

EFFECTO DE LA SALINIDAD EN LA CAPACIDAD DE BIOACUMULACIÓN DE PLOMO EN EL ALGA VERDE *RHIZOCLONIUM RIPARIUM* (ROTH) HARVEY (CHLOROPHYCEAE, CLADOPHORALES)

THE EFFECT OF SALINITY ON THE BIOACCUMULATION CAPACITY OF LEAD ON GREEN ALGA *RHIZOCLONIUM RIPARIUM* (ROTH) HARVEY (CHLOROPHYCEAE, CLADOPHORALES)

Natalia Ospina-Álvarez^{1,4}, Enrique J. Peña^{2,5}, Ricardo Benítez^{3,6}

Resumen

Bioensayos con algas se han convertido en una herramienta práctica para el manejo y control de la contaminación por sustancias tóxicas, en parte por sus propiedades ecológicas y fisiológicas para responder a un amplio espectro de situaciones ambientales. El presente estudio evaluó la capacidad de acumulación de plomo (Pb) en el alga verde *Rhizoclonium riparium* en condiciones de laboratorio. Especímenes del alga fueron expuestos a concentraciones de 0,1, 1,0, 10 y 15 µg/ml de plomo por periodos de 2, 12, 24 y 144 horas a diferentes concentraciones de salinidades (0, 5, 15, 30 y 60‰). Las concentraciones de metal fueron determinadas por espectrofotometría de absorción atómica. Las mayores tasas de acumulación del metal fueron encontradas a una salinidad de 15‰. Las concentraciones de metal en el alga mostraron un patrón lineal que incrementó con la exposición en el tiempo. Los resultados encontrados permiten concluir que la capacidad de acumulación de plomo en esta especie está influenciada por la salinidad del agua de mar y es función de la concentración de metal en el medio y del tiempo de exposición, registrando su mayor capacidad de acumulación entre 1 y 1,0 µg/ml. De acuerdo al patrón lineal de acumulación del metal registrado a diferentes salinidades, se puede afirmar que el alga verde puede ser considerada como una planta indicadora de los niveles de plomo en aguas costeras, con base en su dinámica de bioacumulación.

Palabras clave: acumulación, plomo, salinidad, algas, bioensayos.

Abstract

Algal bioassays have been used as a practical tool for environmental control of pollution by toxic substances, mainly due to their feasibility in responding to a variety of environmental situations. This study evaluated the capacity of lead (Pb) accumulation by the green alga *Rhizoclonium riparium* under a set of laboratory conditions. Algal thalli were exposed to lead concentrations (0.1, 1.0, 10, and 15 µg/ml), during a period ranged from 2, 12, 24, and 144 hours. The capacity of metal absorption was also examined under a set of salinity conditions (0, 5, 15, 30, and 60‰). Metal concentrations were determined by using an atomic absorption spectrophotometer. The highest metal accumulation rates were found at 15‰ of salinity and between 1 and 1.0 µg/ml of lead concentration. Bioaccumulation of lead in algal tissues displayed a linear pattern proportionally with exposure time. These results indicated that accumulation capacity of the green alga is directly influenced by salinity and is a function of metal concentration, and exposure time. Finally, the study suggested that this species could act as indicator of lead concentrations in coastal waters, based on the algal kinetics of lead biosorption.

Key words: accumulation, lead, salinity, seaweed, bioassays.

INTRODUCCIÓN

Las comunidades de algas responden por lo general a los impactos antropogénicos, como el exceso de nutrientes y sustancias tóxicas, convirtiéndose así

en buenos indicadores de cambios en la calidad del agua (Wang y Lewis, 1997). Recientes estudios consideran una serie de atributos específicos para catalogar estas plantas como indicadores ecológicos

Recibido: febrero de 2005; aceptado: junio de 2006.

¹ Centro de Estudios e Investigaciones en Desarrollo Regional-CEIDER-. Universidad Santiago de Cali. Cali (Valle del Cauca), Colombia.

² Departamento de Biología. Facultad de Ciencias, Universidad del Valle. Cali (Valle del Cauca), Colombia.

³ Departamento de Química. Facultad de Ciencias, Universidad del Cauca. Popayán (Cauca), Colombia.

Correos electrónicos: ⁴ <nospina.alvarez@gmail.com>; ⁵ <enripena@univalle.edu.co>; ⁶ <rbenitez@ucauca.edu.co>.

