

03096



POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGIA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



“EFECTO DE LA INTERACCION DEL PLOMO Y LA  
TURBIDEZ DEL MEDIO SOBRE LA DINAMICA  
POBLACIONAL DE *Alona rectangularis*, *Diaphanosoma birgei* y  
*Moina micrura* (Cladocera)”.

**T E S I S**

PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS  
(LIMNOLOGO)**

**P R E S E N T A :**

**GERARDO GARCIA GARCIA**

DIRECTOR DE TESIS: DRA. NANDINI SARMA

COMITE TUTORAL: DRA. MA. ESTHER DE LA ROSA DUQUE

DR. ALFONSO LUGO VAZQUEZ

DRA. RUTH CECILIA VANEGAS PEREZ

DR. MARTIN G. FRIAS ESPERICUETA

CIUDAD UNIVERSITARIA, D. F.

2005

m. 34 2240



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## AGRADECIMIENTOS:

A mis Papas José García Mota y Juanita García Facio con todo mi amor, por todo el apoyo que me han brindado durante toda mi vida, y sin su ayuda, nunca hubiera logrado llegar hasta este punto en mi carrera y mi vida, los amo mucho por todo lo que me enseñaron y por los valores que me inculcaron.

A la Dra. Nandini Sarma por su excelentísima ayuda en la realización de este trabajo, y porque me ha ayudado a crecer como investigador y como persona, ya que se entrega por completo a sus alumnos y los ayuda a completar sus metas.

Para la Dra. Cecilia Vanegas por sus acertados consejos y asesoramiento durante la realización de este trabajo.

Para la Dra. Ma. Esther de la Rosa Duque, al Dr. Alfonso Lugo Vázquez, y al Dr. Martín G. Frias Espericueta, por sus valiosos comentarios y por su apoyo académico.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.  
NOMBRE: Gerardo García García  
FECHA: 28 de Marzo del 2005  
FIRMA: [Firma]

# I. ÍNDICE

I. ÍNDICE .....	1
II. ÍNDICE DE GRÁFICAS Y TABLAS .....	3
III. RESUMEN .....	5
1. INTRODUCCIÓN .....	6
2. ANTECEDENTES .....	11
3. JUSTIFICACIÓN .....	16
4. OBJETIVOS .....	18
5. HIPÓTESIS .....	18
6. MATERIALES Y MÉTODOS .....	19
6.1 PREPARACIÓN DE SEDIMENTOS .....	19
6.1.2 ANÁLISIS DE SEDIMENTOS .....	20
6.2 PRUEBAS TOXICOLÓGICAS .....	21
6.2.1 TOXICIDAD AGUDA .....	21
6.2.2 TOXICIDAD CRÓNICA .....	22
6.2.2.1 CRECIMIENTO POBLACIONAL .....	22
6.2.2.2 TABLA DE VIDA .....	23
7. RESULTADOS .....	26
7.1 ANÁLISIS DE SEDIMENTOS .....	26
7.2 PRUEBAS TOXICOLÓGICAS .....	27
7.2.1 TOXICIDAD AGUDA .....	27
7.2.2 TOXICIDAD CRÓNICA .....	28
7.2.2.1 CRECIMIENTO POBLACIONAL .....	28
7.2.2.2 TABLA DE VIDA .....	39
8. DISCUSIÓN .....	60
8.1 ANÁLISIS DE SEDIMENTOS .....	60
8.2 PRUEBAS TOXICOLÓGICAS .....	61

8.2.1 TOXICIDAD AGUDA .....	61
8.2.2 TOXICIDAD CRÓNICA .....	62
8.2.2.1 CRECIMIENTO POBLACIONAL .....	62
8.2.2.2 TABLA DE VIDA .....	66
9. CONCLUSIONES .....	70
10. BIBLIOGRAFÍA .....	71
11. ANEXO 1- Medio Bold Basal .....	79
12. ANEXO 2- Concentración real de plomo .....	80
13. ANEXO 4- Presentaciones en congresos derivadas del presente trabajo .....	81
14. ANEXO 5- Artículo Publicado en revista Internacional .....	82

## II. ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Tabla 1- Niveles de metales en muestras diversas .....	7
Tabla 2 - Límite permisible del plomo disuelto en cuerpos de agua .....	8
Tabla 3- Correlación entre $\text{mg L}^{-1}$ , Absorbancia y NTU .....	23
Tabla 4- Promedios de las mediciones obtenidas con el turbidímetro después de 0, 0.5, 1, 2, 4, 8 y 24h .....	27
Tabla 5- ANOVAS de las tasas de crecimiento de <i>Alona rectangular</i> , <i>Diaphanosoma birgei</i> y <i>Moina micrura</i> .....	35
Tabla 6- ANOVAS de tabla de vida de <i>Alona rectangular</i> .....	45
Tabla 7- ANOVAS de tabla de vida de <i>Diaphanosoma birgei</i> .....	46
Tabla 8- ANOVAS de tabla de vida de <i>Moina micrura</i> .....	47
Fig. 1- Crecimiento poblacional de <i>Alona rectangular</i> .....	30
Fig. 2- Crecimiento poblacional de <i>Diaphanosoma birgei</i> .....	32
Fig. 3- Crecimiento poblacional de <i>Moina micrura</i> .....	34
Fig. 4- Tasa de crecimiento “r” de <i>Alona rectangular</i> , <i>Diaphanosoma birgei</i> y <i>Moina micrura</i> .....	38
Fig. 5- Supervivencia de <i>Alona rectangular</i> .....	39
Fig. 6- Fecundidad de <i>Alona rectangular</i> .....	40
Fig. 7- Supervivencia de <i>Diaphanosoma birgei</i> .....	41
Fig. 8- Fecundidad de <i>Diaphanosoma birgei</i> .....	42
Fig. 9- Supervivencia de <i>Moina micrura</i> .....	43
Fig. 10- Fecundidad de <i>Moina micrura</i> .....	44
Fig. 11- Promedio de vida de <i>Alona rectangular</i> , <i>Diaphanosoma birgei</i> y <i>Moina micrura</i> .....	49
Fig. 12- Esperanza de vida de <i>Alona rectangular</i> , <i>Diaphanosoma birgei</i> y <i>Moina micrura</i> .....	51

Fig. 13- Tasa de reproducción bruta de <i>Alona rectangular</i> , <i>Diaphanosoma birgei</i> y <i>Moina micrura</i> .....	53
Fig. 14- Tasa de reproducción neta de <i>Alona rectangular</i> , <i>Diaphanosoma birgei</i> y <i>Moina micrura</i> .....	55
Fig. 15- Tiempo generacional de <i>Alona rectangular</i> , <i>Diaphanosoma birgei</i> y <i>Moina micrura</i> .....	57
Fig. 16- Tasa de incremento poblacional de <i>Alona rectangular</i> , <i>Diaphanosoma birgei</i> y <i>Moina micrura</i> .....	59

### III. RESUMEN

Debido a las cargas que poseen en su superficie los sedimentos actúan como excelentes receptores de metales, y al ser ingeridos los sólidos en suspensión por los cladóceros, pueden ocasionar que los iones metálicos se mantengan disponibles para dichos organismos. También se ha observado que los sólidos en suspensión *per se*, pueden causar un decremento en las tasas de ingestión en los cladóceros. Así, los sedimentos en suspensión y la presencia de metales pueden afectar adversamente a dichos organismos, y además presentar un efecto sinérgico. Los cladóceros pelágicos (ej. *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura*), se encuentran distribuidos a través de la columna de agua, a diferencia de las especies litorales (ej. *Alona rectangula*), las cuales realizan sus vidas estrechamente ligadas al fondo de los cuerpos de agua, por lo que se encuentran en contacto más directo con los metales debido a la tendencia de los agentes tóxicos a sedimentarse. En el presente estudio se planteó el objetivo de analizar el efecto de la interacción del plomo y los sedimentos en suspensión (ss) sobre la dinámica poblacional de *A. rectangula*, *D. birgei* y *M. micrura*, por medio de bioensayos de toxicidad aguda y crónica. En las pruebas de toxicidad aguda, se obtuvieron las CL<sub>50</sub> 24h, usando nueve niveles nominales de cloruro de plomo para cada especie (0, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> para *A. rectangula*; 0, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5 y 5.5 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> para *D. birgei*; y 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> para *M. micrura*), con cuatro replicas para cada concentración. En las pruebas de toxicidad crónica, los experimentos de dinámica poblacional y tabla de vida, fueron realizados para cada especie con dos niveles reales de turbidez (32 mg L<sup>-1</sup> y 277 mg L<sup>-1</sup>) y un testigo (sin sólidos suspendidos). En cada nivel de turbidez se evaluaron cinco concentraciones de cloruro de plomo (0.044, 0.089, 0.178, 0.355, 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> para *A. rectangula* y 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> para *D. birgei* y *M. micrura*) y se consideró un testigo (sin adición del metal), con cuatro replicas para cada tratamiento. En los bioensayos de toxicidad aguda se encontró una CL<sub>50</sub> 24h para *A. rectangula* de 7.06 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> ± ES 0.39, de 3.16 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> ± ES 0.25 para *D. birgei* y de 3.24 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> ± ES 0.69 para *M. micrura*, donde la especie litoral fue más resistente a la exposición al plomo que las especies planctónicas. En las pruebas de toxicidad crónica, al analizar la dinámica poblacional de las especies, se obtuvieron intervalos en las tasas de crecimiento poblacional (r) de 0.0175 a 0.1270 para *A. rectangula*, de -0.1418 a 0.1236 para *D. birgei* y de 0.0343 a 0.2979 para *M. micrura*, siendo esta última la especie con las tasas de crecimiento más altas. En las tablas de vida, se obtuvieron intervalos en el promedio de vida de 3.5 a 19.2 días en *A. rectangula*, de 2.3 a 14.4 días en *D. birgei* y de 4.5 a 11.2 días para *M. micrura*, y tasas de reproducción bruta de 1.1 a 20, de 0 a 13.1 y 2.3 a 28, respectivamente, encontrándose para *M. micrura* el ciclo de vida más corto y la reproducción bruta más alta. Los valores más altos de los parámetros antes mencionados, fueron obtenidos en el tratamiento con la mayor concentración de sólidos suspendidos (277 mg L<sup>-1</sup>), condición en la cual los organismos fueron capaces de resistir las concentraciones más altas de cloruro de plomo, mostrando incluso un comportamiento muy similar al grupo testigo con 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos. De las especies estudiadas, *A. rectangula* (organismo litoral), fue más resistente a la exposición aguda al PbCl<sub>2</sub>. Los resultados obtenidos permiten asegurar que la presencia de ss promueve el crecimiento poblacional de las especies y reduce a la vez el efecto tóxico del plomo.

# 1. INTRODUCCIÓN

Los cuerpos de agua Mexicanos son generalmente turbios con sedimentos suspendidos, esto es ocasionado por las características que predominan en la zona tropical, como son principalmente la irradianza, la temperatura del agua y la mezcla ocasionada por el viento (Lewis, 1996). Además los lagos, presas y microembalses epicontinentales reflejan los procesos que ocurren en su cuenca debido a la erosión de los suelos, originada por las precipitaciones fluviales, lo cual ocasiona el transporte de materia orgánica e inorgánica (sólidos suspendidos) y el acarreo de fertilizantes y plaguicidas aplicados a los cultivos agrícolas hacia los cuerpos de agua más cercanos (Arruda *et al.*, 1983; De la Lanza y García, 2002).

Durante las últimas décadas los problemas de contaminación del agua han recibido una mayor atención tanto en los países industrializados como en los que están en desarrollo (Baudo, 1987). Entre los contaminantes acuáticos más importantes se encuentran los metales (Fargasova, 1994), ya que las descargas de dichos materiales provenientes de las industrias representan un serio problema de contaminación del agua, ocasionado por las propiedades tóxicas de los metales (Cañizares-Villanueva *et al.*, 2000).

Algunos metales como magnesio, hierro, cobre, zinc y cadmio (este último solo en ciertas diatomeas marinas y algunas bacterias) son micronutrientes esenciales, pero otros como el mercurio y plomo no son requeridos por ningún organismo (Chen y McNaught, 1992; Laws, 2000; Lane y Morel, 2000; Zou, 1997). Dichos iones metálicos suelen penetrar a la célula a través de los mismos sistemas de captación que utilizan los iones metálicos fisiológicamente importantes como son el Ca, Mg, Cu y Zn (Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999). Por lo anterior y por su extrema toxicidad, el mercurio (Hg), el cadmio (Cd) y el plomo (Pb) son considerados como los tres iones metálicos más peligrosos para la salud humana y para la contaminación acuática (Abel, 2000).

