

UCH-FC  
B. Ambiental  
G6436i  
C.1



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CHILE

BIOENSAYO DE TOXICIDAD CRÓNICA UTILIZANDO *Daphnia magna*:  
UN ENFOQUE POBLACIONAL (RÍO CACHAPOAL, VI REGIÓN, CHILE)

Seminario de Título

Entregada a la

Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al Título de

Biólogo Ambiental

por

**Javier Eduardo González Barrientos**



Diciembre, 2007

Santiago - Chile

Director de Seminario de Título: Dr. Ramiro Bustamante

Co-Director de Seminario de Título: MSc. Ximena Molina



**“BIOENSAYO DE TOXICIDAD CRÓNICA UTILIZANDO  
*Daphnia magna*: UN ENFOQUE POBLACIONAL (RÍO  
CACHAPOAL, VI REGIÓN, CHILE)”**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al título profesional de Biólogo con mención en Medio Ambiente.

**JAVIER EDUARDO GONZÁLEZ BARRIENTOS**

*Dr. Ramiro Bustamante Araya*  
**Director Seminario de Título**

MSc. María Ximena Molina Paredes

**Comisión Revisora y Evaluadora**

*Dra. Irma Vila Pinto*  
**Presidente**

*Dr. Rodrigo Ramos Jiliberto*  
**Evaluador**



Santiago, diciembre de 2007.



Nací el 17 de agosto de 1978 en Santiago de Chile. Prontamente me mudé a Valdivia, donde a pesar del clima extremadamente lluvioso, logré vivir una feliz infancia sin tener que estar encerrado en mi casa. Aun recuerdo que recorrí casi toda la ciudad en busca de algún bichito para formar el primer y único insectario, el cual logré hacer gracias a la ayuda de mi padre y de mi hermano. Cuando pequeño me caracterice por armar y desarmar mis juguetes, buscando el mecanismo que los accionaba para darle otras utilidades en otros juguetes. También, usualmente molesté a mi madre respondiendo: ¿Por qué?, cada vez que preguntó algo (quizás fue un esbozo de científico, quizás sólo fue de antipático). Durante mi etapa escolar logré desarrollar mis habilidades artísticas tanto en música como en dibujo, y a la vez comencé a interesarme en la biología y la química.

Al llegar a la universidad me interesó el área de la biotecnología, pero más tarde que temprano me daría cuenta de mi verdadera vocación: la ecotoxicología. Esta rama de la ciencia, me fascino desde el primer momento, ya que con su punto de vista multidisciplinario logra moverse desde el ADN hasta los ecosistemas, desenmarañando los distintos (y muchas veces complejos) efectos de los contaminantes sobre los sistemas ambientales. Esto me hizo pasar por el laboratorio de ecofisiología animal, el laboratorio de bioensayos del CENMA y últimamente por el laboratorio de limnología en busca de algunas respuestas.

A la vez, quise desarrollar mis aptitudes pedagógicas, siendo ayudante cuantas veces pude en los ramos de zoología I y zoología II, obteniendo mucha experiencia y conocimiento en esos temas. Actualmente, intento no perder mi gusto por el aire libre, por lo que pretendo desarrollar paralelamente y si el tiempo me lo permite, proyectos en terreno, donde haré el esfuerzo por aprender más sobre flora y fauna.

## DEDICATORIA

*Dedico este trabajo a mi familia,  
que siempre me ha apoyado  
incondicionalmente.*



## AGRADECIMIENTOS

Por su comprensión, paciencia y apoyo agradezco a mis tutores Ramiro Bustamante y Ximena Molina.

Por su ayuda invaluable, sugerencias, tiempo y disposición agradezco a Rodrigo Pardo.

Agradezco a Irma Vila y Rodrigo Ramos por sus comentarios y correcciones.

Agradezco al Laboratorio de Bioensayos del Centro Nacional del Medio Ambiente, a su personal por su apoyo y cordialidad, y en especial a Maria Isabel Olmedo por facilitar la ejecución de este trabajo. Agradezco igualmente FONSAG por financiar esta tesis, la que se realizó dentro del proyecto "Desarrollo de un modelo para el uso de bioindicadores y bioensayos como medida de la condición biológica de un cuerpo de agua"

Agradezco a mi amigo Javier González Navarrete, quien gentilmente me ayudó con las mediciones de tensión superficial en el Laboratorio de Físicoquímica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile.

Por su comprensión y apoyo incondicional, agradezco a mi padre, a mi madre, a mi abuela, a Leonardo y a Jimena. Agradezco también a todos mis amigos que me acompañaron e hicieron más felices mis estudios.



## INDICE DE CONTENIDO



<b>Cuerpo Preliminar</b> .....	ii
Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Índice de contenido.....	iv
Índice de tablas.....	vi
Índice de figuras.....	vii
Lista de abreviaturas.....	xi
<b>Resumen</b> .....	x
<b>Abstract</b> .....	xi
<b>Introducción</b> .....	1
<b>Objetivos</b> .....	5
<b>Materiales y métodos</b> .....	6
Área de estudio.....	6
Ciclo de Vida y Matriz de Proyección.....	9
Diseño experimental.....	11
Análisis demográfico.....	13
<b>Resultados</b> .....	17
Análisis de las variables físicas y químicas.....	17
Tasas vitales y tasa finita de crecimiento.....	18
Análisis prospectivos.....	19
Análisis retrospectivos.....	22
<b>Discusión</b> .....	24
Tasas vitales y tasa finita de crecimiento .....	24
Elasticidad.....	24
Experimentos de respuesta de Tablas de Vida.....	26

Posibles causas para las diferencias entre los tratamientos.....	26
Posibles fuentes de error.....	29
<b>Conclusión.....</b>	<b>31</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>32</b>
<b>Apéndice.....</b>	<b>38</b>



## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Ubicación geográfica, grado de perturbación, características y parámetros de calidad de agua encontrados en las dos zonas del río Cachapoal.....	8
<b>Tabla 2.</b>	Criterio para la identificación de los estados del ciclo de vida de <i>Daphnia magna</i> según tamaño y presencia de huevos.....	10
<b>Tabla 3.</b>	Variables fisicoquímicas medidas en el agua utilizada en los experimentos.....	17





## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Mapa de localización de los puntos de muestreo georeferenciados.....	7
<b>Figura 2.</b>	Grafo que representa el ciclo de vida de <i>Daphnia magna</i> con tres estados y matriz de proyección que contiene las tasas vitales asociadas a estos.....	10
<b>Figura 3.</b>	Matrices de proyección de los distintos tratamientos y el Control .....	18
<b>Figura 4.</b>	Tasa finita de crecimiento promedio ( $\lambda$ ) calculada a partir de las matrices de proyección obtenidas en los tratamientos experimentales .....	19
<b>Figura 5.</b>	Elasticidades de lambda a los distintos parámetros agrupados.....	20
<b>Figura 6.</b>	Elasticidades de lambda a los parámetros $a_{ij}$ .....	21
<b>Figura 7.</b>	Contribución de las tasas vitales de los tratamientos al cambio en lambda.....	23
<b>Figura 8A.</b>	Respuesta de las tasas $P_N$ , $F_A$ y lambda frente al aumento en la concentración de los contaminantes (tratamientos AP50 y AP100).....	38
<b>Figura 9A.</b>	Relación entre las contribuciones de $G_N$ y la conductividad eléctrica.....	38
<b>Figura 10A.</b>	Valores de tensión superficial medidos en el agua utilizada como Control, en el agua del tratamiento de Baja Perturbación al 100% (BP100) y en agua desionizada.....	39
<b>Figura 11A.</b>	Comparación de los datos observados (círculos) y proyectados (línea discontinua) para la población Control.....	39
<b>Figura 12A.</b>	Comparación de los datos observados (círculos) y la proyección (línea discontinua) para los tratamientos de baja perturbación antrópica.....	40



**Figura 13A.** Comparación de los datos observados (círculos) y la proyección (línea discontinua) para los tratamientos de alta perturbación antrópica..... 41



## LISTA DE ABREVIATURAS

### Abreviaturas generales

LTRE	Life table response experiments.
ERTV	Experimentos de respuesta de tabla de vida.
RIL	Residuo industrial líquido.
GPS	Global positioning system.
WGS 84	World Geodetic System 1984.
ANDEVA	Análisis de la varianza.

### Instituciones y organizaciones

CONAMA	Comisión Nacional del Medio Ambiente.
INE	Instituto Nacional de Estadísticas.
MOP	Ministerio de Obras Públicas
DGA	Dirección General de Aguas.
US EPA	United States Environmental Protection Agency.
CENMA	Centro Nacional del Medio Ambiente.

## RESUMEN

Se realizó un bioensayo crónico de 21 días utilizando *Daphnia magna* con metodologías de modelación poblacional matricial para evaluar la toxicidad de las aguas superficiales de dos zonas ritrónicas del río Cachapoal, con distintos grados de perturbación antrópica.

Se definieron tres estados del ciclo de vida de *Daphnia magna* y la matriz de proyección asociada a éste. Se estimaron los parámetros poblacionales a partir de 8 censos, mediante el método de programación cuadrática. La tasa finita de crecimiento ( $\lambda$ ) no difirió significativamente entre el control y los tratamientos experimentales. Sin embargo, tanto los análisis prospectivos como los retrospectivos (ERTV) mostraron que el agua superficial proveniente de la zona de más alta perturbación antrópica produjo efectos tóxicos sobre los neonatos y efectos positivos sobre los juveniles y adultos. Por otro lado, se observaron efectos negativos sobre los neonatos en uno de los tratamientos de agua superficial de menor perturbación antrópica, los que probablemente estarían asociados a fenómenos fisicoquímicos.

**Palabras clave:** Bioensayo crónico; modelación poblacional matricial; experimentos de respuesta de tabla de vida (ERTV); elasticidad; *Daphnia magna*; método de programación cuadrática.

## ABSTRACT

A 21-day chronic bioassay using *Daphnia magna* was performed by applying methods of matrix population modelling in order to assess the toxicity of surface water from two Cachapoal river rithronic zones with different degree of anthropic perturbation.

Three states of the *Daphnia magna* life cycle and the associated projection matrix were defined. The population parameters were estimated from 8 censuses by quadratic programming method. The finite rate of increase ( $\lambda$ ) was not different between the control treatment and the experimental treatments. However, a toxic effect on neonates and a positive effect on young and adults were shown by both the prospective methods and the retrospective methods (LTRE), produced by the surface water from the zone of higher degree anthropic perturbation. In the other hand, negative effects on neonates were observed in one of the lower anthropic perturbation treatments, probably associated to physical-chemical phenomena.

**Keywords:** Chronic bioassay; matrix population modelling; life table response experiments (LTRE); elasticity; *Daphnia magna*; quadratic programming method.