(Costa y Liss, 1999; Schiever y Wong, 2000). Los ciclos de vida cortos las hace bioindicadoras adecuadas para impactos a corto plazo; los hábitos de fijación de la mayoría de las especies hacen que sean afectadas directamente por los cambios físicos y químicos en la columna del agua; son sensibles a contaminantes que no tienen efecto sobre organismos heterotróficos, y además, son fácilmente muestreables (Levine, 1984; Wilcox et al., 1998).

Los bioensayos con algas se han convertido en una herramienta práctica para el manejo y control de la contaminación por metales pesados, principalmente por su capacidad de absorber metales desde el agua. Sin embargo, es importante considerar que existen factores físicos y biológicos que afectan la acumulación de metales; entre los que se encuentran la temperatura, luz, estacionalidad, pH, salinidad entre otros (Lobban y Harrison, 1994; Wang y Lewis, 1997). Por lo tanto, al estudiar una especie como indicador de contaminación deben considerarse algunas características físico-químicas de su ambiente acuático.

La Bahía de Buenaventura constituye el principal Puerto en la costa del Pacífico de Colombia y el de mayor tráfico del país. Como resultado de estas actividades comerciales e industriales, recibe grandes cantidades de descargas orgánicas e industriales que causan problemas a la calidad de agua de la bahía y la carga nutriente permanente (Cantera, 1991). En el interior de la bahía, sobre la Isla Cascajal, se encuentra la ciudad de Buenaventura, que es la zona de mayor densidad poblacional en el Pacífico colombiano y genera aproximadamente 6.000 toneladas métricas de DBO_5 /año de materia orgánica (PNUMA, 1999). En el Pacífico colombiano, la salinidad alcanza valores que varían entre 30,5 y 33‰ en las zonas oceánicas y es cercana a 20‰ en las aguas que bordean el continente. Las variaciones de salinidad en las aguas costeras de la bahía están determinadas principalmente por las fluctuaciones de los caudales de agua dulce y el régimen mareal (Cantera, 1992). Las aguas más saladas se presentan hacia el exterior de la bahía por la mayor influencia marina, y en el interior, por la acción de los ríos, se encuentran las aguas menos salobres.

El propósito de este trabajo fue evaluar el efecto de la salinidad sobre la capacidad de acumulación de plomo (**Pb**) en el alga *Rhizoclonium riparium* (Roth) Harvey, expuesta a diferentes rangos de salinidad y a diferentes tiempos de exposición.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. La colecta de material para los ensayos de laboratorio se realizó en la bahía de Buenaventura (Valle del Cauca), Colombia (3° 54' N y 77° 0,5' O). La bahía tiene 16 km de largo, 3-5 km de ancho y un área aproximada de 70 km² con una profundidad máxima de 15 m en el cauce central (Cantera, 1991). Se tomaron datos de salinidad y concentración de metales en tres estaciones de muestreo (desembocadura del río Dagua, Isla Cangrejo y Punta Soldado), correspondiendo su ubicación a la parte interna, central y final de la bahía respectivamente.

Organismo de estudio. El alga verde, *R. riparium* es muy común en ambientes marinos y salobres, asociada igualmente a ambientes pantanosos de humedales y marismas (Hoek, 1995). Epifitas a las raíces aéreas de los árboles de mangle rojo (*Rhizophora* sp.) y de los neumatóforos del mangle negro (*Avicennia* sp.). Las poblaciones de algas, las cuales contribuyen con una biomasa importante en la zona intermareal a lo largo del estuario (Peña et al., 1999), dentro de estas poblaciones se encuentra *R. riparium*, formando filamentos densos a lo largo de la zona intermareal (Peña, 1998). Esta especie se caracteriza por tener filamentos simples con ausencia de ramas rizoidales, cilíndricos o con ligeras constricciones, de 20 a 55 µm de diámetro. Cuando presenta pequeñas ramas rizoidales simples, rara vez están constituidas por más de una célula. Sin embargo, la presencia de estas ramas es poco frecuente (Schnetter y Bula, 1982).

Condiciones experimentales. Se colectaron aproximadamente 0,5-1,0 kg de peso fresco de *R. riparium*, en tres áreas de la bahía de Buenaventu-

ra durante marea baja. El material se lavó con agua destilada para eliminar sedimentos, se empacó envuelto en toallas de papel absorbente y luego en bolsas sellables de polietileno, de acuerdo al procedimiento de West y Calumpong (1988). Para el establecimiento de los cultivos se empleó medio de agua de mar enriquecida (f2), a salinidad de 15‰, siguiendo el procedimiento de Guillard (1975). El material vegetal se cultivó en vasos Boeco® de 600 ml, los cuales se mantuvieron en cámara ambiental a una temperatura de 26 °C y una intensidad lumínica de 40-70 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$; con un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad. Las algas se mantuvieron en inmersión continua en el medio de

cultivo para su crecimiento dentro de la cámara ambiental.