El plomo, después del zinc, es considerado el metal más abundante en la biósfera (Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999), como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 1- Niveles de metales en muestras diversas

Metal	Atmósfera de países De Europa y América (ng/m3)	Lagunas y ríos (ppm ó mg L <sup>-1</sup> )	océanos (mg L <sup>-1</sup> )	Suelos orgánicos y minerales (mg L <sup>-1</sup> )	Plantas (mg L <sup>-1</sup> )	Cenizas De bosque (mg L <sup>-1</sup> )	Fertilizantes Fosfatados (mg L <sup>-1</sup> )	Aguas negras municipales y residenciales (mg/Cápita/día)	Polvos residuales de incineraciones municipales mg L <sup>-1</sup>
Zinc	10 - 16000	2.5	8x10 <sup>-6</sup>	50 - 66	59 - 180	1450	50 - 1450	0.6 - 180	nd
Plomo	0.2 - 13000	>4	0.11	17 - 44	0.1 - 28	450	7 - 225	0.71 - 50	nd
Cobre	3 - 4900	2.2	1.5x10 <sup>-3</sup>	20 - 350	4 - 35	200	1 - 300	1.2 - 83	1700
Cromo	1 - 1100	Nd	nd	nd	0.4 - 3.2	nd	66 - 245	0.1 - 36	490
Cadmio	0.5 - 620	Nd	6x10 <sup>-3</sup>	0.2 - 0.9	0.4 - 2.7	8	7 - 170	0.05 - 7.3	1500
Níquel	1 - 120	2.2	2.1x10 <sup>-3</sup>	16 - 70	1 - 5	200	7 - 32	0.45 - 36	150
Arsénico	1.5 - 53	0.18	nd	nd	Nd	nd	2 - 1200	0.45	nd
Mercurio	0.01 - 11.2	0.09	nd	0.07 - 0.16	Nd	nd	0.01 - 0.12	0.03 - 3.8	nd

\*nd = no determinado.

Tomado de Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999.

El plomo se encuentra ampliamente distribuido en las rocas y suelos de la corteza terrestre, aunque las concentraciones más altas son solamente de 12-20 ppm. Este metal es extraído principalmente de depósitos de galena o de sulfato de plomo. Es utilizado principalmente en la producción de baterías, municiones, pesticidas, fertilizantes, soldaduras, cerámica, porcelana, curtiduría, pintura a base de plomo, pigmentos, vidrio y detergentes (Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999; Laws, 2000).

En aguas oceánicas no contaminadas, se puede encontrar plomo en concentraciones de 0.05 a 0.5 mg L<sup>-1</sup> y en aguas intercontinentales niveles de 0.001 a 0.015 mg L<sup>-1</sup> (De Filippis y Pallaghy, 1994). El límite del plomo disuelto permisible en cuerpos de agua, establecido por la EPA, para la protección de los organismos acuáticos en agua dulce y marina es el siguiente:

Tabla 2 - Límite permisible del plomo disuelto en cuerpos de agua.

Tipo de agua	Criterio de concentración Continua ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Criterio de concentración Máxima ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Marina	8.1	210
Dulce		
50 $\text{mg L}^{-1}$ $\text{CaCO}_3$	2	30
100 $\text{mg L}^{-1}$ $\text{CaCO}_3$	2.5	65
200 $\text{mg L}^{-1}$ $\text{CaCO}_3$	2.8	136

Tomado de EPA, 1999.

Los sedimentos de los cuerpos de agua, debido a las cargas negativas que poseen en su superficie, son excelentes receptores de metales, y mientras más finos son los sedimentos son mejores receptores de los mismos (De Gregori *et al.*, 1996). Además se ha observado que gran proporción de los metales que se disuelven en los cuerpos de agua, son adsorbidos rápidamente por los sedimentos y materia particulada, por ello se ha observado que la concentración de metales en los sedimentos de la desembocadura de los ríos que conllevan una carga de metales hacia el mar, puede llegar a ser de entre  $10^3$  a  $10^9$  más grande que los valores de concentración en la columna de agua de los ríos y del mar (De Gregori *et al.*, 1996; Laws, 2000).

Los sedimentos pueden actuar como fuente, sumidero y centro de reciclamiento para agentes tóxicos, porque bajo condiciones de acidez, los metales pueden lixiviarse de los sedimentos durante mucho tiempo después de que las descargas de contaminantes han sido detenidas, y de este modo, continúan contaminando la columna de agua (Laws, 2000). Por lo tanto el análisis de las concentraciones de metales en partículas en suspensión, en organismos acuáticos y en los sedimentos provee una información más completa, de la contaminación por metales que la misma medición de las concentraciones de metales disueltos en el agua (Laws, 2000). Es por lo anterior que los bioensayos de toxicidad en sedimentos han sido altamente recomendados y usados para conocer el grado de contaminación de los cuerpos de agua (Burton 1991; De Gregori *et al.*, 1996; Stemmer *et al.*, 1990).

Se ha observado que altas concentraciones de sedimentos pueden causar una gran reducción en las tasas de crecimiento poblacional de los cladóceros (Kirk y Gilbert, 1990), y que mientras más alta es la concentración del material en suspensión, más decrecen las tasas de ingestión. Los cladóceros no son capaces de procesar grandes volúmenes de partículas acumuladas en los apéndices torácicos, y el exceso de sedimentos, junto con las algas colectadas, son rechazados por el post-abdomen antes de la ingestión, previniendo así que se obture la boca. Elevados niveles de partículas en suspensión también ocasiona que disminuya el batido de los apéndices torácicos, los cuales son responsables de bombear agua a través del aparato de colección y por lo tanto, disminuye el volumen de agua filtrado reduciendo así la tasa de alimentación. Lo anterior ocasiona que disminuya el movimiento mandibular, provocando que las tasas de incorporación de alimento también disminuyan (Arruda *et al.*, 1983; Hart, 1988; Kirk, 1991<sup>a</sup> y 1991<sup>b</sup>).

En redes tróficas acuáticas algunos metales se acumulan progresivamente hasta alcanzar niveles tróficos superiores debido a un proceso que se denomina biomagnificación (Atwell *et al.*, 1998; Berglund *et al.*, 2000; Carlisle, 2000; Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999; Chen *et al.*, 2000). La importancia de los cladóceros en los cuerpos de agua radica principalmente en que forman parte importante de la red trófica, ya que forman el eslabón entre el fitoplancton, el cual es considerado la principal vía de acceso de los metales hacia niveles tróficos superiores (Montague y Montague, 1971), y los organismos planctívoros (Dodson y Frey, 1991; Zou, 1997).

Actualmente existe amplia información de los cladóceros en diversos aspectos tales como características anatómicas externas e internas y morfología funcional (Black y Slobodkin, 1987; Dodson, 1989; Jacobs, 1987), fisiología (Lampert, 1987<sup>b</sup>; Peters, 1987;), adaptaciones fisiológicas (Engle, 1985; Lynch, 1989; Tessier y Goulden, 1987), ciclo de vida (Dodson, 1989; Frey, 1988; Hebert, 1988), distribución (Dumont, 1987; Petrusek, 2002; Sampaio, 2002), comportamiento ecológico y relaciones ecológicas (Dodson, 1988; Kokkinn y Williams, 1987; Lampert, 1987<sup>a</sup>; Ringelberg, 1987), regulación de la población (Dodson, 1989; Gabriel *et al.*, 1987; Taylor, 1988; Threlkeld, 1987), rol funcional en el ecosistema y acuicultura (Carpenter, 1988; Edmonson, 1987; Fretwell, 1987; McQueen,

1986), especiación y evolución (Kammenga y Laskowski, 2000; Negrea *et al.*, 1999; Sacherová y Hebert, 2003) y ecotoxicología (De Boer *et al.*, 2002; Fargasova, 1994; García *et al.*, 2004; Kammenga y Laskowski, 2000; Klerks y Lentz, 1998; Mangas-Ramírez *et al.*, 2002; Pereira *et al.*, 2000) entre otros. Toda esta información disponible hace que sea posible comparar su comportamiento en situaciones normales y bajo algún tipo de estrés.

Los cladóceros son pequeños crustáceos ampliamente distribuidos (Hutchinson, 1967; Dodson y Frey, 1991) con una longitud entre 0.2 y 3.5mm, los cuales han sido usados para bioensayos desde hace 50 años (Baudo, 1987; Dodson y Frey, 1991). Este grupo ha sido usado ampliamente en estudios de toxicidad aguda y crónica, como organismos de prueba para cuantificar el efecto tóxico de efluentes, de solo un compuesto (Khangarot y Ray, 1989) y de mezclas complejas (Enserink *et al.*, 1982). Además ha sido considerado un excelente organismo de prueba para el análisis de la calidad del agua de los efluentes que reciben los ecosistemas acuáticos (EPA, 1991).

El realizar estudios toxicológicos con cladóceros representa muchas ventajas, ya que las pruebas con estos organismos son rápidas debido a diversas características: su ciclo de vida es muy corto (de 15 días en algunas especies), su madurez sexual ocurre en un tiempo muy corto, su tamaño es pequeño, son muy económicos de mantener, tienen una amplia distribución, poseen una alta importancia ecológica, su reproducción es principalmente por partenogénesis por lo que se obtienen organismos con muy poca diferencia genética entre la población y finalmente son sensibles a la contaminación (Elnabarawy *et al.*, 1986; Zou, 1997).

## 2. ANTECEDENTES

Diversos trabajos han sido realizados con sedimentos contaminados con metales, pero por ser sedimentos de ríos, presentan tamaños de partícula muy grandes, y no son capaces de mantenerse en la columna de agua como sólidos en suspensión. Dichos sedimentos, solo son utilizados en los bioensayos como una fuente de metales para el medio (por la capacidad de los sedimentos para adsorber metales en su superficie y posteriormente liberarlos al medio), por lo que no se toma en cuenta el estrés causado por el material en suspensión (De Boer *et al.*, 2002; Dekker, 2002; Pereira *et al.*, 2000).

De Boer *et al.* (2002) trabajaron con varios metales (cadmio, cromo, cobre, mercurio, plomo, níquel, zinc y arsénico) pesticidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH's), difeniles policlorinados y aceites minerales, utilizando a *Daphnia magna*, *Chironomus riparius* y *Vibrio fischeri* como organismos de prueba. Los autores resaltan que es importante conocer la biodisponibilidad de los contaminantes en los sedimentos, ya que generalmente solo se conoce la concentración total de los contaminantes en sedimentos, y no todos los contaminantes presentes están biodisponibles para los organismos. Concluyen que los bioensayos son muy útiles para la evaluación de la toxicidad de los sedimentos, pero que es necesario realizar más trabajos para conocer las causas de la alta variabilidad de dichos bioensayos, la cual puede ser debida a combinaciones complejas de contaminantes, incluyendo compuestos desconocidos tal como productos de degradación, lo cual juega un importante rol en la toxicidad observada.

Dekker (2002) probó el efecto de sedimentos (detrito natural) contaminados con cadmio, sobre varios parámetros de la historia de vida del cladóceros *Chydorus piger*, hallando que la longevidad disminuyó considerablemente de 112 a 20 días en las poblaciones que estuvieron expuestas al agente tóxico. Él encontró que *C. piger* es más sensible al cadmio que *Daphnia* y *Hyalella*, y debido a que en la naturaleza se encuentra una mayor concentración de metales en los detritos que en la columna de agua, este puede ser un mejor organismo de prueba dados sus hábitos bentónicos y estar en contacto más directo con los agentes tóxicos, y por consiguiente, obtener información más directa acerca del efecto ecológico del cadmio y otros posibles tóxicos depositados en el sedimento.

Pereira *et al.* (2000) realizaron estudios *in situ* y en condiciones controladas (laboratorio), analizando muestras de la columna de agua y de sedimento contaminadas por metales, de un sistema acuático localizado en el sureste de Portugal, usando *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia dubia* como organismos de prueba. Los autores encontraron que en las pruebas con muestras de la columna de agua no se observó ninguna toxicidad; por el contrario, en los de sedimento, en especial *in situ*, se observó un retraso en la reproducción y una disminución en la fertilidad. Además observaron que es muy importante realizar estudios tanto *in situ* como en laboratorio, ya que en el laboratorio no se tienen fluctuaciones de los parámetros fisicoquímicos y de las concentraciones de los metales, y por otra parte, los estudios *in situ* son muy difíciles de interpretar, debido a todas las variaciones en las condiciones asociadas con la exposición de los organismos en el campo, por lo que ambos estudios se pueden complementar.

Gonzalez *et al.* (1998) realizaron un estudio sobre cadmio y plomo, en una cadena alimentaria marina, encontrando que los organismos detritófagos son importantes en la incorporación de los metales a niveles más altos de la red trófica, porque dichos organismos filtran los sedimentos en busca de su alimento, y como los sedimentos son la principal fuente de metales en el agua de mar, la ingestión de la materia particulada y los sedimentos ocasiona que los metales se acumulen en las branquias y en el estómago de dichos individuos. Estos organismos a su vez al ser ingeridos por otros organismos ocasionan que los metales sean transferidos a niveles superiores de la red trófica, causando biomagnificación.

Diversos estudios han abordado a su vez la alteración de la dinámica poblacional de los cladóceros, por efecto de los sólidos suspendidos.

Nurminen *et al.* (2001) realizaron un estudio en el lago Hiidenvesi, ubicado en el sur de Finlandia, acerca del desarrollo estacional de los cladóceros en lagos turbios y su relación con el ciclo de las macrofitas emergentes, las cuales presentan una disminución en la biomasa cuando el agua es turbia; esta reducción ocasiona que disminuya la biomasa del

zooplancton, debido a que al no existir las macrofitas disminuye la disponibilidad de refugio para el mismo y los depredadores los pueden consumir más fácilmente. De tal forma que posiblemente en la naturaleza, los sedimentos *per se* no son los que ocasionan directamente la disminución del zooplancton durante los cambios estacionales de lagos turbios.