## INTRODUCCION

La presión que generan las actividades antrópicas sobre los sistemas límnicos se refleja en el aumento de los requerimientos de uso tanto consuntivo como no consuntivo del recurso hídrico, lo que finalmente influye en la cantidad y calidad de las descargas que los ríos reciben. En Chile la demanda por agua se ha incrementado como producto del crecimiento demográfico y económico. En la VI Región de nuestro país esto se demuestra en el aumento en las tasas de consumo (periodo 1990–2002) de los sectores agrícola (15,3%), industrial (100%), minería (12,9%), energía (30,6%) y agua potable (38,5%) (Universidad de Chile 2005).

La principal cuenca de la VI región es la del río Rapel; ésta actualmente tiene una población aproximada a los 509.894 habitantes (INE 2002) y está dividida en dos subcuencas: Cachapoal y Tinguiririca. Los asentamientos humanos que se encuentran asociados al Cachapoal concentran el 74,5% de la población urbana de la cuenca (MOP-DGA y CADE-IDEPE 2004) y presentan un uso intensivo del agua para actividades de riego y agroindustriales, generación de energía hidroeléctrica y desarrollo de la gran minería del cobre en la parte alta de la cuenca. Además, existen otros usos no consuntivos que pueden generar problemas medioambientales en el Cachapoal, como lo son las descargas de aguas servidas domiciliarias tratadas y residuos industriales líquidos. (CONAMA 2006).

Las normas secundarias de calidad ambiental expresan una calidad objetivo e indican el valor de los elementos o compuestos que la sociedad quiere que se protejan, mantengan o recuperen, en un cuerpo o curso de agua determinado, de manera que

se salvaguarde el aprovechamiento del recurso y la protección y conservación de las comunidades acuáticas propias de cada lugar (CONAMA 2004, 2006).

Actualmente está en proceso de revisión el anteproyecto de Normas Secundarias de Calidad Ambiental para la Protección de las Aguas Continentales Superficiales de La Cuenca del Río Cachapoal (CONAMA 2006). Esta norma tiene como objetivo ser un instrumento fundamental en el ejercicio de las atribuciones de fiscalización de los organismos públicos regionales con competencia ambiental y establece, en su Artículo 6º, la utilización de bioensayos y/o bioindicadores como herramienta complementaria para evaluar el impacto sobre las comunidades acuáticas y calidad de agua.

Los bioensayos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos. Los efectos pueden manifestarse a diferentes niveles, desde estructuras subcelulares o sistemas de enzimas, hasta organismos completos, poblaciones o comunidades. Por tanto, la toxicidad será la capacidad de una sustancia para ejercer un efecto nocivo sobre un organismo o la biocenosis, y dependerá tanto de las propiedades químicas del compuesto como de su concentración, según sea la duración y frecuencia de la exposición al tóxico, y su relación con el ciclo de vida del organismo; las pruebas podrán ser de tipo agudo o crónico (Ronco *et al.* 2004)

Los bioensayos agudos evalúan la letalidad aguda producida por un contaminante, esto se refiere a las muertes producidas después de una exposición corta pero intensa

a un contaminante, generalmente un periodo menor a las 96 horas (Sprague 1969). Por otro lado la finalidad de los bioensayos crónicos es evaluar la toxicidad a largo plazo relacionada con cambios en el metabolismo, crecimiento o capacidad de supervivencia durante un periodo de a lo menos el 10% del largo de la vida del individuo (Newman 2001, Ronco et al. 2004).

La única normativa chilena asociada actualmente a la evaluación de la toxicidad aguda es la Norma Chilena Aguas – Bioensayo de toxicidad aguda mediante la determinación de la inhibición de la movilidad de *Daphnia magna* o *Daphnia pulex* (Crustacea, Cladocera: NCh 2083.Of1999). Esta tiene como objetivo medir el efecto inhibitorio de una sustancia pura, efluente o aguas naturales sobre la movilidad de neonatos de cladóceros en condiciones controladas de laboratorio. Esto se realiza mediante la determinación de la concentración que en 24 o 48 horas inmoviliza el 50% de los organismos expuestos, asumiendo dicha respuesta fisiológica, como equivalente a mortalidad o muerte ecológica de los ejemplares.

La evaluación de la toxicidad crónica, por otra parte, no está normada y solamente se realizan ensayos basados en la metodología internacional, como por ejemplo la Prueba de toxicidad crónica de 10 días utilizando *Daphnia magna* o *Daphnia pulex* (US EPA 1994). Estas metodologías evalúan la mortalidad y natalidad asociada a una concentración determinada de contaminante, manteniendo los individuos iniciales y eliminando los individuos recién nacidos del sistema.

Según Caswell (1996), los procesos ecológicos en un nivel de jerarquía determinado toman sus mecanismos del nivel jerárquico inferior y encuentran sus consecuencias en el nivel jerárquico superior. Si reconocemos este principio, podemos darnos cuenta de



que la principal dificultad que tienen los bioensayos crónicos es la falta de conexión entre los efectos causados por los contaminantes en los niveles más bajos de organización (molecular/celular y orgánico) y sus posibles consecuencias en los niveles de organización superior (Bridges & Dillon 1993). Esto se debe a que estos bioensayos se realizan solamente en un nivel orgánico, sin considerar las consecuencias de las respuestas individuales sobre los niveles poblacionales y/o comunitarios. De esta manera se pierde información ecológica, la cual puede ser relevante para dimensionar las consecuencias de un determinado contaminante sobre los sistemas ecológicos. Para resolver esto, se ha propuesto a la modelación poblacional matricial (Caswell 1989) como herramienta, ya que esta técnica sería el mejor mecanismo para establecer enlaces entre los niveles individual y poblacional (Bridges & Dillon 1993, Caswell 1996, Levin *et al.* 1996, Bridges & Carroll 2000, Barata *et al.* 2002).

## OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar el efecto de la calidad del aguas superficiales sobre la dinámica poblacional de *Daphnia magna* (Crustacea, Daphniidae) utilizando modelos matriciales.

Objetivos específicos:

- a) Caracterizar la composición física y química del agua en un gradiente de perturbación antrópica.
- b) Adaptar los protocolos de bioensayos de toxicidad crónica a los análisis de matrices demográficas.
- c) Identificar que tasas vitales son afectados por la calidad del agua, dentro del ciclo de vida de *Daphnia magna*.

## MATERIALES Y METODOS

### Área de estudio

Se estudiaron dos zonas del río Cachapoal con distinto grado de perturbación antrópica, una en Pangal y otra en Coinco (Figura 1). Pangal se define como una zona con una baja perturbación (B.P.) antrópica debido a que se encuentra aguas arriba de los centros urbanos, a una altura de 1411 m.s.n.m., presentando aguas claras sin presencia elevada de materia orgánica. La zona de Coinco, por otro lado es un sitio con una alta perturbación (A.P.) antrópica debido a su posición aguas abajo de Rancagua (347 m.s.n.m.), lugar donde históricamente se han descargado aguas servidas directamente al río y residuos industriales líquidos (RILes) (Tabla 1).



Zona del río	Latitud, Longitud y altitud	Características	VARIABLES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS
Pangal	34°14'31.48" S 70°20'30.78" W  1411 m.s.n.m	Aguas claras Más limpia Vegetación nativa	Al total (0,1 – 4,9 mg/mL) Cd total ( $\leq$ 0 mg/mL) Sn total ( $\geq$ 50 $\mu$ g/mL) Sn disuelto ( $\geq$ 50 $\mu$ g/mL) Fe total (< 0,8 mg/L) NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (< 0,5 mg/L) Aceites grasas (< 4 mg/L) Hidrocarburos (< 0,04 mg/L) Sólidos suspendidos totales ( $\geq$ 80 mg/L) Coliformes fecales (< 10 NMP/100 mL) Coliformes totales (< 200 NMP/100 mL) DBO <sub>5</sub> (< 2 mg/L)
Coinco	34°14'13.71" S 70°57'1.41" W  347 m.s.n.m.	Aguas turbias RILes (faenadoras) Minibasurales	Al total ((0,1 – 4,9 mg/mL) Cd total ( $\geq$ 0 mg/mL) Sn total ( $\geq$ 50 $\mu$ g/mL) Sn disuelto ( $\geq$ 50 $\mu$ g/mL) Fe total ( $\geq$ 5 mg/L) * NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ( $\geq$ 2,5 mg/L) * Aceites grasas ( $\geq$ 0 mg/L) * Hidrocarburos ( $\geq$ mg/L) * Sólidos suspendidos totales ( $\geq$ 80 mg/L) Coliformes fecales (2000-4999 NMP/100 mL) * Coliformes totales (5000-9999 NMP/100 mL) * DBO <sub>5</sub> (10- 19 mg/L) *

Fuente: CENMA 2005.

**Tabla 1.** Ubicación geográfica, características y variables químicas y biológicas del agua encontradas en las dos zonas del río Cachapoal. El rango de concentración para cada parámetro se definió según la *Guía CONAMA para el Establecimiento de las Normas Secundarias de Calidad Ambiental para Aguas Continentales Superficiales y Marinas* (CONAMA 2004). (\*) Se destacan las diferencias entre las variables químicas y biológicas de las dos zonas. La latitud y longitud fueron obtenidas con un equipo GPS eTrex Vista, Garmin y los datos fueron ajustados según el sistema internacional WGS 84.

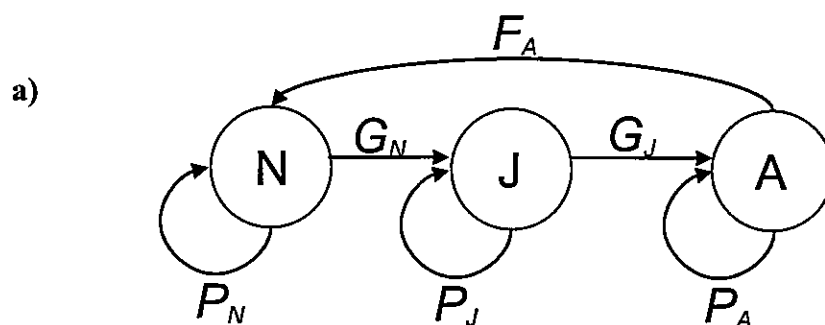
## Ciclo de Vida y Matriz de Proyección

Los modelos poblacionales del tipo matricial permiten proyectar las abundancias de cada clase de edad o estado de una población en un tiempo  $t$  determinado. Estos modelos están basados en una matriz de proyección y en un vector de abundancias. La matriz de proyección resume las características demográficas de la población y sus entradas son denominadas tasas vitales. Por otro lado el vector de abundancias indica la abundancia de cada una de las clases de edades o estados que existen en una población (Caswell 2000).