Los bioensayos se realizaron a concentraciones de 0,1, 1,0, 10 y 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de plomo, por periodos de exposición de 2, 12, 24 y 144 horas, y cinco niveles diferentes de salinidad (0, 5, 15, 30 y 60‰). Se tuvieron 80 combinaciones, como resultado de los experimentos descritos. Cada combinación se hizo por triplicado, para un total de 240 muestras analizadas. Luego de un periodo de aclimatación de 36 horas, se adicionó la solución de plomo necesaria para cada una de las concentraciones requeridas (tabla 1).

Tabla 1. Condiciones experimentales de los bioensayos de plomo (Pb) en *Rhizoclonium riparium*

Variables	Condición
Temperatura	26 \pm 2 °C
Intensidad lumínica	40-70 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$
Fotoperíodo	12 horas luz : 12 horas oscuridad
Envase prueba	frascos de vidrio de 600 ml
Volumen de exposición	500 ml
Unidad muestral	1,5 g de alga (peso húmedo)
Metal de exposición	plomo (Pb)
Concentraciones de exposición	0,1, 1,0, 10 y 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$
Tiempos de exposición	2, 12, 24 y 144 horas
Salinidades de ensayo	0, 5, 15, 30 y 60‰
Medio de cultivo	agua de mar enriquecida (f2)
N.º de réplicas por concentración, tiempo y salinidad	3
Tamaño de muestra (n)	240

Análisis químico. Las concentraciones de plomo en el tejido algal fueron determinadas de acuerdo a los métodos estándar (Clesceri et al., 1995) en un equipo de espectrofotometría de absorción atómica, expresándose todas las concentraciones del metal en $\mu\text{g}/\text{g}$ de peso seco. El porcentaje de metal absorbido por *R. riparium* a las cinco diferentes salinidades para cada una de las concentraciones del metal durante todos los periodos de tiempo de los bioensayos, se determinó por la diferencia entre la concentración ini-

cial de exposición al metal y la concentración encontrada en el alga al finalizar el ensayo.

Análisis de datos. La tasa de acumulación de plomo por unidad de biomasa de alga fue calculada a partir del modelo de absorción de Langmuir (q_e), utilizando la ecuación $q_e = q_{\text{max}} bC_i / 1 + bC_f$ (Stirk y Staden, 2000); donde q_{max} refleja la capacidad máxima de acumulación de metal por gramo de peso seco del alga; y C_i y C_f son las concentraciones de metal inicial y final en el medio de cultivo. El por-

centaje de acumulación de plomo en el alga a diferentes salinidades y relativo a los diferentes niveles de concentración del metal, fue estimado usando un modelo lineal general (MGL). Los valores seleccionados para el nivel de confiabilidad y error de **b**, fueron 0,95 y 0,05, respectivamente. Todos los análisis estadísticos fueron realizados usando el paquete estadístico SPSS versión 9.0. Adicionalmente, se realizó un análisis de correspondencia canónica para evaluar la correlación de la salinidad vs. la concentración de plomo en poblaciones naturales de *R. riparium* en la bahía de Buenaventura, usando el programa Sigma Plus.

RESULTADOS

La tasa de acumulación de plomo en *R. riparium*, aumentó con el tiempo de exposición al metal, correspondiendo los periodos más cortos de exposición a los menores valores de acumulación. Los máximos valores de acumulación de plomo en *R. riparium* se obtuvieron en los ensayos de exposición durante 144 horas (figura 1). Los

resultados de la relación porcentual de la acumulación del metal en el tejido algal con respecto a la concentración inicial de exposición, revelaron que en general a menores concentraciones del metal se alcanzaron mayores porcentajes de acumulación en el alga (tabla 2). El mayor porcentaje de acumulación de plomo en *R. riparium* se alcanzó en los tratamientos con 0,1 µg/ml. Las algas expuestas a estas bajas concentraciones de metal entre 0,1 y 1,0 µg/ml presentaron una rápida absorción entre las 2 y 12 horas de exposición, seguida por una absorción más lenta después de las 24 hasta las 144 horas de exposición (figura 1). Los experimentos con tratamientos salinos mostraron que la mayor acumulación del metal se presentó en los ensayos con 15‰ de salinidad, mostrando un índice de correlación entre la concentración de metal y la salinidad significativamente alto ($R^2 = 0,92$; $P < 0,01$). Los valores más bajos de acumulación se presentaron a salinidades de 0 y 60‰ (figura 2). Los resultados del porcentaje de acumulación en el alga se resumen en la tabla 3. La correlación entre la tasa de acumulación y los valores de salinidad en el medio disminuyó a medida que la salinidad se alejó de 15‰ (figura 3).