Kirk y Gilbert (1990) observaron los efectos directos e indirectos de arcillas en suspensión, sobre la dinámica poblacional de 4 especies de cladóceros (*Bosmina longirostris*, *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia ambigua*, y *Daphnia pulex*) y 5 de rotíferos (*Brachionus calyciflorus*, *Keratella cochlearis*, *Keratella crassa*, *Polyarthra vulgaris* y *Synchaeta pectinata*), colectados de lagos y estanques sin turbidez, por lo que posiblemente, no poseían las adaptaciones a este tipo de sistemas acuáticos. Encontraron que altas concentraciones de arcillas gruesas ( $< 2\mu$ ), las cuales son encontradas naturalmente en un intervalo de 50-100 mg L<sup>-1</sup>, causan una reducción en la tasa de crecimiento poblacional de todas las especies de cladóceros. Por otra parte, en bajas concentraciones (10 mg L<sup>-1</sup>) de arcillas gruesas y altas concentraciones de arcillas finas ( $< 1\mu$ ), las poblaciones no se modificaron, posiblemente porque los cladóceros no son eficientes alimentándose de tamaños de partícula menores a 0.5 $\mu$ , (lo que ocasiona que los cladóceros no colecten o ingieran estas partículas) de tal forma que no se ven afectados por la presencia de las mismas y las tasas de ingestión de algas no disminuyen. Además, observaron que, incluso a veces se incrementaron las tasas de crecimiento poblacional en presencia de sólidos en suspensión, tal vez debido a que los sedimentos adsorben la materia orgánica presente, haciéndola disponible para su asimilación por los cladóceros, siendo esto una fuente importante de energía adicional. En el caso de los rotíferos, solo una especie fue afectada por las arcillas gruesas (*K. crassa*), pero en todos los demás casos no se observó un efecto negativo de las mismas, debido quizás a que dichos organismos tienen la capacidad de seleccionar las partículas de alimento, y por eso pueden ser menos susceptibles a los efectos de los sólidos en suspensión.

Kirk (1991<sup>a</sup>) estudió la reducción de la tasa de alimentación de *Daphnia ambigua* y el comportamiento alimentario de *Daphnia pulex*. El encuentra que el efecto inhibitorio de

los sólidos suspendidos sobre la tasa de alimentación de *D. ambigua*, fue mayor mientras menores fueron las concentraciones de alimento. En el caso de las observaciones del comportamiento alimenticio de *D. pulex* en presencia de las arcillas en suspensión, se demostró que la presencia de concentraciones de sólidos suspendidos en concentraciones de  $\geq$  a  $50 \text{ mg L}^{-1}$ , aumentaban la frecuencia de eliminación post-abdominal del alimento de los apéndices alimenticios, causando que el exceso de partículas junto con las algas colectadas, fueran rechazadas antes de la ingestión. Esto también ocasiona una disminución en el batido de los apéndices alimenticios, disminuyendo el volumen de agua en el que se buscaban partículas de alimento, y debido a esto, decrecían las tasas de ingestión y las tasas de incorporación de alimento.

Scholtz *et al.* (1988) probaron el efecto de la turbidez sobre los parámetros de la historia de vida de dos especies de daphnidos, las cuales presentan sucesión estacional. *Daphnia pulex* como representante de cuerpos de agua sin la presencia de sólidos suspendidos y *Daphnia barbata* como representante de cuerpos de agua generalmente turbios. Estos organismos fueron expuestos a 9 concentraciones de sólidos suspendidos (0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 y  $128 \text{ mg L}^{-1}$ ), encontrando que no existían diferencias muy altas entre los parámetros de la historia de vida de ambas especies, por lo que es posible que la disminución en las poblaciones de *D. pulex* sea debida a la depredación por peces, los cuales no son encontrados en invierno, que es cuando el agua de los lagos se encuentra generalmente sin sólidos suspendidos. Por el contrario en la primavera disminuyen las poblaciones de *D. pulex*, por la presencia de los depredadores y no por la presencia de turbidez alta, porque en esta época son mucho más visibles que *D. barbata* y posiblemente por ello sus poblaciones disminuyen y las de *D. barbata* aumentan.

Hart (1988) estudió las tasas de alimentación de tres especies de daphnidos (*D. gibba*, *D. barbata* y *D. longispina*), una especie de moinido (*M. brachiata*) y una especie de copépodo (*Metadiaptomus meridianus*), en relación con la concentración de sedimentos suspendidos y su influencia potencial en la estructura de la comunidad. Encontrando que la tasa de alimentación del zooplancton en general declina cuando aumenta la turbidez del medio. Por otra parte, observó que la reducción de las tasas de alimentación era cerca de

tres veces más grande en los daphnidos que en los copépodos, esto es explicado, ya que los copépodos son filtradores selectivos. Sin embargo, no se observa lo mismo para *Moina brachiata* la cual es una especie de cladóceros, los cuales no son considerados filtradores selectivos, no obstante, presentaron una resistencia incluso mayor que los copépodos a las concentraciones más altas de turbidez, por lo que existe una situación más compleja que una simple dicotomía copépodo/cladóceros, en cuanto a la capacidad competitiva del zooplancton.

Arruda *et al.* (1983) utilizaron tres daphnidos, *Daphnia pulex*, *Daphnia parvula* y *Daphnia similis*, para demostrar el papel potencial de los sedimentos suspendidos en la nutrición de los cladóceros. Encontrando que al aumentar la concentración de los sólidos en suspensión de 0 a 2451 mg L<sup>-1</sup>, decrecía la tasa de ingestión de *Chlorella vulgaris* hasta en un 95 % y decrecía también la tasa de incorporación hasta un 99 %, porque los cladóceros no son filtradores selectivos e ingieren indiscriminadamente algas y sólidos en suspensión, y la cantidad de algas ingeridas disminuye. Por otra parte, encontraron que concentraciones de 50 a 100 mg L<sup>-1</sup>, reducían la ingestión de carbono hasta niveles potenciales de inanición, debido a la reducción de la disponibilidad de alimento en presencia de sólidos en suspensión.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Los cuerpos de agua mexicanos son generalmente turbios, con presencia de sedimentos en suspensión. La mayoría de los ríos y lagos se encuentran contaminados por estar rodeados de asentamientos humanos, de campos de cultivo e industrias (principalmente curtiduría, galvanoplastia y minería); Los aportes de compuestos tóxicos incluyen pesticidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH's), difeniles policlorinados, aceites minerales, fertilizantes, detergentes, así como metales. En México se han realizado pocos estudios con el fin de evaluar la toxicidad de los metales para la biota, así como para conocer las concentraciones presentes en los cuerpos de agua (Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999). Algunos de los ríos ubicados en zonas industriales y refinerías que se han estudiado son el río Coatzacoalcos, río Pánuco, río Blanco, río Amuzac y el río Lerma. En la mayoría de estos ríos, los valores de Pb, Cr y Hg rebasan los límites permisibles establecidos por la EPA (Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999). Se eligió el plomo porque se ha observado que es uno de los metales más abundantes en la biosfera, ocasionado por actividades relacionadas con la actividad humana, además existen muy pocos trabajos de toxicología acuática y ecotoxicología realizados con dicho metal.

Los bioensayos de toxicidad regularmente son realizados con especies planctónicas como *Daphnia magna* (Elnabarawy *et al.*, 1986; Stemmer *et al.*, 1990; Fargasova, 1994; Cañizares-Villanueva *et al.*, 2000), especie que no se distribuye en la República Mexicana. En el presente estudio se proponen tres especies, las cuales se encuentran distribuidas en nuestro país y más ampliamente distribuidas alrededor del mundo. Estas especies comprenden 2 ordenes: Ctenópoda y Anomópoda, y tres familias: Sididae (*Diaphanosoma birgei*), Chydoridae (*Alona rectangula*) y Moinidae (*Moina micrura*) (Negrea *et al.* 1999). Dentro de los organismos mencionados se encuentra una especie litoral (*A. rectangula*), propuesta porque existen muy pocos trabajos realizados en cuanto a bioensayos de toxicidad con organismos litorales. Las especies litorales, más diversas que las pelágicas, se encuentran en contacto más directo con los agentes tóxicos ya que estos organismos desarrollan sus vidas en el fondo de los cuerpos de agua, donde se depositan la mayoría de los tóxicos, debido a su tendencia de adherirse y sedimentarse junto con las partículas de

materia orgánica e inorgánica (Selby *et al.*, 1985; Boston *et al.*, 1991; De Gregori *et al.*, 1996; Sibley *et al.*, 1997; Day *et al.*, 1998; Laws, 2000).

Se proponen a su vez dos especies planctónicas (*M. micrura* y *D. birgei*), las cuales son representantes de cuerpos de agua turbios, como los que predominan en nuestro país. Además pueden ser empleados para bioensayos de toxicidad, ya que presentan sensibilidades similares a las de *Daphnia magna* y poseen ciclos de vida más cortos, lo que representa un menor tiempo para obtener resultados.

De tal manera, el presente estudio se planteó con el propósito de evaluar el estrés ocasionado tanto por el efecto aislado como la interacción de partículas en suspensión y de la presencia de un metal (plomo) sobre especies de cladóceros de cuerpos de agua mexicanos, estudios que no han sido previamente abordados.

## 4. OBJETIVO GENERAL

Analizar la interacción del plomo y la turbidez sobre la dinámica poblacional de *Alona rectangular* (especie litoral), *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura* (especies planctónicas).

## OBJETIVOS PARTICULARES

Determinar el efecto de la exposición aguda al plomo sobre *Alona rectangular*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura* mediante la determinación de la concentración letal media (CL50 - 24h).

Evaluar en estudios crónicos el efecto aislado de los sólidos suspendidos y de la exposición subletal al plomo sobre el crecimiento poblacional y la tabla de vida de *Alona rectangular*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura*.

Valorar el efecto de la interacción de la exposición crónica subletal del plomo y la turbidez del medio sobre el crecimiento poblacional y la tabla de vida de *Alona rectangular*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura*.

## 5. HIPÓTESIS

Los cuerpos de agua mexicanos generalmente presentan sedimentos en suspensión. A su vez la mayoría de los ríos y lagos se encuentran contaminados por metales, debido a los aportes de asentamientos humanos, actividades agrícolas e industriales (principalmente curtiduría, galvanoplastia y minería). Así mismo, los sedimentos, al mantener adheridos a los metales y posteriormente ser ingeridos por los organismos filtradores, podrían constituir una ruta importante de incorporación de los iones metálicos y de tal manera afectar a la población. Bajo estas condiciones se espera encontrar en los cladóceros una interacción adversa de los sedimentos en suspensión y la presencia de metales sobre la dinámica poblacional de los organismos.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron los organismos de distintos cuerpos de agua; la especie litoral (*A. rectángula*) fue colectada en el lago de Chapultepec, ubicado en el Distrito Federal y las especies planctónicas (*Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura*) del Espejo de los Lirios, localizado en Cuautitlan Izcalli, Estado de México.

Los cultivos puros de cada especie de cladóceros se iniciaron con una hembra grávida y se mantuvieron en condiciones de laboratorio, en medio EPA modificado<sup>1</sup> (NaCl 96 mg L<sup>-1</sup>; CaSO<sub>4</sub> 60 mg L<sup>-1</sup>; MgSO<sub>4</sub> 60 mg L<sup>-1</sup>; KCl 4 mg L<sup>-1</sup>), con un fotoperiodo de 12 horas luz: 12 oscuridad, en 25 ± 2 °C y alimentados con 1 a 2x10<sup>6</sup> células mL<sup>-1</sup> de *Chlorella vulgaris* cultivada en medio Bold Basal (Borowitzka y Borowitzka, 1988) (Anexo 1).

Las especies de cladóceros fueron cultivadas en el laboratorio más de seis meses antes de ser usadas en estos ensayos.

### 6.1 PREPARACIÓN DE SEDIMENTOS.

Se tomaron 400 g de suelo de las áreas verdes de Iztacala, y se colocaron en 800 mL de agua de la llave con 5 % de cloro (para eliminar la materia orgánica presente). Se calentó la mezcla a ebullición durante 1h y posteriormente se dejó reposar hasta que los sedimentos se precipitaron y se eliminó el sobrenadante. Con los sedimentos obtenidos, el procedimiento anterior se repitió dos veces.

Los sedimentos obtenidos fueron resuspendidos en agua destilada y se centrifugaron por 3 minutos a 2000 rpm (centrífuga Marca BOECO, mod. C-28) desechando el sobrenadante. La pastilla de sedimentos obtenidos se resuspendió nuevamente en agua destilada. Este procedimiento se repitió de 3 a 4 veces hasta que se eliminó el olor a cloro (Kirk *et al.* 1990).

---

<sup>1</sup> se substituyo el NaHCO<sub>3</sub> por NaCl debido a que el PbCl<sub>2</sub> reaccionaba con el carbonato (Klerks, 1998).