Para construir el modelo matricial estado-estructurado primero se fijó un intervalo de proyección de 3 días y se definieron los estados del ciclo de vida de *Daphnia magna* que se modelarían (Neonatos, Juveniles y Adultos). El criterio para identificar los estados es el tamaño y la presencia de huevos (tabla 2). Luego se definieron las tasas vitales asociadas a los estados del ciclo de vida: las probabilidades de permanecer en el estado  $i$  ( $P_i$ ), las probabilidades de pasar al siguiente estado  $i$  ( $G_i$ ) y la fecundidad de los adultos ( $F_A$ ). Toda esta información se incorporó a la matriz de proyección y al grafo que representa a este sistema (Figura 2).

Estado	Tamaño	Huevos
Neonato	< 2,5 mm	Ausentes
Juvenil	≥2,5 mm	Ausentes
Adulto	> 2,5 mm	Presentes

**Tabla 2.** Criterio para la identificación de los estados del ciclo de vida de *Daphnia magna* según tamaño y presencia de huevos. Se consideró un tamaño máximo de 5 mm para los adultos (Clesceri *et al.* 1998), siendo la mitad de esta medida (2,5 mm) el límite para definir los estados.



b)

$$A = \begin{bmatrix} P_N & 0 & F_A \\ G_N & P_J & 0 \\ 0 & G_J & P_A \end{bmatrix}$$

**Figura 2.** a) Grafo que representa el ciclo de vida de *Daphnia magna* con tres estados: neonatos (N), juveniles (J) y adultos (A). También se muestran las tasas vitales:  $P_i$  probabilidad de mantenerse en el estado  $i$ ,  $G_i$  probabilidad de sobrevivir del estado  $i$  al siguiente y  $F_A$  la fecundidad por individuo de los adultos. b) Matriz de proyección [A] que contiene las tasas vitales asociadas a los estados del ciclo de vida de *Daphnia magna*.

## Diseño experimental

Las muestras de agua fueron obtenidas durante los días 15 y 16 de marzo de 2005, en dos zonas rítrónicas del río Cachapoal (Figura 1 y Tabla 1). Fueron transportadas bajo una temperatura de 5°C y luego fueron congeladas. Posteriormente, cada vez que fue necesario, se descongeló el volumen de agua requerido y se llevó a una temperatura de 20°C. Se generaron 2 tratamientos para cada una de las zonas, haciéndose 4 replicas para cada uno de los tratamientos. Se tomaron 600 mL de las aguas de la zona de Alta Perturbación y se repartieron equitativamente a través de las réplicas, para crear el tratamiento AP100. El mismo procedimiento fue utilizado para generar el tratamiento BP100 a partir de las aguas de la zona de Pangal.

Con el fin de evaluar la existencia de un efecto asociado al grado de dilución de las aguas, se procedió a diluir al 50% el agua tanto de la zona de Alta Perturbación (AP50) como de la zona de Baja Perturbación (BP50). Para esto se tomó en forma separada un volumen de 300 mL de agua de cada zona y se mezcló con 300 mL de agua reconstituida (NCh 2083.Of1999), para luego dividirse dentro de las replicas de manera equitativa. Además se utilizó un volumen de 600 mL de agua reconstituida (NCh 2083.Of1999) para hacer un control de laboratorio. Este se hizo con el fin de comparar la dinámica poblacional de *Daphnia magna* bajo condiciones estándares de cultivo con lo observado bajo las condiciones proporcionadas por las aguas del río Cachapoal.

Para todos los tratamientos y el control se utilizó un volumen de agua de 150 mL en un vaso de precipitado de 200 mL. Cada replica tuvo una población inicial de 4 neonatos de *Daphnia magna*. Todos los individuos fueron cambiados de medio cada tres días. En cada cambio de medio se alimentó a los individuos con *Selenastrum capricornutum*,



introduciendo una alícuota de 100 $\mu$ L en cada vaso, alcanzando una densidad inicial de 3,0 a 3,5 x 10<sup>6</sup> células/mL. Además se suplementó la alimentación con  $\approx$ 40 mg de alimento para peces Sera Mikropan. Los vasos se mantuvieron tapados a una temperatura de 20 °C  $\pm$  2 °C, con un fotoperíodo de 16 h  $\pm$  2 h de luz y 8 h  $\pm$  2 h de oscuridad con una intensidad de 800 lux (NCh 2083.Of1999).

Se contaron los neonatos, los juveniles y los adultos producidos en cada tratamiento cada 3 días (intervalo de proyección) durante un periodo de 21 días, obteniendo de esta forma un vector de distribución de estados funcionales para cada censo. La temperatura y la saturación de oxígeno fueron medidas con un oxímetro WTW oxi 330i (calibrado a 550 m.s.n.m.). Para medir la conductividad eléctrica se utilizó un conductivímetro HACH CO 150, mientras que el pH fue controlado con un pH-metro HORIBA F21. Este procedimiento fue realizado al inicio y al final de cada intervalo de proyección, tomando una réplica al azar de cada tratamiento experimental. Posteriormente, para cada una de estas variables, se promediaron los datos obtenidos al inicio y al final de cada intervalo de proyección en cada uno de los tratamientos experimentales. Para analizar si existieron diferencias entre el promedio inicial y final de cada variable se aplicó una Prueba de Wilcoxon de pares igualados para muestras dependientes. Con la finalidad de observar diferencias entre los promedios de las variables ambientales (tanto iniciales como finales) entre los tratamientos se realizó un ANDEVA de una vía no paramétrico de Kruskal-Wallis.

Finalmente, se obtuvieron las matrices de proyección de cada una de las réplicas, a partir de los vectores de distribución de los estados funcionales de cada censo, mediante el método de programación cuadrática (Wood 1994). Básicamente, este

método estima las tasas vitales a partir de una serie temporal de vectores que incluyen las abundancias de cada una de las clases definidas.

### **Análisis Demográfico**

#### Tasa finita de crecimiento

Mediante la resolución de la ecuación característica de cada una de las matrices de proyección se obtuvo la tasa finita de crecimiento,  $\lambda$  (autovalor dominante).

$$-\lambda^3 + \lambda^2(P_N + P_J + P_A) - \lambda(P_N P_J + P_N P_A + P_J P_A) + P_N P_J P_A + G_N G_J F_A = 0$$

Para observar si existieron diferencias significativas entre las tasas vitales y entre las lambdas de los tratamientos y el control se realizó un ANDEVA de una vía y una prueba a posteriori de Tukey HSD para muestras desiguales. Para verificar el supuesto de normalidad se realizó una prueba de Kolmogorov-Smirnov y para probar la homogeneidad de las varianzas se realizó una prueba de Brown-Forsythe.

#### Análisis prospectivos

Se realizó una proyección con el fin de observar el ajuste de los valores obtenidos a través del modelo planteado con los datos observados empíricamente. Para realizarla se utilizó una matriz de proyección promedio (**A**), calculada a partir de las replicas de cada tratamiento. Luego esta fue multiplicada de forma iterativa por el vector de abundancias (**n**):

$$n(t+1) = An(t)$$

$$\begin{bmatrix} n_N \\ n_J \\ n_A \end{bmatrix} (t+1) = \begin{bmatrix} P_N & 0 & F_A \\ G_N & P_J & 0 \\ 0 & G_J & P_A \end{bmatrix} \begin{bmatrix} n_N \\ n_J \\ n_A \end{bmatrix} (t)$$

Los análisis prospectivos pretenden identificar qué tasas vitales afectarían en mayor o menor medida a  $\lambda$ , y dentro de ellos se destacan los análisis de sensibilidad y elasticidad. La elasticidad ( $e_{ij}$ ) cuantifica la contribución proporcional de las tasas vitales ( $a_{ij}$ ) a  $\lambda$ , resolviendo el problema de la imposibilidad de comparación entre las sensibilidades de lambda a las tasas vitales, debido a sus grandes diferencias de magnitud (Caswell 1989).

$$e_{ij} = \frac{\frac{\partial \lambda / \lambda}{\partial a_{ij} / a_{ij}}}{\lambda} = \frac{a_{ij}}{\lambda} \frac{\partial \lambda}{\partial a_{ij}} = \frac{\partial \log \lambda}{\partial \log a_{ij}}$$

En primera instancia, para hacer más fácil la comparación entre los tratamientos, las elasticidades fueron agrupadas según las tasas vitales de permanencia ( $P_i$ ), crecimiento ( $G_i$ ) y fecundidad de los adultos ( $F_A$ ). Con el fin de observar diferencias significativas entre el control y los tratamientos se realizó una prueba de t para muestras independientes. Para realizarla se compararon, en forma pareada, los valores de elasticidad agrupados del control con los valores de cada tratamiento. Posteriormente, en los tratamientos que presentaron diferencias significativas con el control, se realizó un análisis más detallado mediante una prueba U de Mann-Whitney.

## Análisis Retrospectivos

Los análisis retrospectivos capturan las contribuciones de las tasas vitales a los cambios ocurridos en  $\lambda$  (observados). Dentro de estos se encuentran los ERTV (Experimentos de Respuesta de Tabla de Vida), que utilizan las lambdas calculadas a partir de matrices obtenidas de tablas de vida de distintos tratamientos experimentales (Caswell 1989). Luego se descomponen los efectos del tratamiento sobre  $\lambda$ , en contribuciones que se generan del efecto observado del tratamiento sobre cada una de las tasas vitales ponderado por la sensibilidad de  $\lambda$  a cada tasa vital.

Para el caso de los ERTV de diseño fijo de una vía, la lambda de una población bajo un tratamiento m se descompone:

$$\lambda^{(m)} \approx \lambda^{(r)} + \sum_{i,j} (a_{ij}^{(m)} - a_{ij}^{(r)}) \left. \frac{\partial \lambda}{\partial a_{ij}} \right|_{A^+}$$

Donde  $\lambda^{(m)}$  y  $\lambda^{(r)}$  son los valores de lambda para el tratamiento m y para el control r, respectivamente. La contribución  $c_{ij}$  de cada tasa vital ( $a_{ij}$ ) corresponde al producto entre el cambio observado en cada tasa vital y su sensibilidad media.

$$c_{ij} = (a_{ij}^{(m)} - a_{ij}^{(r)}) \left. \frac{\partial \lambda}{\partial a_{ij}} \right|_{A^+}$$

Donde  $A^+$  corresponde al promedio entre la matriz del tratamiento m ( $A^{(m)}$ ) y la matriz del control ( $A^{(r)}$ ):

$$A^+ = (A^{(m)} + A^{(r)})/2$$

El método de programación cuadrática, el cálculo del autovalor dominante ( $\lambda$ ), las proyecciones poblacionales, los análisis retrospectivos y los análisis prospectivos fueron realizados en MATLAB 5.3 (the MathWorks Inc. 1999). Las pruebas estadísticas fueron realizadas con STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc. 2001), considerando diferencias significativas con un  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

### Análisis de las variables físicas y químicas

No se presentaron diferencias significativas entre las variables físicas y químicas iniciales y finales en cada uno de los tratamientos (Prueba de Wilcoxon de pares igualados,  $p > 0,05$ ; Tabla 3). Entre los tratamientos se presentaron diferencias significativas en la conductividad eléctrica tanto inicial como final (ANDEVA no paramétrico de Kruskal-Wallis,  $p < < 0,01$ ) y también en el pH inicial (ANDEVA no paramétrico de Kruskal-Wallis,  $p = 0,04$ ).