Tabla 2. Acumulación promedio de plomo (PB) en *Rhizoclonium riparium* a diferentes tiempos exposición, a concentraciones de exposición de plomo entre 0,1 a 15 µg/ml y salinidades de 0 a 60‰ (N = N.º de repeticiones por tratamiento)

Tratamiento	N	Promedio	Desviación estándar
Tiempo	80	0,036	0,053
Concentración	80	0,058	0,036
Salinidad	80	0,047	0,029
Total	240	0,045	0,039

Tabla 3. Porcentaje (%) de acumulación de plomo (Pb) en *Rhizoclonium riparium* a diferentes concentraciones de salinidad entre 2 y 144 horas de exposición (N = 240)

Salinidad	Niveles de exposición de Pb (%)			
	0,1 µg/ml	1,0 µg/ml	10 µg/ml	15 µg/ml
0‰	1,67	1,49	0,18	0,10
5‰	8,33	2,93	0,46	0,43
15‰	21,67	6,68	1,42	1,25
30‰	1,67	0,74	0,29	0,25
60‰	0,83	0,08	0,05	0,06

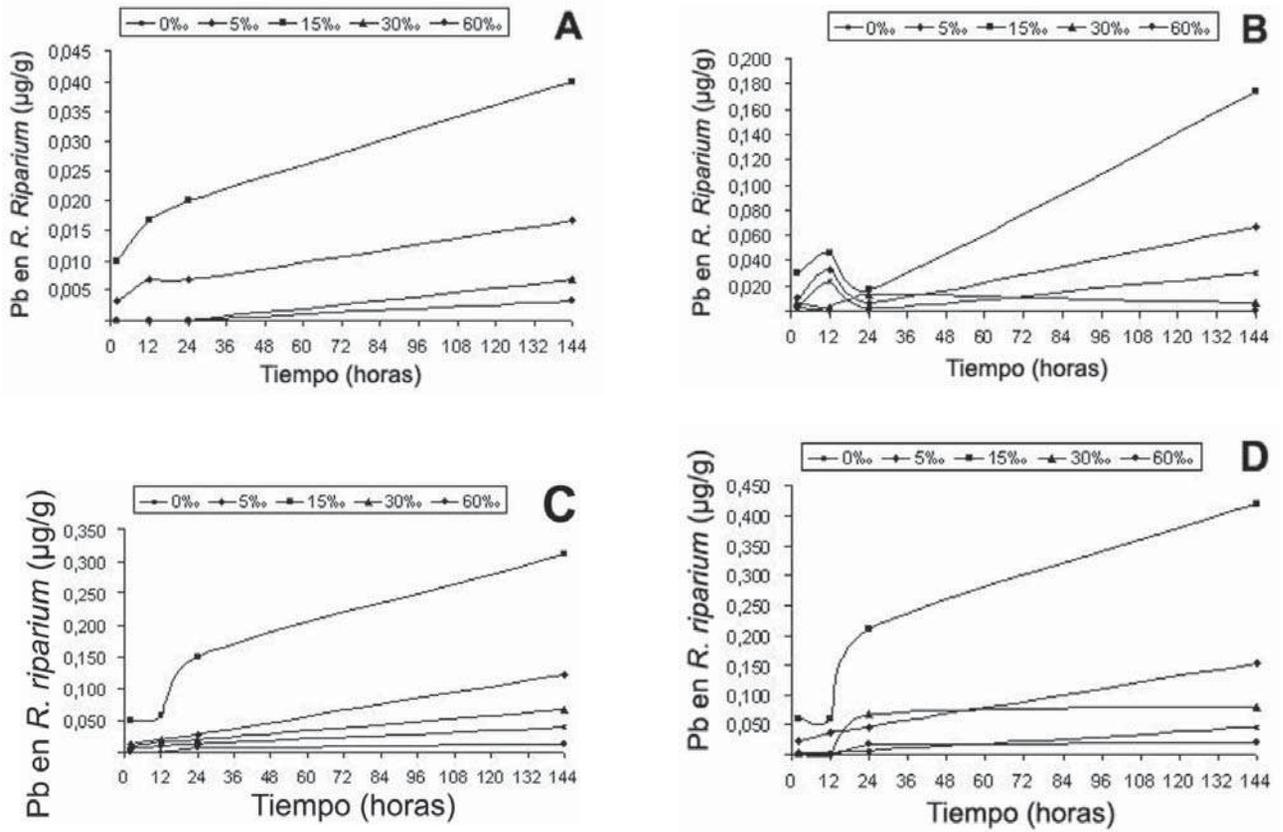


Figura 1. Patrón de acumulación de plomo (Pb) en *Rhizoclonium riparium* a diferentes salinidades (‰), para cada uno de los tiempos de exposición y concentraciones en medio de cultivo de 0,10 µg/ml (A), 1 µg/ml (B), 10 µg/ml (C) y 15 µg/ml (D)