Finalmente todos los sedimentos fueron resuspendidos y se dejaron reposar durante aproximadamente 1 min. para eliminar las partículas grandes de rápida precipitación como arenas, no adecuadas para la realización de los bioensayos. Posteriormente se retiró el sobrenadante, el cual se utilizó como solución stock. Esta solución fue guardada a 4°C y se utilizó en todas las pruebas experimentales. Para garantizar que los sedimentos utilizados no contuvieran algún agente tóxico que pudiera ser liberado al medio, y de esta manera, afectar el desarrollo de los organismos de prueba, se efectuaron previamente bioensayos de 24h, para evaluar la mortalidad de los organismos. Cabe señalar que en las tres especies la supervivencia fue del 100 %.

Para obtener la concentración en  $\text{mg PS L}^{-1}$  de sólidos suspendidos de la solución Stock se utilizaron charolas de aluminio, mantenidas previamente en el horno a 60 °C durante 24 horas y pesadas en una microbalanza analítica (marca CAHN, mod. C-33). Se colocaron 10 submuestras de 0.1 mL de la solución stock en las charolas de aluminio, las cuales fueron secadas durante 48 horas en el horno a 60° C; después se pesaron en la microbalanza, se obtuvo el peso promedio de las submuestras (mg PS) y se determinó la concentración de sólidos suspendidos de la solución stock en  $\text{mg PS L}^{-1}$ .

### **6.1.2 ANÁLISIS DE SEDIMENTOS**

El tamaño de partícula de los sedimentos en suspensión de la solución stock se analizó por medio del método del hidrómetro (Fitz, 1985).

Para realizar la correlación de la concentración en  $\text{mg L}^{-1}$ , la absorbancia y unidades Nefelométricas de Turbiedad (NTU), se tomó 0.1 mL de la solución Stock y se colocó en 9.9 mL de agua destilada. De esta solución se hicieron 14 diluciones (de 0.25 mL en 10 mL, hasta 10 mL en 10 mL) para establecer una curva patrón, tomando lecturas de las diluciones en un Turbidímetro (marca HANNA, mod. HI 93703) y también con el Espectrofotómetro (marca Turner, mod. SP-870), en este último se utilizó una longitud de onda de 720 nm, longitud donde la influencia del color es despreciable (Rodier, 1981).

Para valorar probables cambios en la concentración de sedimentos por el tiempo de suspensión, se prepararon 18 frascos con  $32 \text{ mg L}^{-1}$  y 18 con  $277 \text{ mg L}^{-1}$  de sólidos suspendidos, en 50 mL de EPA. Estos frascos fueron colocados en el agitador, y cada .5, 1, 2, 4, 8 y 24h se tomaron muestras de tres frascos de cada concentración ( $32$  y  $277 \text{ mg L}^{-1}$  ss), y se midieron con el turbidímetro. Una vez tomada la muestra, la solución sobrante se desechó, es decir, solo se tomo una muestra de cada frasco para las mediciones.

## 6.2 PRUEBAS TOXICOLÓGICAS.

### 6.2.1 TOXICIDAD AGUDA

#### Concentración Letal Media ( $CL_{50}$ 24h)

Para cada especie (*Alona rectangula*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura*) se seleccionaron grupos de 20 individuos de  $\pm 24$ h de edad, y se colocaron en recipientes de vidrio, con un volumen de 50 mL de EPA. Cada especie se expuso a ocho concentraciones distintas de cloruro de plomo (concentraciones nominales) y un testigo (sin adición del metal). Las concentraciones utilizadas fueron 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10  $\text{mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$  para *Alona rectangula*; 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5 y 5.5  $\text{mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$  para *Diaphanosoma birgei* y 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8  $\text{mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$  para *Moina micrura*). Estas concentraciones se determinaron con base en la prueba de intervalo (range finding test) realizada para cada especie. Para cada una de las concentraciones del tóxico se consideraron cuatro repeticiones. Durante las pruebas los organismos se alimentaron con *Chlorella vulgaris*, a una concentración de  $1 \times 10^6 \text{ cels mL}^{-1}$ .

Los organismos se mantuvieron expuestos al plomo durante 24h. Al terminar el tiempo de exposición, se contó el número de individuos muertos después de la exposición, para determinar la concentración a la cual se presentó el 50 % de mortalidad (es decir la concentración letal media), utilizando el método de probit (Finney, 1971).

## 6.2.2 TOXICIDAD CRÓNICA

### 6.2.2.1 CRECIMIENTO POBLACIONAL

#### Pruebas aisladas.

Para cada especie (*Alona rectangula*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura*) se seleccionaron grupos de 20 individuos obtenidos al azar de los cultivos puros, y se colocaron en recipientes de vidrio, con un volumen de 50 mL de EPA. Los organismos fueron expuestos a cinco concentraciones de cloruro de plomo y un testigo. Estas concentraciones se obtuvieron realizando cinco diluciones con base en el  $CL_{50}$  24h obtenido anteriormente para cada especie (1/10, 1/20, 1/40, 1/80 y 1/160), las cuales son equivalentes a una concentración nominal de 0.71, 0.355, 0.178, 0.089 y 0.044 mg  $PbCl_2 L^{-1}$  para *Alona rectangula* y 0.32, 0.16, 0.08, 0.04 y 0.02 mg  $PbCl_2 L^{-1}$  para *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura*.

#### Pruebas de interacción

Las concentraciones de sólidos en suspensión utilizadas en estos bioensayos fueron determinadas sacando un promedio de las concentraciones de sólidos suspendidos de varios cuerpos de agua de la Republica Mexicana (De la Lanza y García, 2002). Para cada especie (*Alona rectangula*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura*) se seleccionaron grupos de 20 individuos obtenidos al azar de los cultivos puros, y se colocaron en distintos recipientes de vidrio, con un volumen de 50 mL de EPA. Los organismos de cada especie fueron expuestos a dos concentraciones nominales de sólidos suspendidos 32 y 277 mg  $L^{-1}$ , y en cada nivel de sólidos suspendidos se expusieron a las cinco concentraciones de  $PbCl_2$  antes mencionadas y un testigo (sin adición del metal), es decir que se sometieron a la interacción de ambos tipos de estrés (Sedimentos y metal). Cada uno de los distintos tratamientos tuvo cuatro repeticiones. Todos los organismos se alimentaron con *Chlorella vulgaris*, a una concentración de  $1 \times 10^6$  cels  $mL^{-1}$ .

Los organismos se contaron diariamente después de permanecer expuestos durante 24h, y se transfirieron nuevamente en frascos con las mismas características de los recipientes donde habían sido colocadas en un principio (misma concentración de alimento y/o sólidos suspendidos y/o concentración de tóxico, según el caso). Los organismos se mantuvieron

hasta que el recipiente alcanzó su capacidad de carga y la población decayó. Este tiempo fue diferente para cada especie debido a que cada una presenta una duración del ciclo de vida distinto.

Con los resultados se obtuvieron los parámetros poblacionales de Curva de Crecimiento Poblacional y Tasa de crecimiento “r”, esta última obtenida sacando la pendiente por medio de la regresión lineal del crecimiento poblacional durante la fase exponencial, transformando el número de individuos en valores de logaritmo natural (ln) (Case, 2000).

Los resultados obtenidos de “r” se analizaron por medio de ANOVA para determinar si existe una diferencia significativa entre ellos y se realizaron pruebas de Tukey para ver entre que tratamientos existe esa diferencia (Zar, 1984; Sokal y Rohlf, 1995).

#### **6.2.2.2 TABLA DE VIDA**

##### **Pruebas aisladas.**

Para cada especie (*Alona rectangular*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura*) se seleccionaron grupos de 10 individuos de  $\pm 24$ h de edad, y se colocaron en recipientes de vidrio, con un volumen de 50 mL de EPA. Fueron expuestos a cloruro de plomo, usando cinco concentraciones de cloruro de plomo y un testigo. Las concentraciones se obtuvieron realizando las siguientes diluciones 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 y 1/160, con base en la  $CL_{50}$  24h obtenida anteriormente para cada especie, las cuales son equivalentes a una concentración nominal de 0.71, 0.355, 0.178, 0.089 y 0.044 mg  $PbCl_2$   $L^{-1}$  para *Alona rectangular* y 0.32, 0.16, 0.08, 0.04 y 0.02 mg  $PbCl_2$   $L^{-1}$  para *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura*.

##### **Pruebas de interacción**

Las concentraciones de sólidos en suspensión utilizadas en estos bioensayos fueron determinadas sacando un promedio de las concentraciones de sólidos suspendidos de varios cuerpos de agua de la Republica Mexicana (De la Lanza y García, 2002). Para cada especie (*Alona rectangular*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura*) se seleccionaron grupos de 20 individuos de  $\pm 24$ h de edad, y se colocaron en recipientes de vidrio, con un volumen de 50 mL de EPA. Los organismos fueron expuestos a dos concentraciones nominales de sólidos

suspendidos 32 y 277 mg L<sup>-1</sup>, y al mismo tiempo se expusieron a los cinco niveles de cloruro de plomos antes utilizados y un testigo. De tal manera, los organismos se sometieron a la interacción de ambos tipos de estrés (sedimentos y metal). Cada uno de los tratamientos tuvo cuatro repeticiones. Todos los organismos se alimentaron con *Chlorella vulgaris*, a una concentración de 1x10<sup>6</sup> cels mL<sup>-1</sup>.

Los organismos permanecieron expuestos durante 24h; transcurrido este tiempo, los organismos de prueba iniciales se contaron y se transfirieron en recipientes con las mismas características de los recipientes donde habían sido colocadas en un principio (misma concentración de alimento y/o sólidos suspendidos y/o concentración de tóxico, según era el caso). Los neonatos también fueron contados, pero en este caso fueron retirados del recipiente y desechados. Este procedimiento se realizó diariamente hasta que el último de los organismos iniciales murió.

Con los resultados obtenidos se calcularon los siguientes parámetros poblacionales: Proporción de supervivientes (supervivencia), Proporción de neonatos (fecundidad), Promedio de vida, Esperanza de vida, Tasa reproductiva bruta, Tasa reproductiva neta, Tiempo de generación, Tasa de incremento poblacional, las cuales se obtuvieron utilizando las siguientes fórmulas: (Krebs, 1985; Pianka, 1988).

- Proporción de supervivientes (supervivencia)  $l_x = \frac{n_x}{N^{\circ} \text{ inicial de individuos}}$

donde:  $n_x$  = supervivientes

- Proporción de neonatos (fecundidad)  $m_x = \frac{N^{\circ} \text{ de neonatos producidos}}{n_x}$

donde:  $n_x$  = supervivientes

- Promedio de vida  $L_x = \frac{n_x 1 + n_x 2}{2}$

donde:  $n_x 1$  = supervivientes al día x

$n_x 2$  = supervivientes al día siguiente

- Esperanza de vida  $e^x = \frac{T_x}{n_x}$

donde:  $T_x = \sum L_x$   
 $n_x =$  supervivientes

- Tasa reproductiva bruta =  $\sum m_x$

donde:  $m_x =$  fecundidad

- Tasa reproductiva neta  $R_0 = \sum l_x m_x$

donde:  $l_x =$  supervivencia  
 $m_x =$  fecundidad

- Tiempo de generación  $T = \frac{\sum l_x m_x x}{R_0}$

donde:  $l_x =$  supervivencia  
 $m_x =$  fecundidad  
 $x =$  edad

- Tasa de incremento poblacional  $r = \sum_{x=0}^n e^{-rx} l_x m_x = 1$

donde:  $e = 2.718$   
 $x =$  edad  
 $l_x m_x = R_0$

Todos los recipientes de los experimentos de toxicidad aguda y crónica se mantuvieron en un agitador (Hecho por la FES-I) durante todos los días de experimentación, a  $25 \pm 2$  °C. El conteo de los organismos se llevó a cabo en una caja de acrílico transparente (de 5 x 5 cm y una profundidad de 1.5 cm), con ayuda de un microscopio estereoscópico NIKON (Mod. SMZ645) y una pipeta Pasteur para trasladarlos de un recipiente de experimentación a otro.

Los resultados obtenidos en la tabla de vida se analizaron por medio de ANOVA para determinar si existe una diferencia significativa entre ellos y se realizaron pruebas de Tukey para ver entre que tratamientos existe la diferencia (Zar, 1984; Sokal y Rohlf, 1995).

## 7. RESULTADOS

### 7.1 ANALISIS DE SEDIMENTOS

En el análisis de sedimentos por el método del hidrómetro se encontró que el porcentaje de tamaño de partícula de los sedimentos es el siguiente:

86.66 % de partículas entre 2 y 20  $\mu$

13.33 % de partículas < 2  $\mu$

Las relaciones establecidas entre  $\text{mg L}^{-1}$ , absorbancia y NTU de los sedimentos en suspensión se señalan en la Tabla 3, en la cual se incluyen los valores promedio obtenidos.

Tabla 3 – Relación entre las unidades de  $\text{mg L}^{-1}$ , absorbancia y NTU, de los sedimentos en suspensión.