	Temperatura (°C)		Conductividad (µS / cm)		pH		Oxígeno (%)	
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final
Control	19,5	19,7	597*	604*	7,67*	7,75	100,8	100,6
BP50	19,3	19,7	491*	494*	7,74*	7,82	102,4	102,5
BP100	18,8	19,7	395*	407*	7,80*	7,86	99,5	103,7
AP50	19,1	19,6	551*	564*	7,83*	7,92	101,9	101,2
AP100	19,0	19,7	536*	544*	7,95*	7,95	102,6	101,8

**Tabla 3.** Variables físicas y químicas medidas en el agua utilizada en los experimentos al inicio y al final de cada intervalo de proyección. BP50: Baja Perturbación al 50%, BP100: Baja Perturbación al 100%, AP50: Alta Perturbación al 50% y AP100: Alta Perturbación al 100%. Los valores presentados son el promedio de 8 datos. (\*) Diferencias significativas entre los tratamientos (ANDEVA no paramétrico de Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ).

### Tasas vitales y tasa finita de crecimiento

Se encontraron diferencias significativas entre el control y los tratamientos en las tasas vitales  $P_N$  y  $F_A$ . Para las probabilidades de permanencia en el estado neonato ( $P_N$ ) se observaron diferencias significativas en todos los tratamientos contra el Control a excepción del tratamiento BP50 (Tukey,  $p=0,82$ ). El valor promedio de  $P_N$  fue más alto en el Control que en los demás tratamientos, siendo el tratamiento BP100 el que presentó la menor  $P_N$  (Figura 3). El Control presentó diferencias significativas en su fecundidad ( $F_A$ ) promedio con todos los tratamientos a excepción del tratamiento BP50. Los dos tratamientos de alta perturbación obtuvieron fecundidades promedio superiores al Control (Figura 3).

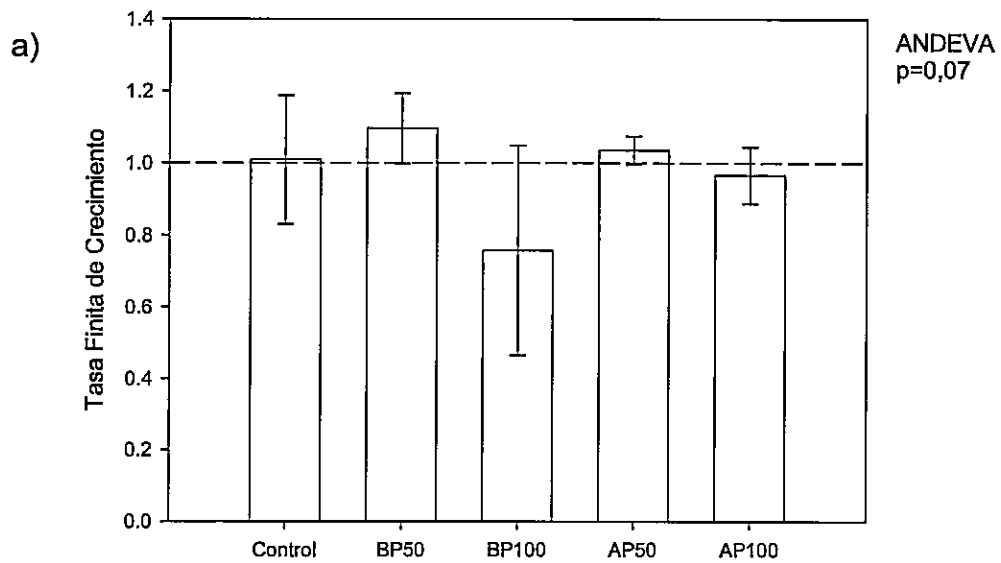
$$A_{Control} = \begin{bmatrix} 0,88 & 0,00 & 7,88 \\ 0,03 & 0,00 & 0,00 \\ 0,00 & 0,32 & 0,63 \end{bmatrix}$$

$$A_{BP50} = \begin{bmatrix} 0,77 & 0,00 & 5,55 \\ 0,03 & 0,13 & 0,00 \\ 0,00 & 0,79 & 0,69 \end{bmatrix} \quad A_{BP100} = \begin{bmatrix} 0,34^* & 0,00 & 2,96^* \\ 0,07 & 0,00 & 0,00 \\ 0,00 & 0,79 & 0,54 \end{bmatrix}$$

$$A_{AP50} = \begin{bmatrix} 0,55^* & 0,00 & 14,06^* \\ 0,03 & 0,07 & 0,00 \\ 0,00 & 0,60 & 0,55 \end{bmatrix} \quad A_{AP100} = \begin{bmatrix} 0,54^* & 0,00 & 16,09^* \\ 0,02 & 0,04 & 0,00 \\ 0,00 & 0,30 & 0,70 \end{bmatrix}$$

**Figura 3.** Matrices de proyección de los distintos tratamientos y el Control. BP50: Baja Perturbación al 50%, BP100: Baja Perturbación al 100%, AP50: Alta Perturbación al 50% y AP100: Alta Perturbación al 100%. Los valores de los distintos parámetros son expresados como el promedio de 4 replicas. (\*) Diferencias significativas con los valores de los parámetros del Control (ANDEVA de una vía y Tukey HSD para muestras desiguales;  $p<0,05$ )

No existieron diferencias entre  $\lambda$  control y las lambdas calculadas para los tratamientos (ANDEVA,  $p=0,07$ ). Los valores de  $\lambda$  promedio fueron superiores a 1 en el control y en los tratamientos AP50 y BP50, siendo éste último el que obtuvo la mayor de todas ( $\lambda=1,10 \pm 0,10$ ). Por otra parte los tratamientos BP100 y AP100 obtuvieron valores de  $0,76 \pm 0,29$  y  $0,97 \pm 0,08$  respectivamente (Figura 4).



**Figura 4.** Tasa finita de crecimiento promedio ( $\lambda$ ) calculada a partir de las matrices de proyección obtenidas en los tratamientos experimentales. BP50: Baja Perturbación al 50%, BP100: Baja Perturbación al 100%, AP50: Alta Perturbación al 50% y AP100: Alta Perturbación al 100%. Las barras representan  $\pm 2$  errores estándar.

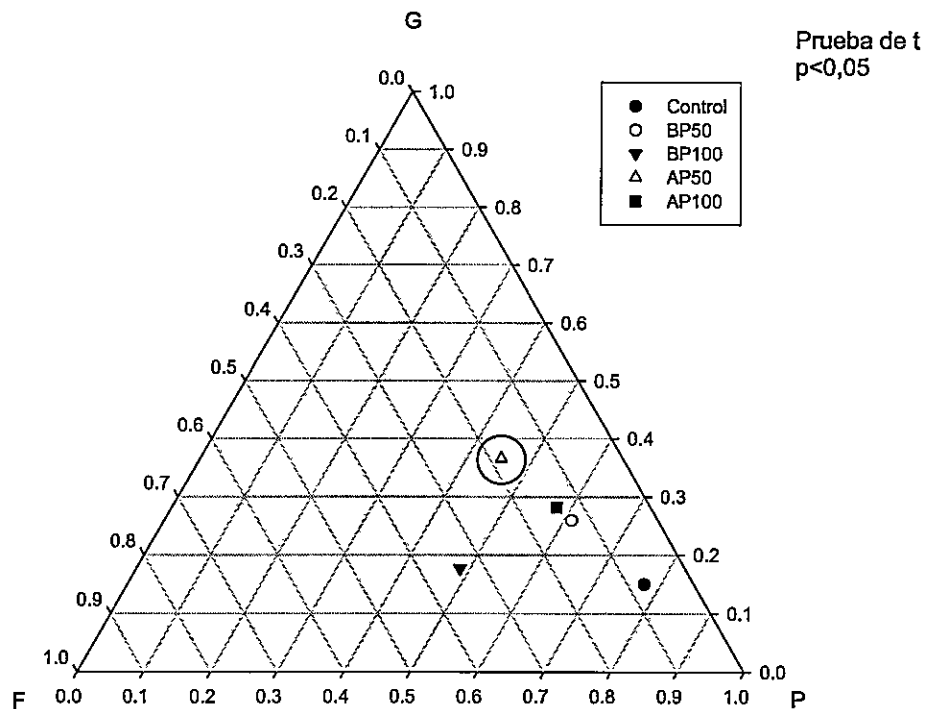
### Análisis Prospectivos

En la mayoría de los casos los valores obtenidos en las proyecciones se mantuvieron dentro del error estándar de los censos de cada uno de los tratamientos. Esto muestra que la metodología de programación cuadrática logra efectivamente estimar las tasas