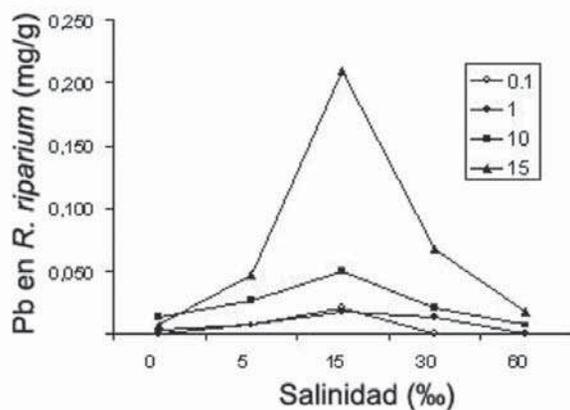


Figura 2. Acumulación promedio de plomo (Pb) en *Rhizoclonium riparium* a diferentes salinidades durante bioensayos de 2 a 144 horas. Las líneas representan los niveles de concentración de plomo µg/ml a los cuales se expuso el alga

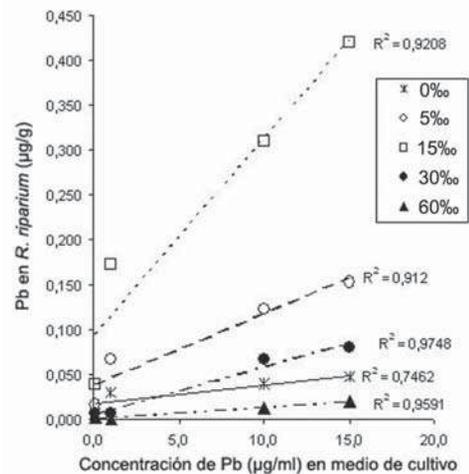


Figura 3. Relación entre la concentración de plomo (Pb) en *Rhizoclonium riparium* y las concentraciones de exposición en tratamientos realizados a diferentes salinidades en bioensayos de 144 horas. Las líneas representan las salinidades evaluadas en los bioensayos

El comportamiento de la acumulación de plomo en *R. riparium* bajo condiciones de laboratorio, fueron consistentes con los análisis de correlación canónica entre la salinidad del agua de mar y la concentración de metal en poblaciones naturales del alga en la bahía de Buenaventura (figura 4). Estos resultados muestran una consistencia entre las tasas de acumulación registradas en los ensayos de laboratorio y las salinidades promedio encontradas en la bahía de Buenaventura, en un rango entre 15 y 20‰ (figura 5).

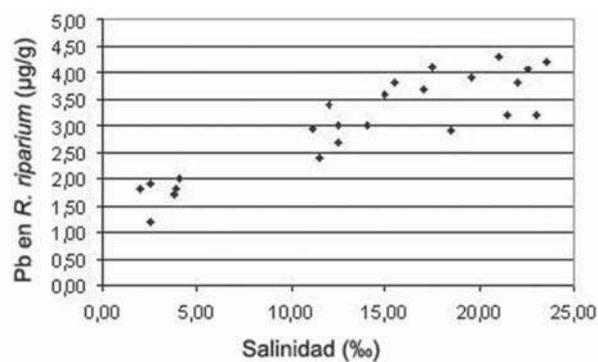


Figura 4. Correlación canónica de la salinidad vs. la concentración de plomo (Pb) en poblaciones naturales de *Rhizoclonium riparium* en la bahía de Buenaventura (Valle del Cauca), Colombia

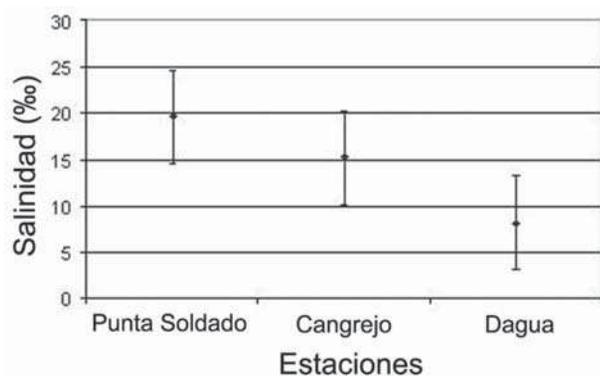


Figura 5. Salinidad promedio en tres estaciones de muestreo en la parte exterior (Punta Soldado), central (Isla Cangrejo) e interior (Dagua) de la bahía de Buenaventura (Valle del Cauca), Colombia. (Datos tomados en marea subiendo), durante julio, 2002 y agosto, 2003. Las líneas verticales representan la desviación estándar