$\text{mg L}^{-1}$	Absorbancia	NTU
800	0.878	497
700	0.795	436
600	0.695	378
500	0.585	298
400	0.477	258
300	0.377	172
200	0.254	114
100	0.131	57
50	0.07	31.04
25	0.043	16.57
12.5	0.025	8.04
6.25	0.02	4.08

Estas mediciones permitieron hacer interpolaciones para poder comparar las mediciones obtenidas en otras unidades por otros autores, ya que en la mayoría de los trabajos se utilizan principalmente NTU's ó  $\text{mg L}^{-1}$  pero casi nunca ambas mediciones.

Las mediciones reales obtenidas de los sólidos con diferentes tiempos de suspensión se señalan en la Tabla 4.

Tabla 4 – Valores promedio de las mediciones obtenidas con el turbidímetro después de 0.5, 1, 2, 4, 8 y 24h de suspensión de los sedimentos.

Tiempo (h)	Concentración nominal 500 mg L <sup>-1</sup> = 296 NTU	Concentración nominal 50 mg L <sup>-1</sup> = 29.32 NTU
	Concentración real (NTU)	Concentración real (NTU)
0.5	189.33	20.2
1	170.33	18.34
2	163.67	15.57
4	135	14.02
8	122.33	12.1
24	111	10.97

La concentración promedio de sedimentos en suspensión obtenida para el tratamiento con 500 mg L<sup>-1</sup> fue de 169.67 NTU (correspondiente a un valor real de 276.6 mg L<sup>-1</sup>) y de 17.22 NTU (32.18 mg L<sup>-1</sup>) para el tratamiento con 50 mg L<sup>-1</sup>, valores obtenidos por la interpolación de la regresión lineal establecida entre los valores de NTU correspondientes a concentraciones conocidas (mg L<sup>-1</sup>) de los sólidos suspendidos (Tabla 1)

Por otra parte, se realizaron mediciones de dos cuerpos de agua de donde fueron obtenidas las especies de cladóceros, encontrando una concentración nominal de 512 y 285 mg L<sup>-1</sup>, lo cual nos comprueba que, las concentraciones utilizadas en este trabajo se pueden encontrar en cuerpos de agua de nuestro país.

## 7.2 PRUEBAS TOXICOLÓGICAS.

### 7.2.1 TOXICIDAD AGUDA (CL<sub>50</sub>)

La CL<sub>50</sub> (24h) para *Alona rectangulara* fue de 7.06 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> ± ES 0.39, para *Diaphanosoma birgei* fue de 3.16 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> ± ES 0.25 y por último para *Moina micrura* fue de 3.24 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> ± ES 0.69 (concentración nominal). Se observó que *A. rectangulara* fue significativamente más resistente que *D. birgei* y *M. micrura*. Estas últimas obtuvieron una CL<sub>50</sub> significativamente igual entre sí.

## 7.2.2 TOXICIDAD CRÓNICA

### 7.2.2.1 CRECIMIENTO POBLACIONAL

En el crecimiento poblacional de *A. rectangula* se observó que, en los grupos testigo (sin presencia de cloruro de plomo), el tratamiento sin sólidos suspendidos (ss) y el de 32 mg L<sup>-1</sup> ss tuvieron un comportamiento muy similar entre sí, con dos picos de crecimiento bien definidos, lo que demuestra que la presencia de 32 mg L<sup>-1</sup> ss no causa ningún efecto sobre la población (Fig. 1). Por otra parte, el grupo testigo (sin PbCl<sub>2</sub>) con 277 mg L<sup>-1</sup> de ss, mostró un crecimiento poblacional tres veces mayor, en comparación a los dos tratamientos antes mencionados (Fig. 1), sugiriendo que la presencia de 277 mg L<sup>-1</sup> promueve el crecimiento poblacional de *A. rectangula*.

Todos los grupos de los tratamientos con 0 y 32 mg L<sup>-1</sup> ss, a los cuales se les administro PbCl<sub>2</sub>, presentaron un efecto adverso a la presencia del metal, mostrando diferencias significativas con los testigos. En los tratamientos con 0 y 32 mg L<sup>-1</sup> ss, en las concentraciones más bajas de tóxico (0.044 y 0.089 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) se encontró una diferencia muy pequeña, ya que en el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss se apreciaron dos ligeros picos de crecimiento, a diferencia de las mismas concentraciones (0.044 y 0.089 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) del tratamiento en el cual no existía la presencia ss, aunque estas diferencias no son significativas (Fig. 1).

En las concentraciones más altas (0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) se obtuvieron comportamientos similares entre los tratamientos con 0 y 32 mg L<sup>-1</sup>, ya que en ambos casos y a diferencia de las concentraciones más bajas del metal (0, 0.044 y 0.089 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), los organismos no fueron capaces de resistir durante el mismo tiempo de exposición al cloruro de plomo. En la concentración de 0.178 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> se observó una diferencia de tres días entre ambos tratamientos (23 para 0 mg L<sup>-1</sup> y 26 para 32 mg L<sup>-1</sup> ss); la concentración de 0.355 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> presentó una diferencia de un día (20 para 0 mg L<sup>-1</sup> y 19 para 32 mg L<sup>-1</sup> ss); por último en la concentración más alta (0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), en ambas concentraciones ss (0 y 32 mg L<sup>-1</sup>), solo fueron capaces de resistir 18 días, observándose que en las concentraciones más altas los organismos mueren más rápido (Fig. 1).

Los grupos que contenían sólidos suspendidos en una concentración de 277 mg L<sup>-1</sup>, mostraron un comportamiento similar entre sí, a excepción de la concentración más alta de PbCl<sub>2</sub> (0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) en la cual, sí existieron diferencias significativas con los grupos antes mencionados, y se apreció un efecto negativo del tóxico sobre la población, aunque en este caso, la población sí fue capaz de sobrevivir durante todo el tiempo de exposición, lo cual no se observó en los otros dos tratamientos (0 y 32 mg L<sup>-1</sup>). Además, en dicha concentración (0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) se obtuvo un crecimiento similar al encontrado para la concentración de 0.044 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y 32 mg L<sup>-1</sup> ss, lo que demuestra que con la presencia de los sólidos suspendidos *A. rectangula* no se ve tan afectada por la presencia del cloruro de plomo (Fig. 1). Casi todos los grupos con 277 mg L<sup>-1</sup> ss, a excepción de la concentración de 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, presentaron una diferencia en el crecimiento poblacional casi seis veces mayor en comparación con las concentraciones de 0.044, 0.089, 0.178 y 0.355 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> de los tratamientos con 0 y 32 mg L<sup>-1</sup> ss respectivamente (Fig. 1).

### *Alona rectangulara*

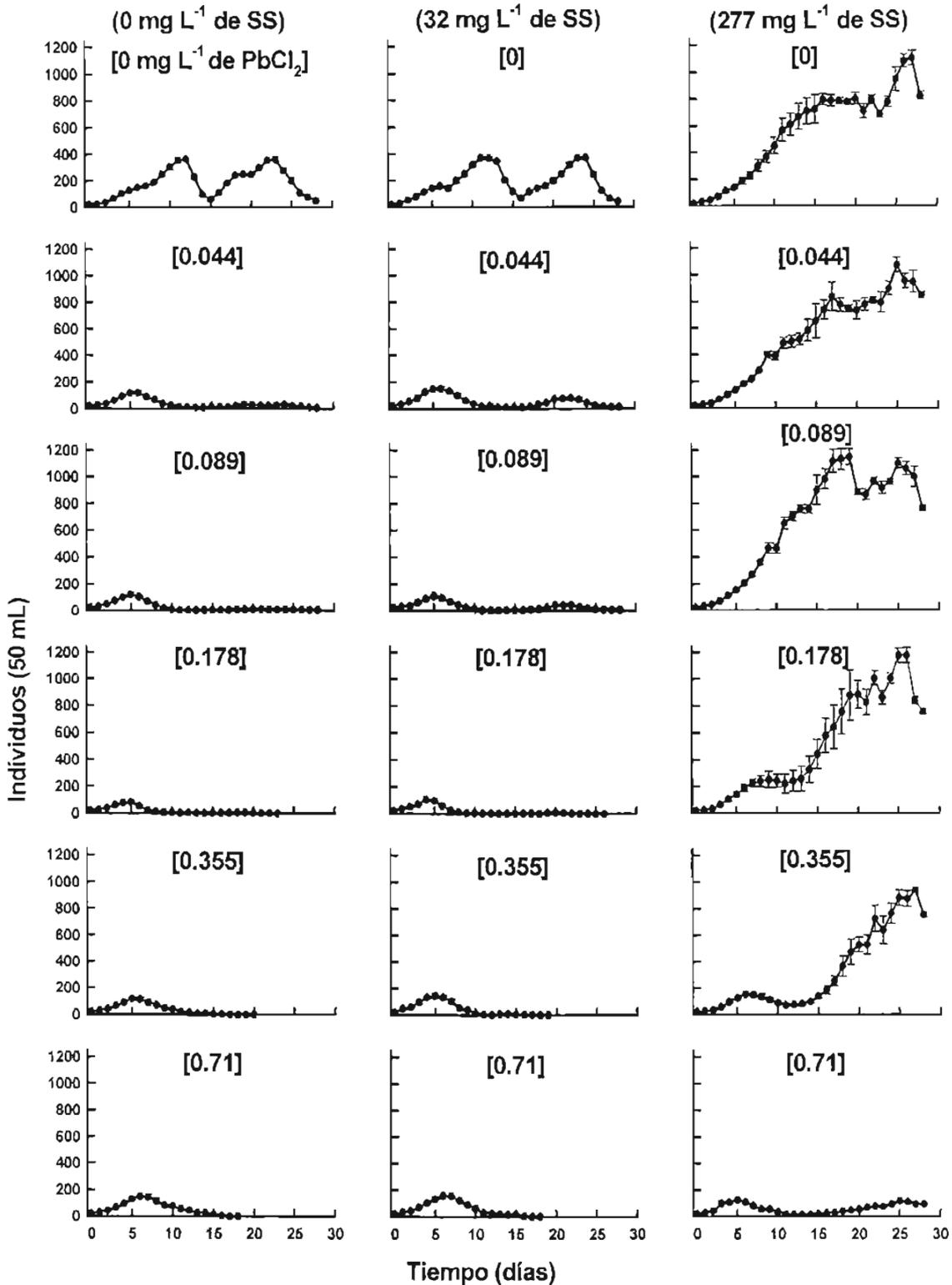


Fig. 1 - Crecimiento poblacional de *Alona rectangulara* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos en presencia de PbCl<sub>2</sub> (concentración nominal) y alimentados con *Chlorella vulgaris* (1x10<sup>6</sup> cels mL<sup>-1</sup>).

Para el crecimiento poblacional de *D. birgei* se encontró que el grupo testigo (sin  $\text{PbCl}_2$ ), sin presencia ss, así como el de  $32 \text{ mg L}^{-1}$  ss, muestran un crecimiento similar entre sí, lo que demuestra nuevamente que la presencia de  $32 \text{ mg L}^{-1}$  ss no ejerce ningún efecto sobre el crecimiento poblacional. El testigo (sin  $\text{PbCl}_2$ ) con  $277 \text{ mg L}^{-1}$  ss, sí presentó diferencias significativas comparándolo con los dos tratamientos antes mencionados, obteniendo una población cuatro veces mayor en comparación con los dos grupos antes mencionados y un incremento en el crecimiento muy bien definido a lo largo de todo el tiempo de exposición de los organismos al cloruro de plomo (Fig. 2).

Comparando los grupos con  $\text{PbCl}_2$  (desde  $0.02$  hasta  $0.16 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$ ) de los tratamientos con  $0$  y  $32 \text{ mg L}^{-1}$ , se observaron crecimientos poblacionales similares. Excepto en la concentración de  $0.32 \text{ mg L}^{-1}$  del tratamiento sin ss, la cual sí mostró diferencias significativas. Además, la población no es capaz de sobrevivir y muere el día 16, a diferencia del tratamiento con  $32 \text{ mg L}^{-1}$  ss, en la cual se obtuvo un crecimiento poblacional mucho mayor y los organismos fueron capaces de sobrevivir durante todo el tiempo de experimentación, lo que demuestra que bajo la presencia de los ss se reduce la acción tóxica del plomo (Fig. 2).

Los grupos expuestos a  $\text{PbCl}_2$  ( $0.02$ ,  $0.04$ ,  $0.08$ ,  $0.16$  y  $0.32 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$ ) y que contenían sólidos suspendidos en una concentración de  $277 \text{ mg L}^{-1}$ , presentaron un comportamiento similar entre sí, y tuvieron un crecimiento poblacional cuatro veces mayor en comparación con todas las concentraciones de los tratamientos con  $0$  y  $32 \text{ mg L}^{-1}$  ss (Fig. 2). Los resultados sugieren que la presencia de ss en *D. birgei* promueve el crecimiento poblacional de la especie e incluso elimina cualquier efecto tóxico del plomo.