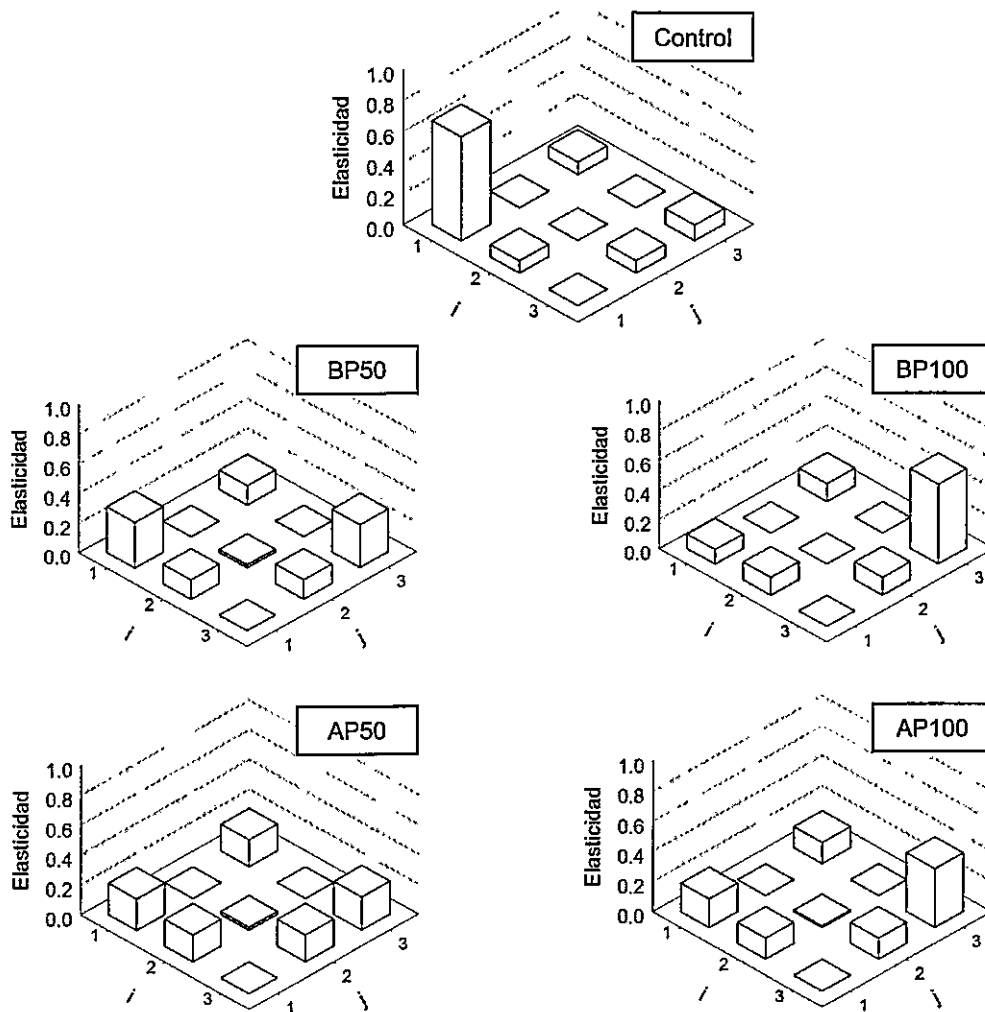
vitales, de manera tal que los datos proyectados a través de éstos se ajustan bastante bien a los datos empíricos.

No se encontraron diferencias entre las elasticidades del control y la de los tratamientos experimentales a excepción del tratamiento AP50 (Figura 5). En este último, la elasticidad de  $\lambda$  a la tasa vital P fue significativamente menor ( $t=3,23$ ,  $p<0,05$ ) que en el control. La elasticidad de  $\lambda$  a G fuè significativamente mayor en AP50 que en el tratamiento control ( $t=-3,23$ ,  $p<0,05$ ). Igualmente F fue significativamente mayor en AP50 que en el control ( $t=-3,23$ ,  $p<0,05$ ).



**Figura 5.** Elasticidades de lambda a los distintos parámetros. P: Probabilidades de sobrevivir y permanecer en estado i ( $P_N+P_J+P_A$ ), G: Probabilidades de sobrevivir al estado i y pasar al siguiente ( $G_N+G_J$ ), F: Fecundidad. Los valores son expresados como el promedio de 4 replicas. ○: Diferencias significativas con el control.

Un análisis más detallado muestra que la elasticidad de  $\lambda$  a  $P_N$  es significativamente mayor en el control que en AP50. No existieron diferencias significativas entre las elasticidades de  $\lambda$  a  $P_J$  (Mann-Whitney,  $U=6,0$ ,  $p=0,69$ ) y a  $P_A$  (Mann-Whitney,  $U=2,0$ ,  $p=0,11$ ) Por otro lado las elasticidades de  $\lambda$  a  $G_N$ ,  $G_J$  y  $F_A$  son significativamente menores en el control que en AP50 (Figura 6).



**Figura 6.** Elasticidades de lambda a los parámetros  $a_{ij}$ . Los ejes representan las filas (i) y columnas (j) de la matriz de elasticidad. BP50: Baja Perturbación al 50%, BP100: Baja Perturbación al 100%, AP50: Alta Perturbación al 50% y AP100: Alta Perturbación al 100%. Los valores son expresados como el promedio de 4 replicas.

## Análisis Retrospectivos

La tasa vital  $P_N$  tiene una contribución negativa sobre  $\lambda$  como respuesta tanto a los tratamientos de Baja Perturbación como de Alta Perturbación. Al comparar los efectos de los tratamientos podemos observar que el más negativo fue el causado por el tratamiento BP100 y el menos negativo fue causado por BP50 (Figura 7).

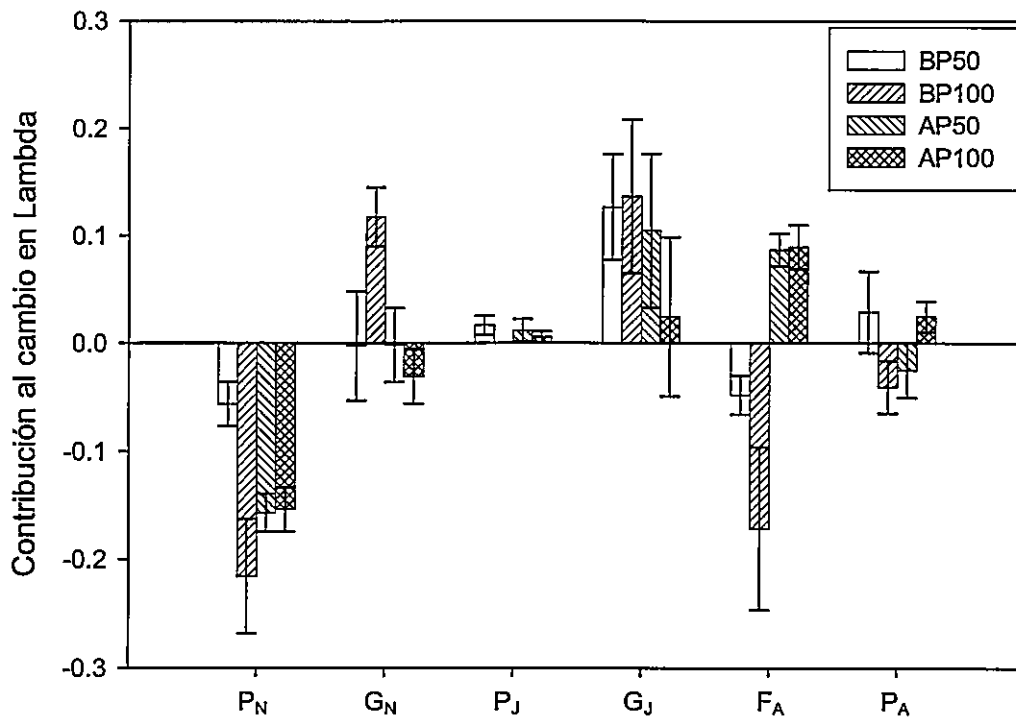
La probabilidad de paso de estado neonato a juvenil  $G_N$  por su parte, contribuyó tanto positiva como negativamente sobre  $\lambda$ : el tratamiento BP100 tuvo un efecto positivo sobre  $\lambda$  mientras que el tratamiento de Alta Perturbación al 100% tuvo un efecto negativo. Los otros dos tratamientos (BP50 y AP50) no se diferenciaron significativamente respecto del control (Figura 7).

Las tasas vitales  $P_J$  de los tratamientos BP50 y AP50 contribuyeron positivamente sobre  $\lambda$ , mientras que en los tratamientos BP100 y AP100 esta tasa vital no tuvo contribución significativa sobre  $\lambda$  (Figura 7).

En el tratamiento AP100, la probabilidad de paso del estado juvenil al estado adulto  $G_J$  no contribuyó significativamente sobre  $\lambda$ . Todas las demás  $G_J$  obtenidas en los otros tratamientos tuvieron una contribución positiva y significativa sobre  $\lambda$  (Figura 7).

Las Fecundidades de los tratamientos de Baja Perturbación tuvieron un efecto negativo sobre la tasa finita de crecimiento, mientras que las  $F_A$  de los de Alta Perturbación la afectaron positivamente (Figura 7).

La probabilidad de permanencia en el estado de adulto  $P_A$  perteneciente al tratamiento BP100 tuvo una contribución negativa sobre  $\lambda$ . Contrariamente a esto, la  $P_A$  del tratamiento AP100, presentó una contribución positiva sobre  $\lambda$ . Las probabilidades de permanencia ( $P_A$ ) de los tratamientos de BP50 y AP50 no contribuyeron significativamente al cambio de  $\lambda$ .



**Figura 7.** Contribución de las tasas vitales de los tratamientos al cambio en  $\lambda$ . BP50: Baja Perturbación al 50%, BP100: Baja Perturbación al 100%, AP50: Alta Perturbación al 50% y AP100: Alta Perturbación al 100%.  $P_i$  probabilidad de mantenerse en el estado  $i$ ,  $G_i$  probabilidad de sobrevivir del estado  $i$  al siguiente y  $F_A$  la fecundidad por individuo de las madres. Los valores observados son el promedio de 16 replicas (12 para BP100) y las barras representan  $\pm 2$  errores estándar.

## DISCUSION

### Tasas vitales y tasa finita de crecimiento

Las tasas vitales más sensibles al aumento en la concentración de contaminantes fueron  $P_N$  (disminuyó un 39%) y  $F_A$  (aumentó un 110%). Estas mismas tasas vitales fueron las que presentaron mayores diferencias en el tratamiento BP100, siendo los dos inferiores al control en un 60% ( $P_N$ ) y un 92% ( $F_A$ ).

Por otro lado, el agua proveniente de la zona de Alta Perturbación no generó ningún efecto significativo sobre la tasa finita de crecimiento de *Daphnia magna*, y ninguno de los valores obtenidos fue distinto de 1 (condición de estado estacionario). Esto indicaría que estas poblaciones no deberían extinguirse si se mantienen las condiciones ambientales constantes y podrían definirse como saludables (Bridges & Dillon 1993). Lo mismo ocurre para los tratamientos con aguas de la zona de Baja Perturbación, siendo el comportamiento esperado para tratamientos que utilizan aguas de una zona más limpia (Figura 4).

### Elasticidad

En todos los tratamientos el análisis de elasticidad mostró valores bajos para  $G_i$  ( $\leq 0,18$ ) en comparación con las demás elasticidades. Esto se debería a algunas restricciones generadas por el modelo matricial ocupado (Figura 2). Se ha descrito que la utilización de modelos estado-estructurados con poca cantidad de estados genera una disminución de la importancia relativa de  $G_i$  en comparación con  $P_i$ , debido a que los individuos tienen una mayor probabilidad de quedarse en el mismo estado por más de un intervalo de tiempo (Benton & Grant 1999, Pardo *et al.* En prensa). A la vez, es

notoria la baja elasticidad de  $\lambda$  a  $P_J$  en todos los tratamientos, lo que indicaría que cambios importantes en esta tasa vital no tienen grandes efectos sobre las  $\lambda$  de estas poblaciones (Figura 6).