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que el patrón general de acumulación de plomo en *R. riparium* es proporcional a la concentración de metal en el medio, en especial, a bajas concentraciones y en las primeras horas de exposición. Este comportamiento ha sido ampliamente documentado en especies de macro y micro algas donde la acumulación de metales en el organismo es función de la disponibilidad de los contaminantes y del tiempo de exposición a ellos (Baker y Walter, 2000; Levine, 1984; Seeliger y Edwards, 1977; Wilcox et al., 1998). Estudios de laboratorio y de condiciones in situ han demostrado que la concentración de metales en algas marinas refleja la concentración de estos en el ambiente (Morris y Bale, 1975; Powell, 1997; Vera y Wilkinson, 2002). En *Chlorella vulgaris* se evidenció que la tasa de absorción de plomo es función de la concentración de este metal en el medio (Schiewer y Wong, 2000). Wang y Lewis (1997) estudiaron la acumulación de cadmio (Cd), cromo (Cr), selenio (Se) y zinc (Zn) en las macroalgas *Ulva lactuca* y *Gracilaria blodgettii* encontrando que la tasa de acumulación en el alga decrece con el incremento de la concentración del metal e indicando que estas algas tienen una mayor respuesta de acumulación a menores concentraciones de metal. Igualmente, los resultados pioneros de Bryan (1969) demostraron que la tasa de absorción de zinc en *Laminaria digitata* disminuía a altas concentraciones del metal, resultando valores muy bajos del factor de bioconcentración, a concentraciones altas de zinc.

El patrón de la tasa de absorción observada en *R. riparium* sugiere que el proceso se da en dos etapas (Levine, 1984; Lobban y Harrison, 1994). Una etapa inicial que se caracteriza por ser la fase rápida del proceso, y se da cuando los metales son absorbidos en la superficie del alga por atracción electrostática a los sitios cargados negativamente. La segunda etapa más lenta, los iones metálicos son transportados a través de la membrana celular y dentro de los

organelas intracelulares (Chong et al., 2000; Sánchez-Rodríguez et al., 2001). Al respecto, Reed y Gadd (2000) propusieron que la acumulación de metales en algas es un proceso generalmente representado por una fase activa y otra pasiva. Se ha sugerido que la fase de acumulación activa, esta menos limitada por factores externos que afectan el metabolismo tales como temperatura, luz, pH y salinidad, por cuanto se realiza de manera más rápida. Se ha sugerido que en algas bénticas, la incorporación de plomo se realiza de forma pasiva con participación de polisacáridos cargados en la pared celular y en la matriz intracelular (Lobban y Harrison, 1994). Más recientemente, Baker y Walter (2000) sugirieron que los diferentes patrones de acumulación de metales en plantas pueden estar relacionados con los mecanismos de tolerancia. Para esto describieron tres estrategias básicas que se asocian a tres modelos lineales: **1)** la estrategia de exclusión, se da cuando la concentración de metal en la planta está por encima del rango de concentraciones del metal en el medio, sugiriendo que la concentración en la planta se mantienen a un nivel bajo constante hasta que se alcanza una concentración crítica en el ambiente, presentándose toxicidad y transporte no restringido del metal en la planta; **2)** la estrategia de acumulador, se da cuando los metales se concentran activamente en los tejidos, por encima del rango de concentración del ambiente, implicando una fisiología altamente especializada; y **3)** la estrategia de indicador, que ocurre cuando la captación de metales y el transporte al interior de la planta son regulados, u ocurre la acumulación pasiva, de modo que las concentraciones internas reflejan exactamente las concentraciones externas.

La correlación de tipo lineal obtenida entre la acumulación de plomo en *R. riparium* a salinidades de 15‰ y la concentración de exposición del metal, revelaron un patrón de captación de metales característico de organismos indicadores. Particularmente, los bioindicadores son organismos sensibles al estrés por contaminación, y responden a este factor por

alteraciones en sus procesos vitales (indicadores de respuesta) o por acumulación de los contaminantes (indicadores de acumulación) (Larcher, 1995). En ambos casos, desarrollan estrategias de tolerancia a los metales, que comprenden desde estrategias de exclusión hasta estrategias de acumulación (Baker y Walker, 2000). Dentro de los indicadores de acumulación, existen ciertas especies de plantas que son especialmente indicadoras de metales pesados y se conocen como metalofitas, las cuales pueden acumular cantidades de metales entre 100 y 1.000 veces la concentración normal de elementos traza en plantas (Larcher, 1995; Reed y Gadd, 2000).