## *Diaphanosoma birgei*

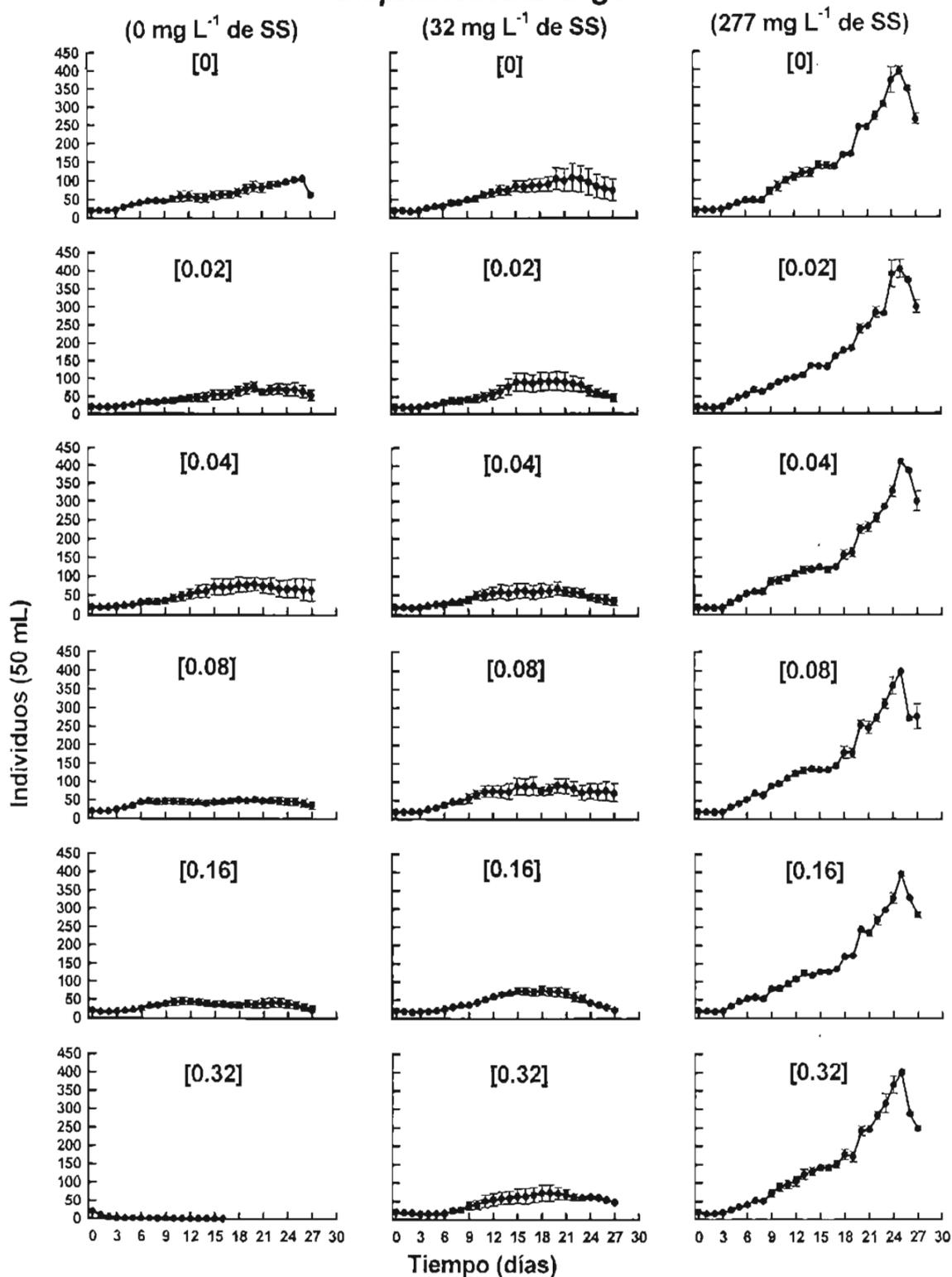


Fig. 2 - Crecimiento poblacional de *Diaphanosoma birgei* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos en presencia de PbCl<sub>2</sub> (concentración nominal) y alimentados con *Chlorella vulgaris* (1x10<sup>6</sup> cels mL<sup>-1</sup>).

En el crecimiento poblacional de *M. micrura* se observó que todos los grupos testigos (sin presencia de tóxico), y con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> ss tuvieron un crecimiento similar entre sí, apreciándose que no existe una disminución en el crecimiento poblacional causado por la ausencia de sedimentos en el medio, a diferencia de lo obtenido con las otras dos especies utilizadas, en este caso los ss reducen el crecimiento poblacional de *M. micrura*, sin embargo, las poblaciones no muestran una diferencia significativa (Fig. 3).

Para los tratamientos con 0 y 32 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos se encontró un patrón muy bien definido, en donde a mayor concentración de PbCl<sub>2</sub> se incrementa el efecto perjudicial sobre las poblaciones. Sin embargo, este comportamiento no es el mismo en el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup>, en la cual no se observó ningún efecto adverso del plomo sobre las poblaciones. Por otra parte, comparando los grupos con tóxico de las concentraciones más bajas (0.02, 0.04 y 0.08 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), de los tratamientos con 0 y 32 mg L<sup>-1</sup> ss se mostró una diferencia entre los respectivos crecimientos poblacionales, obteniéndose un mayor crecimiento en el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss, y apreciándose que con una mayor concentración de sólidos suspendidos existe un crecimiento poblacional mayor. No obstante, en el caso de las concentraciones más altas de tóxico (0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), se observa un comportamiento similar entre los tratamientos con 0 y 32 mg L<sup>-1</sup> ss (Fig. 3).

Los grupos con tóxico, que contenían sólidos suspendidos en una concentración de 277 mg L<sup>-1</sup> presentaron un comportamiento similar entre sí. En este caso el crecimiento poblacional no se modifica por la exposición al plomo, a diferencia de los tratamientos con 0 y 32 mg L<sup>-1</sup> ss, (Fig. 3).

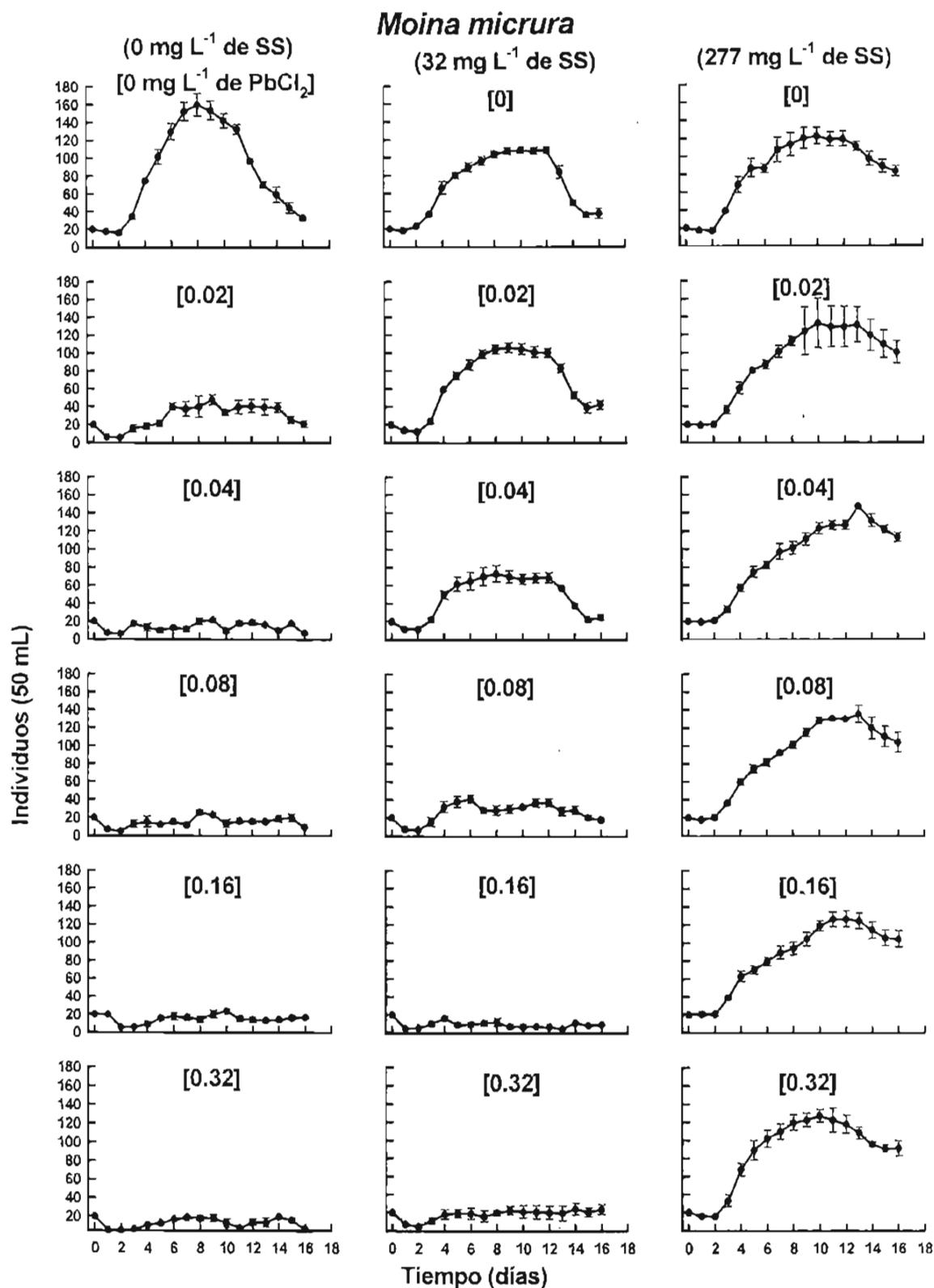


Fig. 3 - Crecimiento poblacional de *Moina micrura* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos en presencia de PbCl<sub>2</sub> (concentración nominal) y alimentados con *Chlorella vulgaris* (1x10<sup>6</sup> cels mL<sup>-1</sup>).

### Tasas de crecimiento “r”

Los ANOVAS de las tasas de crecimiento (Fig. 4) muestran que existen diferencias significativas entre las tres concentraciones de sólidos suspendidos (0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup>), entre las seis concentraciones de PbCl<sub>2</sub> (0, 0.044, 0.089, 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> para *A. rectangular* y 0, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> para *D. birgei* y *M. micrura*) y en la interacción entre ambos factores, ya que en todos los casos se encontró una P<0.001 (Tabla 5).

Tabla 5 - ANOVA de dos factores realizados para determinar si existen diferencias significativas entre las tres concentraciones de sólidos suspendidos y las seis distintas concentraciones de PbCl<sub>2</sub> sobre las Tasas de Crecimiento Poblacional.

Organismo de prueba	Fuente de Variación	df	MS	F	P
<i>Alona rectangular</i>	conc. ss (A)	2	0.043	104.94	P< 0.001
	conc. de PbCl <sub>2</sub> (B)	5	0.005	13.34	P< 0.001
	A x B	10	0.003	7.72	P< 0.001
	df error	54			
	MS error		0.00040691		
<i>Diaphanosoma birgei</i>	conc. ss (A)	2	0.065	98.45	P< 0.001
	conc. de PbCl <sub>2</sub> (B)	5	0.007	10.80	P< 0.001
	A x B	10	0.005	7.72	P< 0.001
	df error	54			
	MS error		0.00065743		
<i>Moina micrura</i>	conc. ss (A)	2	0.064	65.35	P< 0.001
	conc. de PbCl <sub>2</sub> (B)	5	0.042	42.36	P< 0.001
	A x B	10	0.009	10.00	P< 0.001
	df error	54			
	MS error		0.00098644		

## PRUEVAS DE TUKEY

### Tasa de crecimiento poblacional "r"

Para *A. rectangula*, según la prueba de Tukey (con una  $\alpha = 0.05$ ), en el tratamiento sin sólidos suspendidos y con 32 mg L<sup>-1</sup> ss, se observaron diferencias significativas entre el testigo (0 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) y los tratamientos expuestos a PbCl<sub>2</sub> (0.044, 0.089, 0.178 y 0.355 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), pero en el caso de la conc. más alta 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, no se encontró diferencia con el testigo. No obstante, en la concentración de 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, la población no fue capaz de resistir durante todo el tiempo de experimentación, muriendo el día 18, a diferencia de los grupos expuestos a 0.044 y 0.089 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, en ambos tratamientos (0 y 32 mg L<sup>-1</sup> ss), sobrevivieron 28 días (es decir, durante todo el tiempo de exposición); 23 y 26 días en la concentración de 0.178 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, de ambos tratamientos (0 y 32 mg L<sup>-1</sup> ss) respectivamente; 19 y 20 días para la concentración de 0.355 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, en los tratamientos de 0 y 32 mg L<sup>-1</sup> ss respectivamente. Para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss, solo en la concentración más alta (0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), la población se vio significativamente afectada por la acción del tóxico (Fig. 4).

Para *D. birgei*, la prueba de Tukey demostró que las tasas de crecimiento de los grupos mantenidos sin ss y 32 mg L<sup>-1</sup>, fueron similares entre sí, a excepción de los organismos expuestos en la concentración de PbCl<sub>2</sub> más alta (0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), donde la tasa de crecimiento se redujo significativamente obteniéndose valores negativos, ya que en esta condición los organismos no fueron capaces de aumentar su número inicial. En los tratamientos con 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> ss, la exposición al metal no modificó significativamente las tasas de crecimiento de los organismos. Sin embargo, los valores de r del tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss fueron los más altos de los tres tratamientos (Fig. 4).

