6100 0,6683 (26)
Cr	0,0008	0,0085 0,5720 (26)	0,1953 0,0883 (26)	0,2513 0,3682 (26)	0,0008 0,6647 (26)
Cu	0,5720 (26)	0,0042	0,6588 0,1455 (26)	0,0656 0,1227 (26)	0,0009 0,4259 (26)
Hg	0,0042 0,0883 (26)	0,1455 (26)	0,4670	0,5394 (26)	0,0332 (26)
Ca	0,6588 0,3682 (26)	0,4670 0,1227 (26)	-0,1294 (26)	0,5177	0,2339 0,1167 (26)
Fe	0,0656 0,6647 (26)	0,5394 0,4259 (26)	0,5177 0,2381 (26)	0,1167 (26)	0,5597
Zn	0,0009 0,3176 (26)	0,0332 0,3176 (26)	0,2339 0,0644 (26)	0,5597 -0,0301 (26)	0,1312 (26)
Mg	0,1123 0,4126 (26)	0,1123 0,2205 (26)	0,7474 0,1927 (26)	0,8803 0,4715 (26)	0,5119 0,2576 (26)
	0,0391	0,2702	0,3353	0,0184	0,1977

Apéndice 7. (Continuación) Resultados del análisis de correlaciones de la localidad, especie de alga y las concentraciones totales de los elementos obtenidas en las algas, empleando el coeficiente de Spearman.

	Zn	Mg		Zn	Mg
Cod Muestra	0,1063 (26)	-0,5579 (26)	Cu	0,3176 (26)	0,2205 (26)
	0,5950	0,0053		0,1123	0,2702
Cod Zona	-0,0914 (26)	0,5744 (26)	Hg	0,0644 (26)	0,1927 (26)
	0,6476	0,0041		0,7474	0,3353
Pb	0,1087 (26)	0,2175 (26)	Ca	-0,0301 (26)	0,4715 (26)
	0,5869	0,2769		0,8803	0,0184
Cd	-0,0435 (26)	0,1078 (26)	Fe	0,1312 (26)	0,2576 (26)
	0,8278	0,5900		0,5119	0,1977
Ni	0,1419 (26)	0,3259 (26)	Zn		-0,0322 (26)
	0,4781	0,1032			0,8722
Cr	0,3176 (26)	0,4126 (26)	Mg	-0,0322 (26)	
	0,1123	0,0391		0,8722	

Nota: Esta tabla muestra el intervalo de correlaciones de Spearman entre cada par de variables. Estos coeficientes de correlación oscilan entre -1 y +1 y miden la fuerza de la asociación entre las variables. En contraste con las correlaciones de Pearson, los coeficientes de Spearman se calculan a partir de las filas de los valores de los datos y no a partir de los valores propios. En consecuencia, son menos sensibles a resultados anómalos. También se indica el número de pares de valores de datos utilizados para calcular cada coeficiente, que en este caso fue 26. El tercer número en cada lugar de la tabla es un valor-P que dan las pruebas de significación estadística de la estimación de correlaciones. Valores-P por debajo de 0,05 indican estadísticamente una correlación significativa diferente de cero, a un 95% de confianza.

Apéndice 8(a). Análisis de componentes principales (PCA)*

Número de componentes	Eigenvalue	Percent of Variance	Cumulative Percentage
1	4,07531	33,961	33,961
2	2,35229	19,602	53,563
3	1,35099	11,258	64,822
4	1,24396	10,366	75,188
5	0,849583	7,08	82,268
6	0,590911	4,924	87,192
7	0,55793	4,649	91,841
8	0,461612	3,847	95,688
9	0,275064	2,292	97,98
10	0,112952	0,941	98,922
11	0,0840899	0,701	99,622
12	0,045311	0,378	100

* Variables: Pb, Cd, Ni, Cr, Cu, Hg, Ca, Fe, Zn, Mg, Cód. Muestra, Cód. Zona

Número de muestras: 26

Número de componentes principales: 4

Apéndice 8(b). Peso de los Componentes Principales.

Elementos	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Componente 4
Pb	0,434102	-0,206514	-0,0494869	-0,0409208
Cd	-0,0111198	0,144665	0,736104	-0,076708
Ni	0,424045	0,0744164	0,161678	-0,025755
Cr	0,392045	0,187677	0,123449	0,00155988
Cu	0,422082	-0,199487	-0,0725578	0,152992
Hg	-0,0265756	-0,235606	0,0729373	-0,726181
Ca	0,124753	0,40005	0,412724	0,14444
Fe	0,386586	-0,160823	-0,0330357	-0,291773
Zn	0,16574	-0,272228	-0,0396703	0,547345
Mg	0,100829	0,521661	-0,20171	-0,0237433
Cód. Muestra	0,0473914	-0,428704	0,3425	0,0677552
Cód. Zona	0,306862	0,290566	-0,2697	-0,174056