Los resultados del efecto de la salinidad en la capacidad de acumulación de *R. riparium* indican que este factor influencia de manera directa los procesos de absorción de plomo (Chopín, 2001; Levine, 1984; Powell, 1997). Los estudios de Munda y Hudnik (1988) sobre la acumulación de cobalto (Co), zinc (Zn) y magnesio (Mn) en *Fucus vesiculosus*, presentaron resultados similares, haciéndose evidente la importancia de evaluar las propiedades fisicoquímicas del agua de mar. Se ha demostrado que la salinidad puede influir en la absorción de metales en el alga (Schiewer y Wong, 2000; Wilson, 1994). Particularmente, por la acción de los iones de sodio que pueden competir con la absorción de cationes metálicos en sitios activos a nivel de membrana (Cheeseman, 1988; Reed y Gadd, 2000; Wilcox et al., 1998).

Los resultados encontrados permiten concluir que la capacidad de acumulación de plomo en *R. riparium* está influenciada por la salinidad del agua de mar y es función de la concentración de metal en el medio y del tiempo de exposición, registrando su mayor capacidad de acumulación entre 1 y 1,0 µg/ml. De acuerdo al patrón lineal de acumulación del metal registrado a diferentes salinidades, se puede afirmar que el alga verde, *R. riparium* puede ser considerada como una planta indicadora de contaminación de plomo en aguas costeras.

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio fue realizado gracias a la cofinanciación de Colciencias (Colombia) en el marco del proyecto “*Metabolic responses of benthic algae exposed to heavy metal stress*” (Código 1106-09-11246). Al Departamento de Biología (Universidad del Valle, Valle del Cauca), por su apoyo logístico en el mantenimiento y aclimatación del material algal. Al Departamento de

Química (Universidad del Cauca, Cauca) por su apoyo en los análisis del contenido de metales en los medios de cultivo y en el tejido algal. Los autores expresan igualmente sus agradecimientos a los estudiantes Willy Montoya (Departamento de Biología Universidad del Cauca) y Angela Oviedo, Yesid Lozano y Jairo Portilla (Departamento de Biología de la Universidad del Valle), por su valiosa colaboración en la recolección de las muestras en la bahía de Buenaventura.

REFERENCIAS

- Clesceri L, Greenberg AE, Eaton AD (eds.).** 1995. *Standard methods for the examination of water and waste water*. 19th Ed. American Public Health Association-APHA. Washington, D. C., E. U. A.
- Baker AJ, Walker PL.** 2000. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. Pp. 155-177. *En: Shaw JA (ed.). Heavy metal tolerance in plants: Evolution aspects*. CRC Press, Inc. Boca Ratón (Florida), E. U. A.
- Bryan GW.** 1969. The absorption of zinc and other metals by the brown seaweed, *Laminaria digitata*. *Journal of Marine Biology Association of United Kingdom*, 49:225-243.
- Cantera JR.** 1991. Etude structurale des mangroves et des peuplements littoraux des deux baies du pacifique Colombien (Málaga et Buenaventura). Rapport avec les conditions du milieu et les perturbations anthropiques. These d'Etat Sciences. Université d'Aix-Marseille II, Marseille, France.
- Cantera JR.** 1992. Oceanografía. Tomo I, pp. 15-22. *En: Leyva P (ed.). Colombia Pacífico*. Proyecto Biopacífico INDERENA - DNP -GEF- PNUD-FEN. Colombia.
- Cheeseman JM.** 1988. Mechanisms of salinity tolerance in plants. *Plant Physiology*, 87:547-550.
- Chong AMY, Wong YS, Tam NFY.** 2000. Performance of different microalgal species in removing nickel and zinc from industrial wastewater. *Chemosphere*, 41:251-257.
- Chopin T.** 2001. *Protocol for monitoring of seaweeds*. A report by the Marine Biodiversity Monitoring Committee (Atlantic Maritime Ecological Science Cooperative, Huntsman Marine Science Centre) to the ecological monitoring and assessment Network of Environment Canada. Documento PDF en la WEB en la siguiente dirección electrónica: <<http://www.eman-rese.ca/eman/ecotools/protocols/marine/seaweeds/intro.html>>
- Costa M, Liss PS.** 1999. Photoreduction of mercury in sea water and its possible implications for Hg, air-sea fluxes. *Review Marine Chemistry*, 68:87-95.
- Guillard RRL.** 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. Pp. 26-60. *En: Smith WL, Chanley MH (eds.). Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press. Nueva York, E. U. A.
- Hoek CV, Mann DG, Jahns HM.** 1995. *Algae: an introduction to phycology*. Cambridge University Press. Nueva York, E. U. A.
- Larcher W.** 1995. *Physiological plant ecology*. Tercera Ed. Springer-Verlag. Nueva York. E. U. A.
- Levine HG.** 1984. The use of seaweeds for monitoring coastal waters. Pp. 189-210. *En: Shubret EL (ed.). Algae as ecological indicators*. Academic Press Inc. Londres, Inglaterra.
- Lobban CS, Harrison PJ.** 1994. *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press. Nueva York, E. U. A.
- Morris AW, Bale AJ.** 1975. The accumulation of cadmium, copper, manganese, and zinc by *Fucus vesiculosus* in the British Channel. *Estuarine Coastal Marine Science*, 3:153-161.