En el caso de *M. micrura*, el efecto de la exposición al plomo sobre las tasas de crecimiento r, fue diferente entre los tres tratamientos (0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> ss). Las pruebas de Tukey mostraron que en el tratamiento sin ss se presentaron tres bloques (en este caso se le llamará bloque a los grupos que son significativamente iguales entre sí). En el primer bloque, el grupo testigo, el cual fue significativamente diferente a las poblaciones que se mantuvieron expuestas al PbCl<sub>2</sub>; además en el testigo se obtuvo la r más alta, en

comparación con todas las poblaciones de los otros dos tratamientos (32 y 277 mg L<sup>-1</sup>). En el segundo bloque, se encontraron las concentraciones de 0.02, 0.04 y 0.08 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y en el tercero las de 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss, se observó una disminución de la r conforme aumenta la concentración del agente tóxico, presentando diferencias significativas entre cuatro bloques, primero los grupos con 0, 0.02 y 0.04 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, segundo las concentraciones de 0.02 y 0.04 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, tercero 0.08 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y el cuarto las de 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. En contraste, en el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss, no se observaron diferencias significativas en las tasas de crecimiento entre las distintas concentraciones de PbCl<sub>2</sub> (Fig. 4).

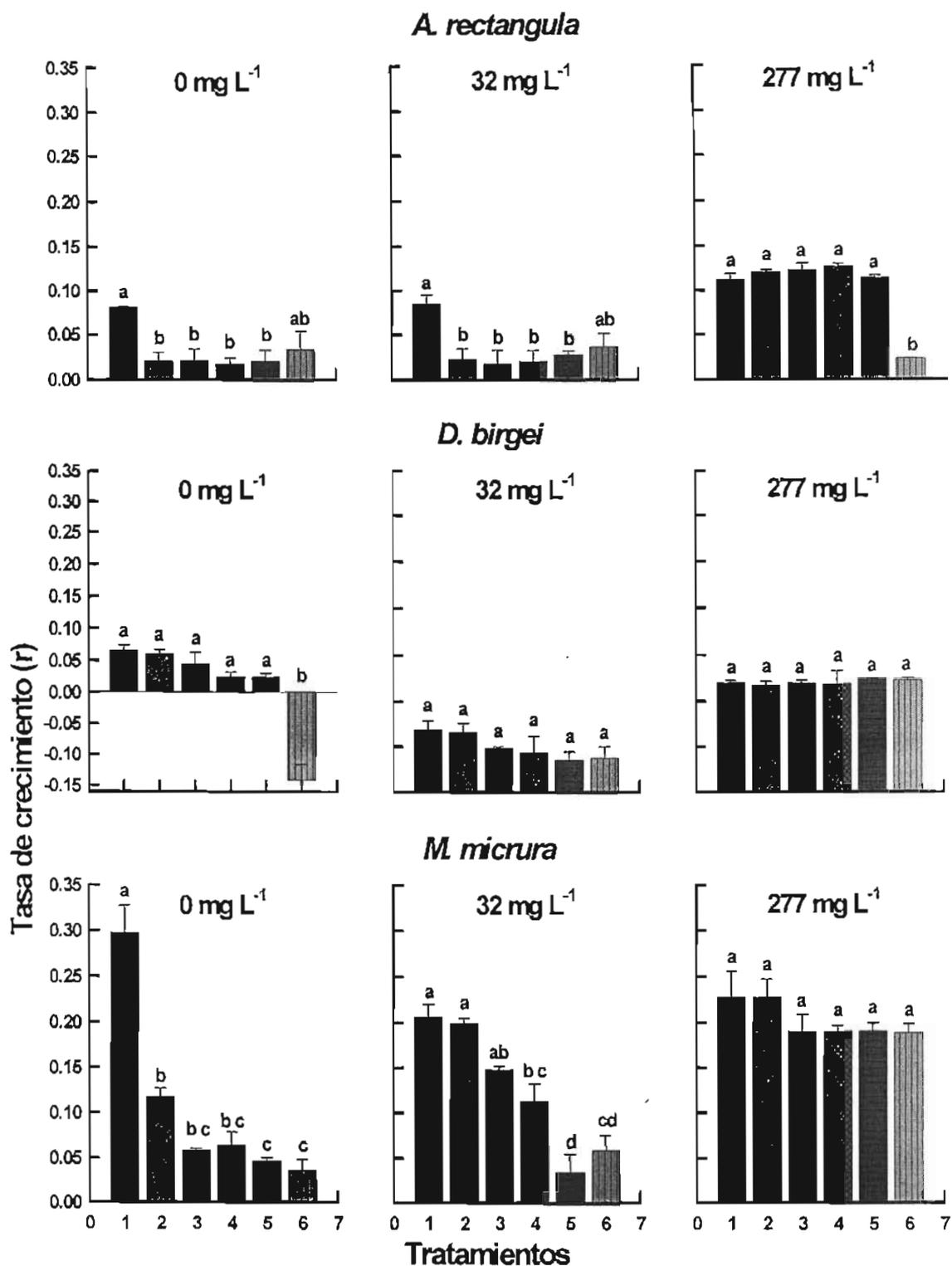


Fig. 4 - Tasa de crecimiento poblacional de *A. rectangula* (Tratamientos: 1 = Testigo, 2 = 0.044, 3 = 0.089, 4 = 0.178, 5 = 0.355 y 6 = 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>); *D. birgei* y *M. micrura* (1 = Testigo, 2 = 0.02, 3 = 0.04, 4 = 0.08, 5 = 0.16, 6 = 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos y una concentración de 1x10<sup>6</sup> cels mL<sup>-1</sup> de *C. vulgaris* como alimento. Barras con letras diferentes denotan diferencias significativas (p < 0.05).

### 7.2.2.2 TABLA DE VIDA

Las supervivencias ( $l_x$ ) más altas para *A. rectangularis* se obtuvieron en el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> sólidos suspendidos. En todos los tratamientos se observó que mientras mayor fue la concentración de ss, la  $l_x$  aumentaba, y mientras mayor fue la concentración de PbCl<sub>2</sub>, la  $l_x$  disminuía. En las concentraciones más altas de tóxico las poblaciones no son capaces de sobrevivir durante todo el tiempo de exposición al cloruro de plomo, presentándose siempre las menores supervivencias en el tratamiento con una concentración de 0 mg L<sup>-1</sup> ss (Fig. 5).

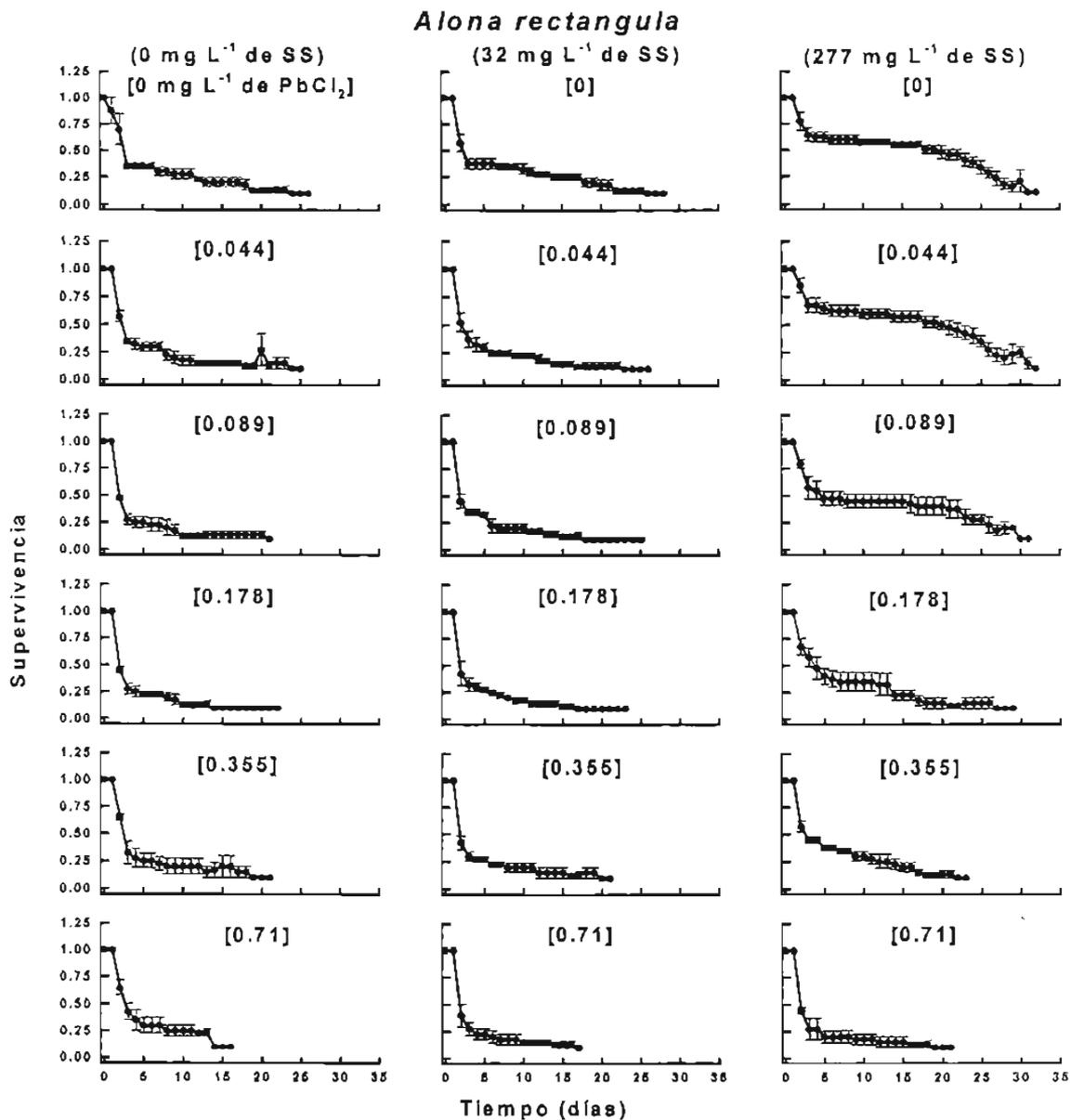


Fig. 5 - Proporción de supervivientes ( $l_x$ ) de *Alona rectangularis* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos en presencia de PbCl<sub>2</sub> (concentración nominal) y una concentración de  $1 \times 10^6$  cels mL<sup>-1</sup> de *Chlorella vulgaris*.

Las fecundidades ( $m_x$ ) fueron muy similares entre todos los tratamientos (0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> ss) con un promedio en las  $m_x$  aproximado de 2.0, a excepción de la concentración más alta de tóxico (0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> de PbCl<sub>2</sub>), en la cual se observó una disminución en la fecundidad con un valor de aprox. 1.5. En los todos los tratamientos se observó que mientras mayor fue la concentración de ss, la  $m_x$  aumentaba, y mientras mayor fue la concentración de PbCl<sub>2</sub>, la  $m_x$  disminuía. En todos los grupos, los organismos generalmente tuvieron dos neonatos y se reprodujeron una vez cada día, sin importar la concentración del tóxico (Fig. 6).