Un resultado interesante fue el obtenido al comparar la elasticidad a las diferentes tasas en el tratamiento AP50 con las del Control (Figura 6). En efecto en el tratamiento AP50, la elasticidad de  $\lambda$  a  $P_N$  disminuye drásticamente (20%) y la contribución relativa a  $\lambda$  de las otras tasas vitales se eleva moderadamente. Esto indicaría que a pesar de que ocurre una disminución de  $P_N$  al aumentar la contaminación, esta no tendría una repercusión severa en el crecimiento poblacional. Por otro lado, el incremento de  $F_A$  a medida que la concentración de contaminantes aumenta (20%), tendría una influencia positiva sobre  $\lambda$ , aunque sólo en forma leve.

Por otro lado, también se pudo observar que  $\lambda$  respondió menos al aumento en la concentración de los contaminantes que la tasa vital que respondió más (Figura 8A). Esto se produciría tanto por la existencia de un efecto divergente y compensatorio entre  $P_N$  y  $F_A$  como por la baja sensibilidad de  $\lambda$  a estas dos tasas vitales, resultando ambos en un efecto insignificante sobre  $\lambda$ . Este fenómeno debe ser tomado en cuenta, si se pretende utilizar las tasas vitales que más responden a la contaminación como únicos parámetro evaluadores de la calidad. Esto debido a que estas dos tasas vitales en conjunto contribuirían relativamente en no más de un 40% a la tasa de crecimiento poblacional y cualquiera interpretación de los efectos sobre estas tasas vitales, de forma independiente, estaría sobrestimando el efecto de los contaminantes a nivel poblacional (Hansen *et al.* 1999).

## **Experimentos de respuesta de Tablas de Vida**

Los experimentos de respuestas de tabla de vida obtenidos en este trabajo permitieron identificar las tasas vitales que contribuyeron positiva y negativamente, de modo de poder explicar por qué no se observaron diferencias significativas entre los  $\lambda$  de los diferentes tratamientos. De esta manera se puede concluir que:

a) el tratamiento AP100 generó contribuciones negativas de  $G_N$  y  $P_N$  y contribuciones positivas de  $F_A$  y  $P_A$ . Esto muestra posibles efectos tóxicos sobre los neonatos y compensatorios en los adultos.

b) el tratamiento AP50 mostró una contribución negativa de  $P_N$  que fue compensada por las contribuciones positivas de  $G_J$  y  $F_A$ .

c) en el tratamiento BP100  $P_N$  y  $F_A$  mostraron contribuciones negativas, mientras que  $G_N$  y  $G_J$  compensaron ese efecto contribuyendo en forma positiva.

d) en el tratamiento BP50 las contribuciones negativas de  $P_N$  y  $F_A$  fueron compensadas por las contribuciones positivas de  $P_J$  y  $G_J$ .

## **Posibles causas para las diferencias entre los tratamientos**

Los efectos negativos sobre los neonatos y positivos sobre los adultos encontrados en los tratamientos de alta perturbación (AP50 y AP100) se deben a que los individuos se enfrentarían, al eclosionar, a un ambiente adverso que provocaría altas mortalidades, dejando una mayor disponibilidad de recursos para los adultos, aumentando así su supervivencia y fecundidad. Este mecanismo es propuesto por Sibly (1996) como una de las formas por la cual una población, bajo los efectos de un contaminante, podría

evitar la extinción. Grant (1998), por otro lado, observó algo similar en un estudio de simulación realizado en el copépodo *Eurytemora affinis*; encontrando que los efectos de la dieltrina sobre la dinámica poblacional fueron disminuidos por un incremento en la densidad poblacional. Posteriormente se propuso, de manera concluyente, que en este tipo de fenómenos, la denso-dependencia actuaría amortiguando los efectos de la exposición tóxica sobre la dinámica poblacional (Forbes *et al.* 2001). Barata *et al.* (2002), se basaron en estos argumentos, entre otros, para investigar las respuestas demográficas de *Moinodaphnia macleayi* (Crustacea, Moinidae) a distintas concentraciones de Cadmio. Los efectos compensatorios comentados también han sido descritos por Pardo *et al.* (En prensa) en poblaciones de *Stratiodrillus aeglaphilus* (Annelida, Histiobdellidae) al ser sometidas a enriquecimiento orgánico. Fenómenos similares se han encontrado en *Daphnia galeata mendotae* (Crustacea, Daphniidae) al ser expuesta a cadmio (Marshall 1978) y en *Capitella capitata* (tipo M; Annelida, Capitellidae) en concentraciones bajas de fluoranteno (Linke-Gamenick *et al.* 1999). Esto también puede atribuirse a que los individuos más débiles o menos adecuados mueren en los primeros estados sobreviviendo solo los menos sensibles (Calow *et al.* 1997, Pardo *et al.* En prensa).

Los efectos positivos sobre los estados juveniles y adultos en los tratamientos de alta perturbación también podrían ser explicados por la presencia de materia en suspensión en bajas concentraciones. Se ha descrito que la arcilla en suspensión en bajas concentraciones (10 mg/L) no reduce las tasas de crecimiento poblacional en cladóceros (Kirk y Gilbert 1990). Bridges *et al.* (1996) en un bioensayo crónico con sedimentos de lagos, observaron efectos positivos en las tasas vitales de *Daphnia magna* producto de una baja concentración de sólidos totales en suspensión (< 50



mg/L). Estos efectos se deben a que las partículas en suspensión adsorberían la materia orgánica disuelta, haciéndola así disponible para la asimilación por los filtradores (Marzolf 1981, Arruda *et al.* 1983).

Por otro lado, los efectos tóxicos que generan los tratamientos de alta perturbación sobre los neonatos pueden ser explicados por dos factores que actuarían en forma sinérgica: (a) las elevadas conductividades eléctricas encontradas (Figura 9A) y (b) la toxicidad propia de los contaminantes. Apoyando esto, se ha observado que los individuos juveniles de *Daphnia carinata* son más sensibles a los cambios en salinidad (medido como conductividad eléctrica) que sus adultos (Hall & Burns 2002). Esto se debería a que los individuos más jóvenes tienen una relación superficie-volumen mayor que los individuos adultos y por lo tanto tienen un mayor potencial para movimientos de agua e iones a través de sus superficies. También se sabe que los estados de desarrollo temprano son más sensibles a los contaminantes que los estados más tardíos (Kefford *et al.* 2004). Aunque estas evidencias explican los efectos negativos producidos por la conductividad eléctrica, éstas no explicarían por completo los efectos observados en los tratamientos de alta perturbación. Se ha descrito que al someter a *Daphnia carinata* a aguas naturales y de laboratorio, con los mismos valores de conductividad eléctrica, existe un efecto tóxico producido por ambas pero con un grado distinto de severidad (Kefford 2000). Así, a pesar de tener el mismo grado de salinidad, las aguas naturales presentaron una mayor toxicidad que las aguas confeccionadas en laboratorio.

Inesperadamente, el tratamiento BP100 también sufrió efectos desfavorables en comparación con el control. Los efectos sobre  $F_A$  podrían deberse a un efecto directo

del tratamiento sobre los adultos o a una baja viabilidad de los neonatos dentro del periodo comprendido entre cada censo. Por otro lado, los efectos negativos sobre  $P_N$  se expresan en una mayor mortalidad de los neonatos en comparación con el control. La presencia de individuos muertos de menor tamaño en la interfase agua-aire de este tratamiento hace sospechar que la muerte de éstos fue producida por una elevada tensión superficial. La tensión superficial puede destruir a los cladóceros que quedan atrapados en la interfase y no pueden reingresar a su hábitat sumergido normal. (Wetzel 2001). Existe evidencia de que las aguas limpias, como las del tratamiento BP100 (Figura 10A), tienen una tensión superficial elevada, difiriendo poco de la tensión superficial del agua destilada (Adam 1936, Hardman 1941, Goldacre 1949). Por otro lado, la elevada contribución de  $G_N$  en el tratamiento BP100 podría ser producto del crecimiento acelerado de los neonatos sobrevivientes debido a la elevada concentración de alimento disponible y a las bajas densidades poblacionales alcanzadas (12 individuos promedio).

### **Posibles fuentes de error**

La frecuencia en la cual se hicieron los cambios de medio pudo afectar los resultados, ya que los desechos metabólicos de los organismos pudieron afectar el desempeño de los mismos. Por otro lado, probablemente el alimento disminuyó paulatinamente su concentración entre cada cambio de medio, cambiando así las condiciones iniciales y finales de todos los tratamientos.

Debido a que el criterio para identificar los individuos en estado adulto fue la presencia de huevos, se pudo subestimar el número de individuos en este estado cada vez que se realizó un censo y los adultos no presentaban huevos en sus cámaras de cría. Una

forma de solucionar esto es redefinir los criterios de identificación de los estados, basándose en los instars o midiendo el tamaño diariamente. Otra forma de solucionar este posible error es creando un proceso de retrogresión desde el estado adulto al juvenil, incorporándolo así al sistema como un proceso más, con una probabilidad de ocurrencia cuantificable.

## CONCLUSION

a) La alta perturbación antrópica produjo efectos tóxicos en el estado neonato pero efectos positivos en los adultos de *Daphnia magna*. A pesar de que esta metodología no permite identificar claramente qué causó este efecto, sí pudo identificar el estado más sensible a la contaminación y la magnitud en que se presentó en estas poblaciones.

b) La modelación matricial efectivamente es una herramienta poderosa de análisis en la evaluación de la toxicidad crónica en las poblaciones de *Daphnia magna*. Esta metodología permitió detectar efectos sutiles de los tratamientos experimentales, los cuales no se expresaron en variaciones en la tasa finita de crecimiento ( $\lambda$ ). Así, en este trabajo se presentó una metodología que considera el ciclo de vida completo de una población, a diferencia de la mayoría de los bioensayos crónicos realizados actualmente.

## BIBLIOGRAFIA

Adam, N.K. 1937. A rapid method for determining the lowering of tension of exposed water surfaces, with some observations on the surface tension of the sea and of inland waters. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences **122** (827): 134-139.

Arruda, J.A., Marzolf, G.R. & Faulk, R.T. 1983. The role of suspended sediments in the nutrition of zooplankton in turbid reservoirs. Ecology **64**: 1225-1235.

Barata, C., Baird, D. J. & Soares, A. M. V. M. 2002. Demographic responses of a tropical Cladoceran to cadmium: effects of food supply and density. Ecological Applications **12** (2): 552-564.

Benton, T. G. & Grant, A. 1999. Elasticity analysis as an important tool in evolutionary and population ecology. Tree **14**: 467-471.

Bridges, T.S. & Dillon, T.M. 1993. The use of population modeling to interpret chronic sublethal sediment bioassays, Environmental Effects of Dredging Technical Note EEDP-04-19, U.S. Army Engineer Waterways Experiment Station, Vicksburg, MS.