- Munda IM, Hudnik V.** 1988. The effects of Zn, Mn, and Co accumulation on growth and chemical composition of *Fucus vesiculosus* L. under different temperature and salinity conditions. *Marine Ecology*, 9:213-225.
- Peña EJ.** 1998. Physiological ecology of mangrove associated macroalgae in a tropical estuary. Tesis de doctorado. Universidad de Carolina del Sur. E. U. A.
- Peña EJ, Zingmark R, Nietch C.** 1999. Comparative photosynthesis of two species of epithic macroalgae on mangrove roots during submersion and emersion. *Journal of Phycology*, 35:1206-1214.
- PNUMA.** 1999. *Diagnóstico regional sobre las actividades y fuentes terrestres de contaminación que afectan los ambientes marino, costero y dulceacuicola asociados en el Pacífico sudeste.* PNUMA/PAM Oficina de Coordinación y CPPS. Montevideo, Uruguay.
- Powell RL.** 1997. The use of vascular plants as field biomonitors. Pp. 121-132. *En: Wang W, Gorsuch JW, Hughes JS (eds.). Plants for environmental studies.* CRC Press LLC, Lewis Publishers. Nueva York, E. U. A.
- Reed RH, Gadd GM.** 2000. Metal tolerance in eukaryotic and prokaryotic algae. Pp. 208-224. *En: Shaw JA (ed.). Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects.* CRC Press. Boca Raton (Florida), E. U. A.
- Sánchez-Rodríguez I, Huerta-Díaz MA, Choumiline E, Holguín-Quñones O, Zertuche-González JA.** 2001. Elemental concentrations in different species of seaweeds from Loreto Bay, Baja California Sur, Mexico: implications for the geochemical control of metals in algal tissue. *Environmental Pollution*, 114:145-160.
- Schnetter R, Bula G.** 1982. Marine algen der Pazifikküste von Kolombien. Chlorophyceae, Phaeophyceae, Rhodophyceae. *Bibliotheca Phycologica*, 60:1-287.
- Schiewer S, Wong MH.** 2000. Ionic strength effects in biosorption of metals by marine algae. *Review Chemosphere*, 41:271-282.
- Seeliger U, Edwards P.** 1977. Correlation coefficients and concentration factors of copper and lead in seawater and benthic algae. *Marine Pollution Bulletin*, 8(1):16-19.
- Vera IS, Wilkinson J.** 2002. Physicochemical aspects of lead bioaccumulation by *Chlorella vulgaris*. *Environmental Science and Technology*, 36:969-975.
- Wang W, Lewis MA.** 1997. Metal accumulation by aquatic macrophytes. Pp. 367-416. *En: Wang W, Gorsuch JW, Hughes JS (eds.). Plants for environmental studies.* CRC Press LLC., Lewis Publishers. Nueva York, E. U. A.
- West JA, Calumpong HP.** 1988. Mixed-phase reproduction of *Bostrychia* (Ceramiales; Rhodophyta) in culture. I. *Bostrychia tenella* (Lamouroux). *Japanese Journal of Phycology*, 36:292-310.
- Wilcox B, Guinther E, Duin K, Maybaum H.** 1998. *Manual for watershed health and water quality.* Geo InSight International Inc, Institute for Sustainable Development and Marine Corps Base Hawaii MCBH Environmental Affairs Division. Honolulu, E. U. A.
- Wilson JG.** 1994. The role of bioindicators in estuarine management. *Estuaries*, 17(1A):94-101.