Bridges, T.S., Burres, R., Gray, B.R., Gibson A.B. & Dillon, T.M. 1996. Chronic toxicity of Great Lakes sediments to *Daphnia magna*: elutriate effects on survival, reproduction and population growth. Ecotoxicology **5**: 83-102.

Bridges, T.S. & Carroll S. 2000. Application of population modeling to evaluate chronic toxicity in the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus*, Environmental Effects of

Dredging Technical Note EEDP-01-44, Long Term Dredging Operation Research Program.

Calow, P., R. M. Sibly, & V. E. Forbes. 1997. Risk assessment on the basis of simplified life-history scenarios. *Environmental Toxicology and Chemistry* **16**: 1983–1989.

Caswell, H. 1989. *Matrix population models: construction, analysis, and interpretation*. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, USA.

Caswell, H. 1996. Demography meets ecotoxicology: Untangling the population level effects of toxic substances. En M.C. Newman y C.H. Jagoe (eds.), *Ecotoxicology: A Hierarchical Treatment*. CRC/Lewis Publishers, Boca Raton, FL.

Caswell, H. 2000. *Matrix population models: construction, analysis, and interpretation*. Second edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts.

CENMA 2005. Desarrollo de un modelo para el uso de bioindicadores y bioensayos como medida de la condición biológica de un cuerpo de agua. Manuscrito no publicado. Fondo de mejoramiento del patrimonio sanitario. Tercer concurso nacional de proyectos. Sexto estado de avance.

Clesceri, L. S., Greenberg, A. E. & Eaton, A. D. 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20th ed. Washington : American Public Health Association : American Water Works Association : Water Environment Federation.

CONAMA. 2004. Guía CONAMA para el establecimiento de las Normas Secundarias de Calidad Ambiental para Aguas Continentales Superficiales y Marinas. CONAMA. PDF. 21 jul. 2006. <<http://www.conama.cl/Portal/1255/article-31476.html>>

CONAMA. 2006. Anteproyecto de Normas Secundarias de Calidad Ambiental para la Protección de las Aguas Continentales Superficiales de la Cuenca del Río Cachapoal. CONAMA. PDF. 8 Jun. 2006. <<http://www.conama.cl/Portal/1255/article-34164.html>>

Du Noüy, P. L. 1925. An interfacial tensiometer for universal use. *J. Gen. Physiol.* **7**: 625-632.

Forbes, V. E., Sibly, R. M. & Calow, P. 2001. Toxicant Impacts on density-limited populations: A critical review of theory, Practice, and Results. *Ecological Applications* **11**(4): 1249-1257.

Goldacre, R. J. 1949. Surface Films on Natural Bodies of Water. *The Journal of Animal Ecology* **18**(1): 36-39.

Grant, A. 1998. Population consequences of chronic toxicity: Incorporating density dependence into analysis of life table response experiments. *Ecological Modeling* **105**: 325-225.

Hall, C. J. & Burns C. W. 2002. Mortality and growth responses of *Daphnia carinata* to increases in temperature and salinity. *Freshwater Biology* **47**: 451-458.

Hansen, F., Forbes, V. E. & Forbes, T. L. 1999. Effects of 4-n-Nonilfenol on life-history traits and population dynamics of polichaete. *Ecological Applications* **9**(2): 482-495.

Hardman, Y. 1941. The surface tension of Wisconsin lake waters. *Trans. Wisconsin Acad. Sci. Arts & Letters* **33**: 395-404.

INE. 2002. Mapa interactivo de Chile. Región del Libertador Bernardo O`Higgins. 8 jun. 2006. <[www.ine.cl](http://www.ine.cl)>

Kefford, B. J. 2000. The effect of saline water disposal: implications for monitoring programs and management. *Environmental Monitoring and Assessment* **63**: 313-327.

Kefford, B. J., Dalton, A., Palmer, C. G. & Nugegoda, D. 2004. The salinity tolerance of eggs and hatchlings of selected aquatic macroinvertebrates in south-east Australia and South Africa. *Hydrobiologia* **517**: 179-192.

Kirk, K. L. & Gilbert, J. J. 1990. Suspended clay and population dynamics of planktonic rotifers and cladocerans. *Ecology* **71**: 1741-1755.

Levin, L., Caswell, H., Bridges, T., DiBacco, C., Cabrera, D. & Plaia, G. 1996. Demographic Responses of Estuarine Polychaetes to Pollutants: Life Table Response Experiments. *Ecological Applications* **6**(4): 1295-1313.

Linke-Gamenick, I., Forbes V. E., & Sibly, R. M. 1999. Density-dependent effects of a toxicant on life-history traits and population dynamics of a capitellid polychaete. *Marine Ecology Progress Series* **184**: 139-148.

Marshall, J. S. 1978. Population dynamics of *Daphnia galeata mendotae* as modified by chronic cadmium stress. *Journal of the Fisheries Research Board Canada* **35**: 461-469.

Marzolf, G. R. 1981. Some aspects of zooplankton existence in surface water impoundments. En H. G. Stefan, (editor), *Proceedings of the Symposium on Surface Water Impoundments*. pp 1392-1399. American Society of Civil Engineers. New York, New York, USA.



MOP-DGA y CADE-IDEPE. 2004. Diagnóstico y Clasificación de los Cursos y Cuerpos de Agua según Objetivos de Calidad. Cuenca del río Rapel. MOP. PDF. 10 jul. 2007. <[http://www.sinia.cl/1292/articles-31018\\_Rapel.pdf](http://www.sinia.cl/1292/articles-31018_Rapel.pdf)>

NCh 2083: 1999. Aguas – Bioensayo de toxicidad aguda mediante la determinación de la inhibición de la movilidad de *Daphnia magna* o *Daphnia pulex* (Crustácea, Cladocera).

Newman, M. C. 2001. Fundamentals of ecotoxicology. pp 141. Lewis publishers/CRC press.

Pardo, R., Vila, I. & Bustamante, R. 2007. Demographic response of *Stratioidrilus aeglaphilus* (Anelida, Histiobdellidae) to organic enrichment: experimental assessment. *Hydrobiologia*. En prensa.

Ronco, A., Díaz-Báez M. C. & Pica-Granados, Y. 2004. Conceptos generales. En G. Castillo (editor), *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas*. pp 17-22. IDRC-IMTA.

Sibly, R. M. 1996. Effects of pollutants on individual lifehistories and population growth rates. En M.C. Newman y C.H. Jagoe (eds.), *Ecotoxicology: A Hierarchical Treatment*. pp197–223. CRC/Lewis Publishers, Boca Raton, FL.

Sprague, J. B. 1969. Measurement of pollutant toxicity to fish I. Bioassay methods for acute toxicity. *Water Research* 3: 793-821.

StatSoft, Inc. 2001. STATISTICA (data analysis software system), Version 6.0.

The Mathworks, Inc., 1999. MATLAB, Version 5.3.

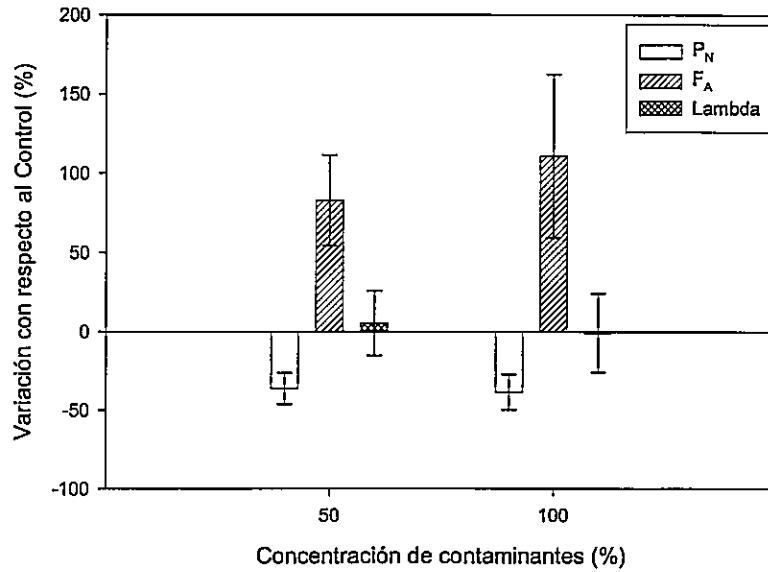
Universidad de Chile. 2005. Informe país: estado del medio ambiente en Chile. Instituto de Asuntos Públicos, Departamento de Políticas Públicas. PDF. 10 jul. 2007. <<http://www.inap.uchile.cl/politicaspUBLICAS/destacado49.html>>

US EPA Environmental Protection Agency (EPA). 1994. Methods for measuring the 10-Day chronic toxicity test using *Daphnia magna* or *Daphnia pulex*. SOP #2028.

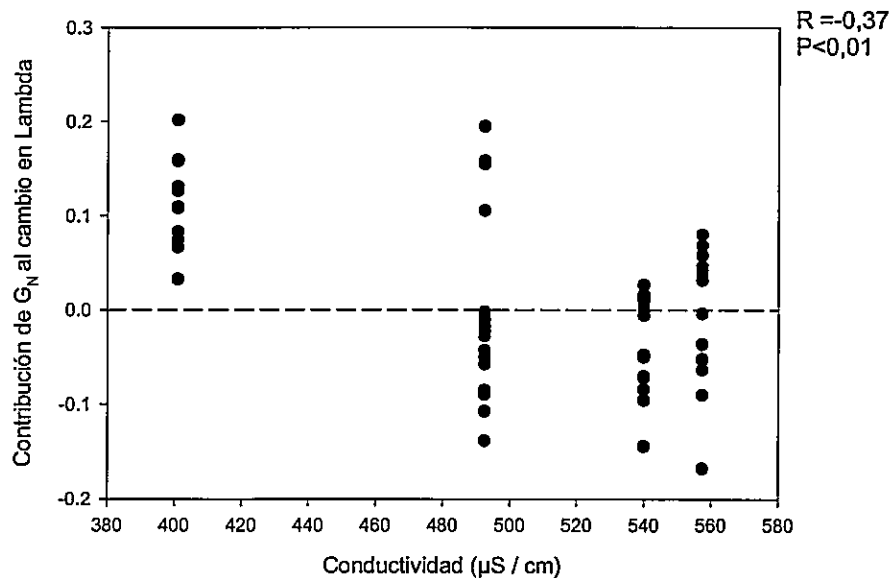
Wetzel, R. G. 2001. Limnology. Lake and rivers ecosystems. Third edition, pp 13-14. San Diego: Academic Press.

Wood, S. N. 1994. Obtaining birth and mortality patterns from structured population trajectories. *Ecological Monographs* **64**: 23-44.

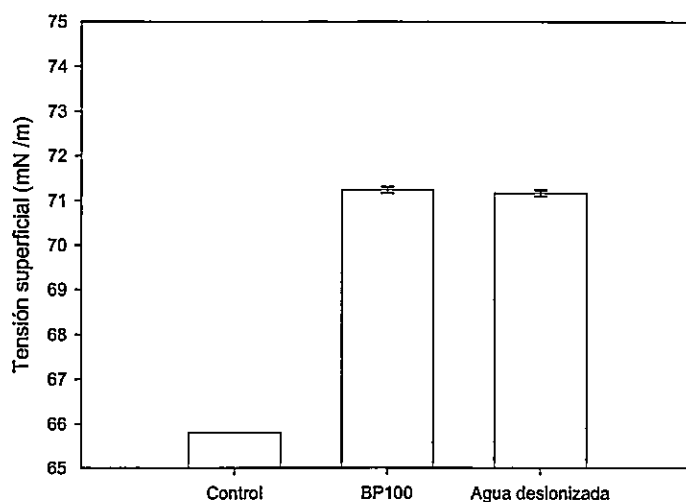
## APENDICE



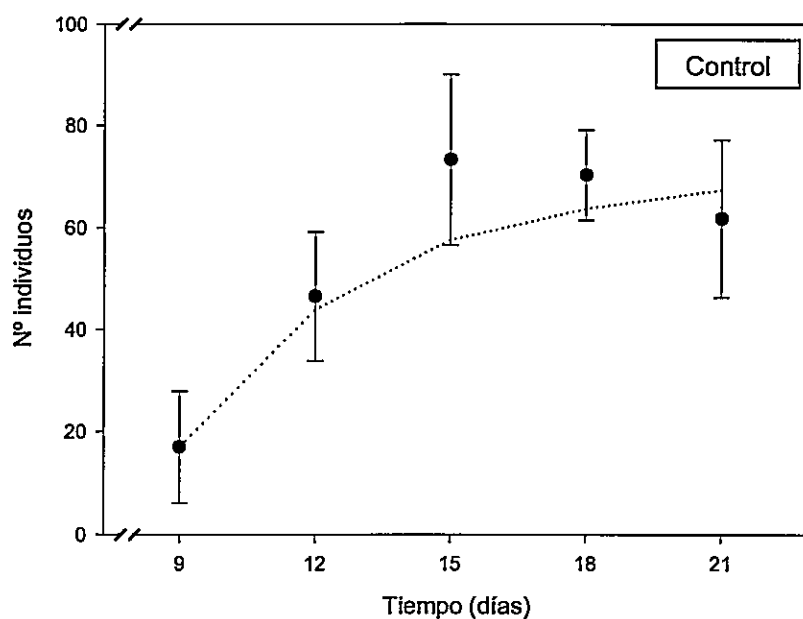
**Figura 8A.** Respuesta de las tasas  $P_N$ ,  $F_A$  y lambda frente al aumento en la concentración de los contaminantes (tratamientos AP50 y AP100). La respuesta esta medida como la variación porcentual de cada tasa con respecto al valor obtenido en el control.



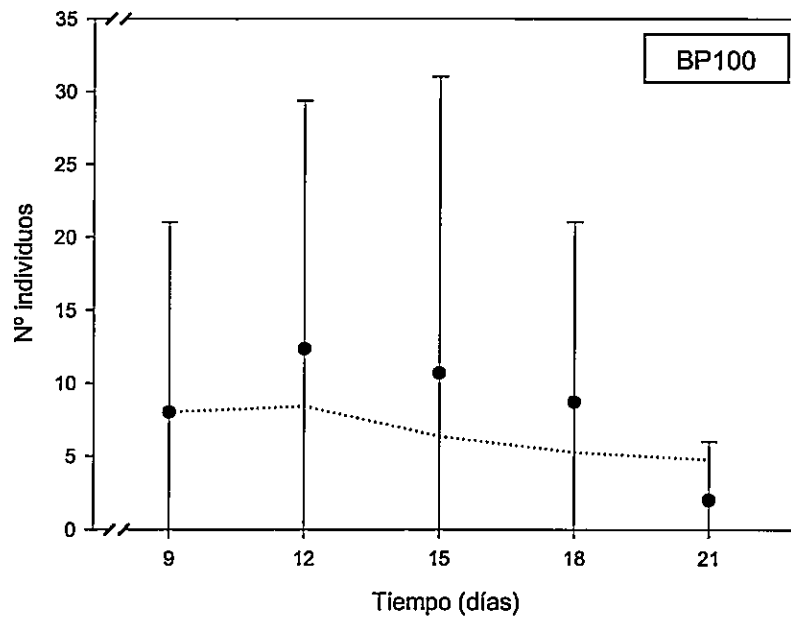
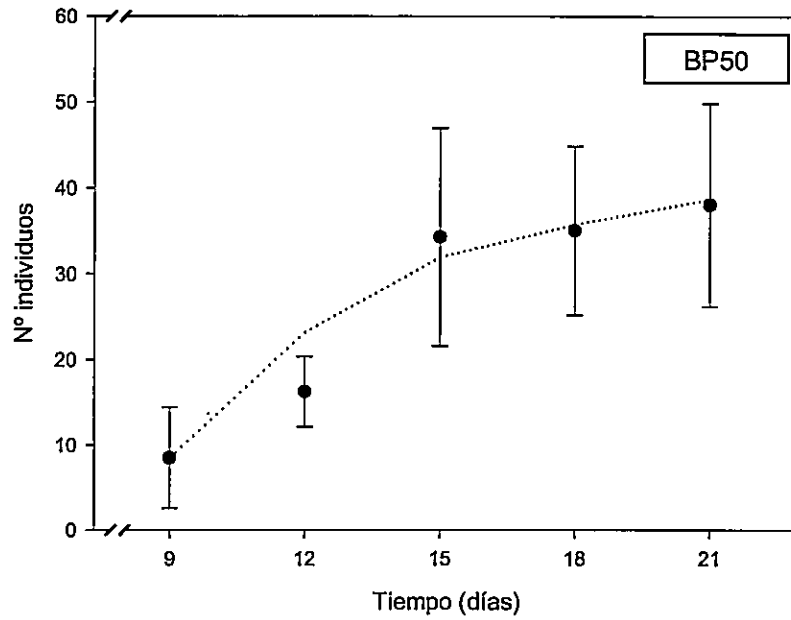
**Figura 9A.** Relación entre las contribuciones de  $G_N$  y la conductividad eléctrica. Las mediciones fueron realizadas en las diluciones hechas a partir de las aguas de los distintos tratamientos y el agua Control. La conductividad eléctrica se midió en un equipo HACH Company, CO150 Conductivity Meter Model 50150.



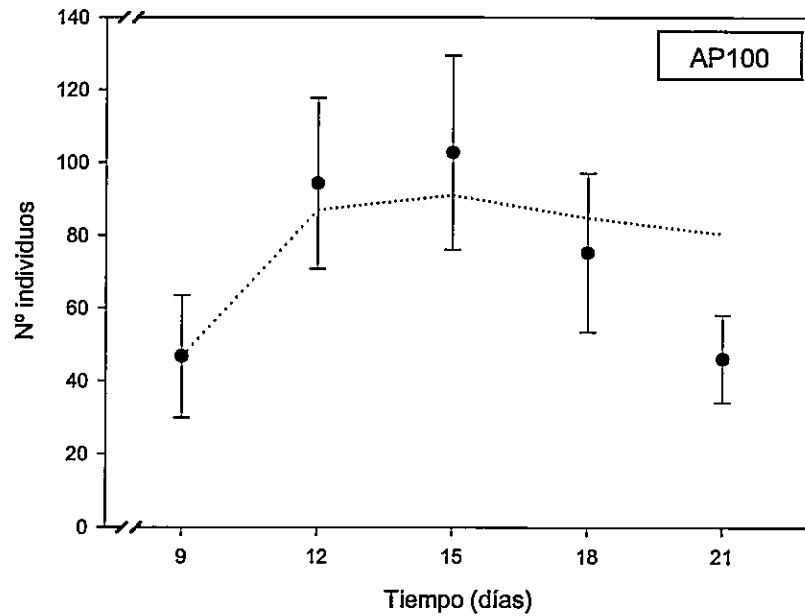
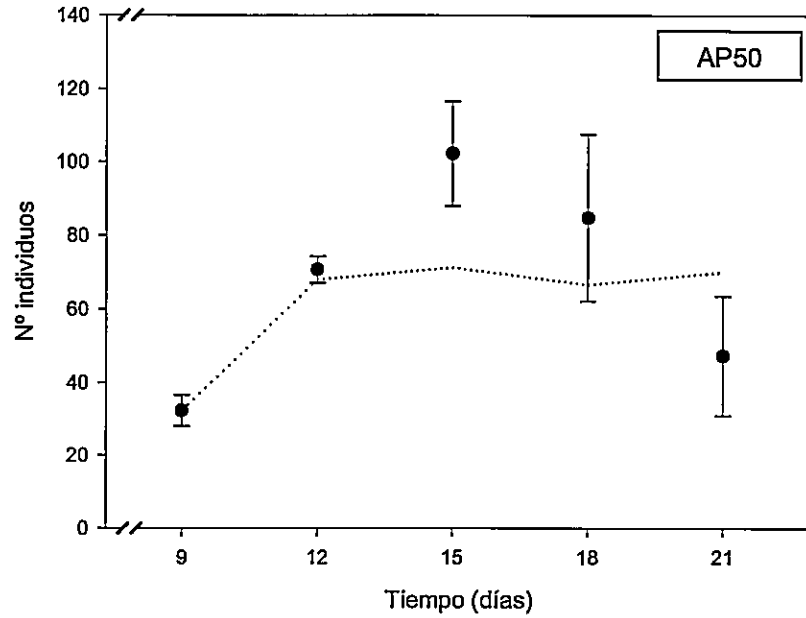
**Figura 10A.** Valores de tensión superficial medidos en el agua utilizada como Control, en el agua del tratamiento de Baja Perturbación al 100% y en agua desionizada. Las barras representan  $\pm 2$  errores estándar. Para medir la tensión superficial se utilizó el método de du Noüy (du Noüy 1925) en un tensómetro interfacial Kruss K8, a una temperatura de 20°C.



**Figura 11A.** Comparación de los datos observados (círculos) y proyectados (línea discontinua) para la población Control. Los valores observados son el promedio de cuatro replicas y las barras representan  $\pm 2$  errores estándar.



**Figura 12A.** Comparación de los datos observados (círculos) y la proyección (línea discontinua) para los tratamientos de baja perturbación antrópica. Los valores observados son el promedio de cuatro replicas y las barras representan  $\pm 2$  errores estándar.



**Figura 13A.** Comparación de los datos observados (círculos) y la proyección (línea discontinua) para los tratamientos de alta perturbación antrópica. Los valores observados son el promedio de cuatro replicas y las barras representan  $\pm 2$  errores estándar.