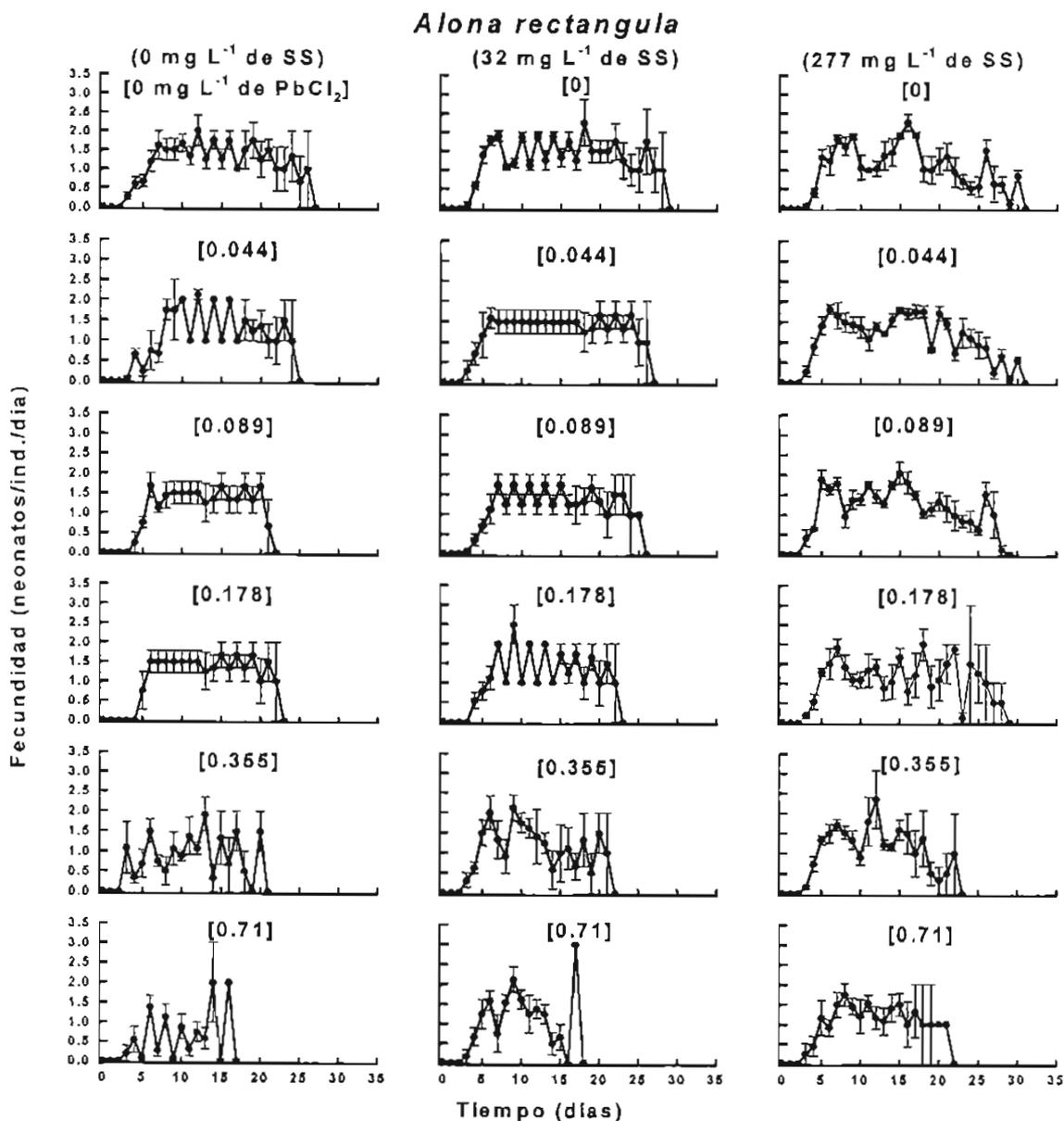


Fig. 6 - Proporción de neonatos ( $m_x$ ) de *Alona rectangular* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos en presencia de PbCl<sub>2</sub> (concentración nominal) y una concentración de 1x10<sup>6</sup> cels mL<sup>-1</sup> de *Chlorella vulaaris*.

Las supervivencias ( $I_x$ ) de *D. birgei* mostraron un patrón muy claro, ya que se obtuvieron las  $I_x$  más altas en los grupos con la mayor concentración de sólidos suspendidos ( $277 \text{ mg L}^{-1}$ ), seguidas por el tratamiento con  $32 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$  y finalmente las tasas más bajas en la concentración de  $0 \text{ mg L}^{-1}$  ss, es decir, que mientras mayor fue la concentración de ss, la  $I_x$  aumentaba, y mientras mayor fue la concentración de  $\text{PbCl}_2$ , la  $I_x$  disminuía. En las concentraciones más altas de tóxico de los tratamientos con 0 y  $32 \text{ mg L}^{-1}$  ss, se encontró que las poblaciones no son capaces de sobrevivir durante todo el tiempo de exposición al cloruro de plomo, presentándose siempre las menores supervivencias en el tratamiento con una concentración de  $0 \text{ mg L}^{-1}$  ss (Fig. 7).

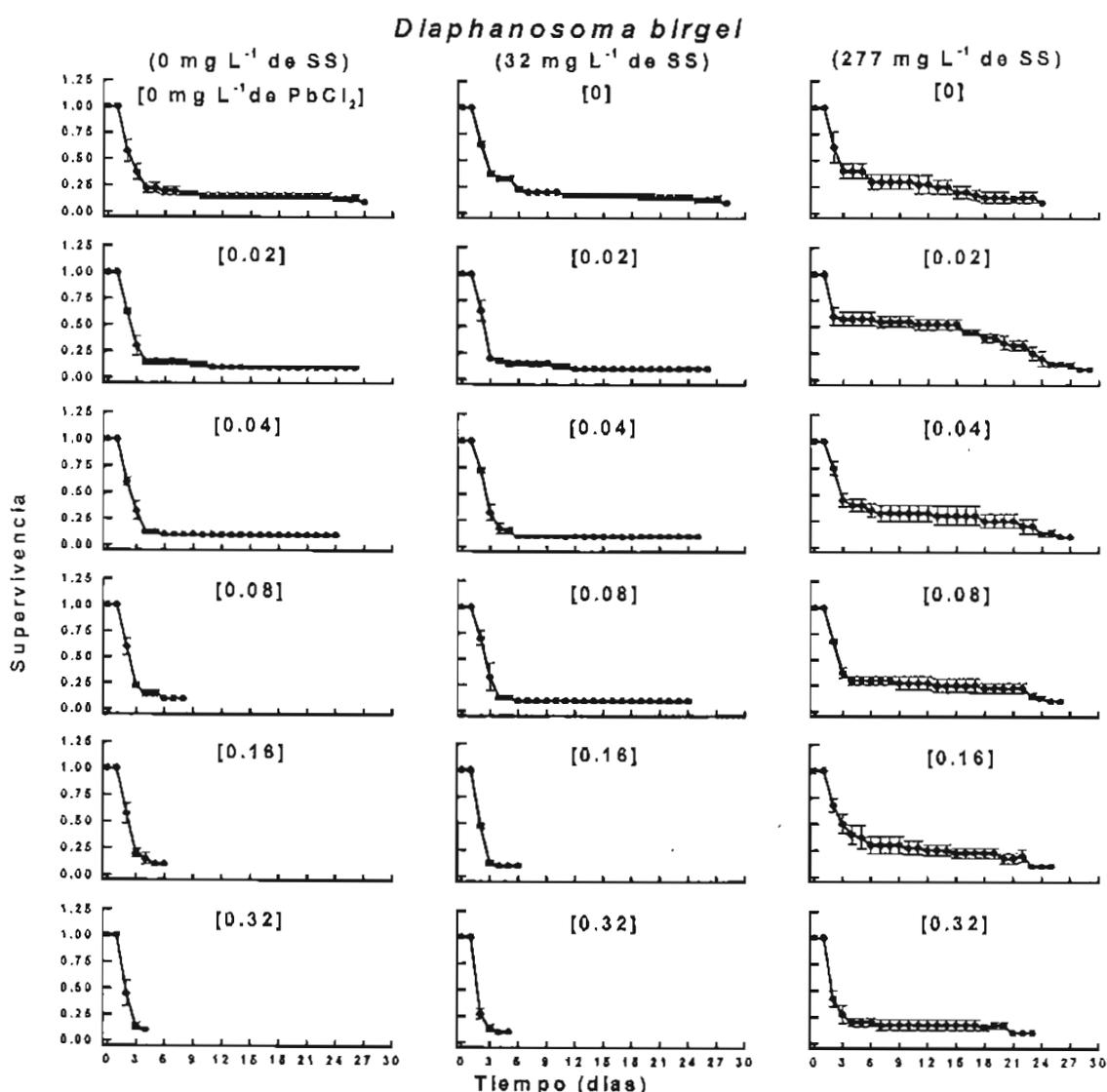


Fig. 7 - Proporción de supervivientes ( $I_x$ ) de *Diaphanosoma birgei* con 0, 32 y  $277 \text{ mg L}^{-1}$  de sólidos suspendidos en presencia de  $\text{PbCl}_2$  (concentración nominal) y una concentración de  $1 \times 10^6$  cels  $\text{mL}^{-1}$  de *Chlorella vulgaris*.

Las fecundidades ( $m_x$ ) fueron muy similares en casi todos los tratamientos (0, 32 y 277 mg  $L^{-1}$  ss), excepto en las concentraciones más altas de tóxico (0.08, 0.16 y 0.32 mg  $PbCl_2 L^{-1}$  para el tratamiento sin ss, y 0.16 y 0.32 mg  $PbCl_2 L^{-1}$  para el de 32 mg  $L^{-1}$  ss) en las cuales los organismos no fueron capaces de reproducirse, no obstante, se observó que mientras mayor fue la concentración de ss, la  $m_x$  aumentaba, y mientras mayor fue la concentración de  $PbCl_2$ , la  $m_x$  disminuía. Los organismos en todos los grupos procrearon 6 neonatos cada dos días, aunque en este caso los organismos de las concentraciones de 0.08, 0.16 y 0.32 mg  $PbCl_2 L^{-1}$  para el tratamiento sin ss y las de 0.16 y 0.32 mg  $PbCl_2 L^{-1}$  para el de 32 mg  $L^{-1}$  ss, no fueron capaces de reproducirse nunca (Fig. 8).

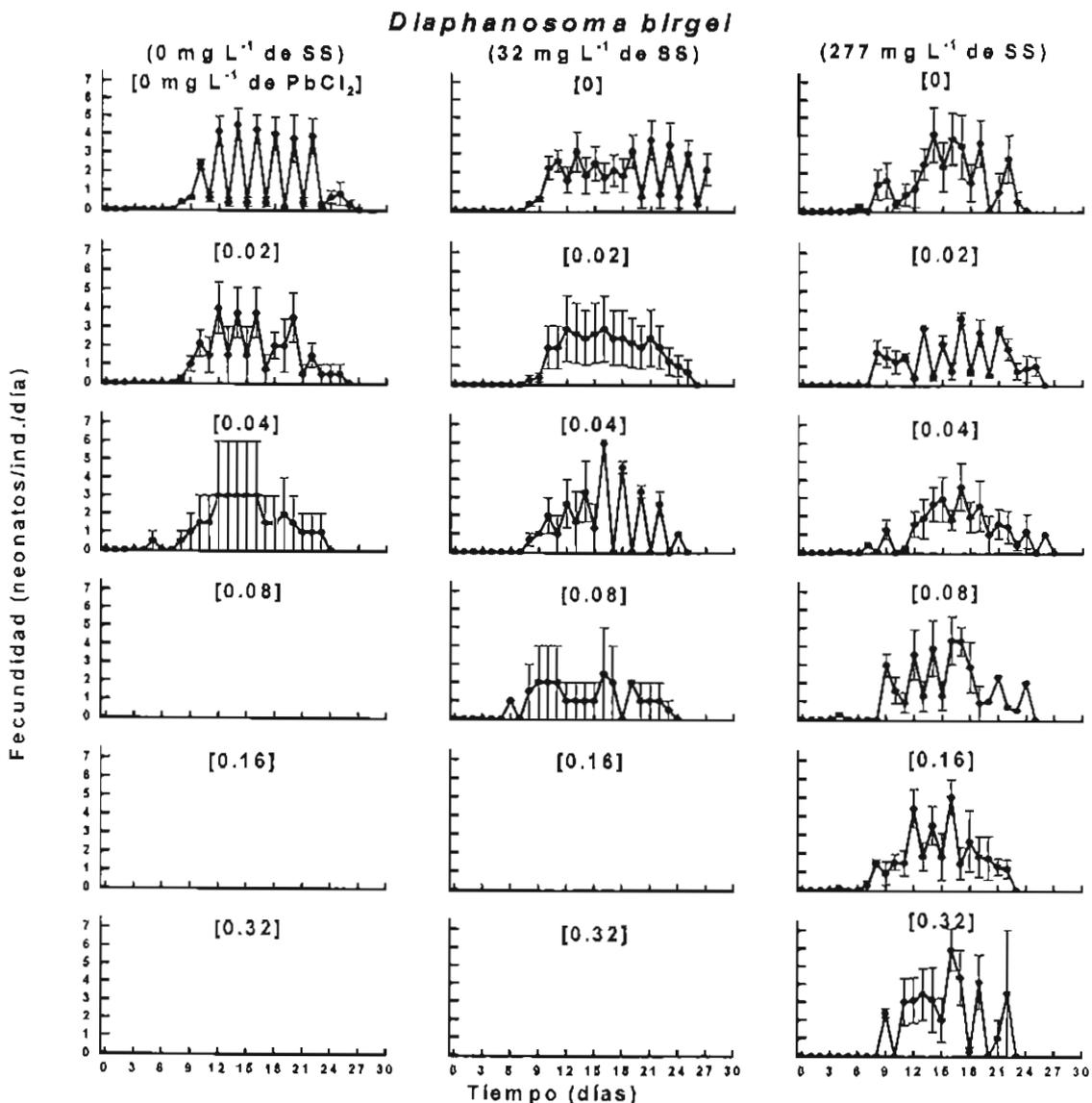


Fig. 8 - Proporción de neonatos ( $m_x$ ) de *Diaphanosoma birgei* con 0, 32 y 277 mg  $L^{-1}$  de sólidos suspendidos en presencia de  $PbCl_2$  (concentración nominal) y una concentración de  $1 \times 10^6$  cels  $mL^{-1}$  de *Chlorella vulgaris*.

Las supervivencias ( $I_x$ ) para *M. micrura*, mostraron un comportamiento muy similar entre todos los tratamientos (0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> ss), aunque fue posible observar que mientras mayor fue la concentración de ss, la  $I_x$  aumentaba, y mientras mayor fue la concentración de PbCl<sub>2</sub>, la  $I_x$  disminuía. En las concentraciones más altas de tóxico se encontró que las poblaciones no son capaces de sobrevivir durante todo el tiempo de exposición al cloruro de plomo, presentándose siempre las menores supervivencias en el tratamiento con una concentración de 0 mg L<sup>-1</sup> ss (Fig. 9).

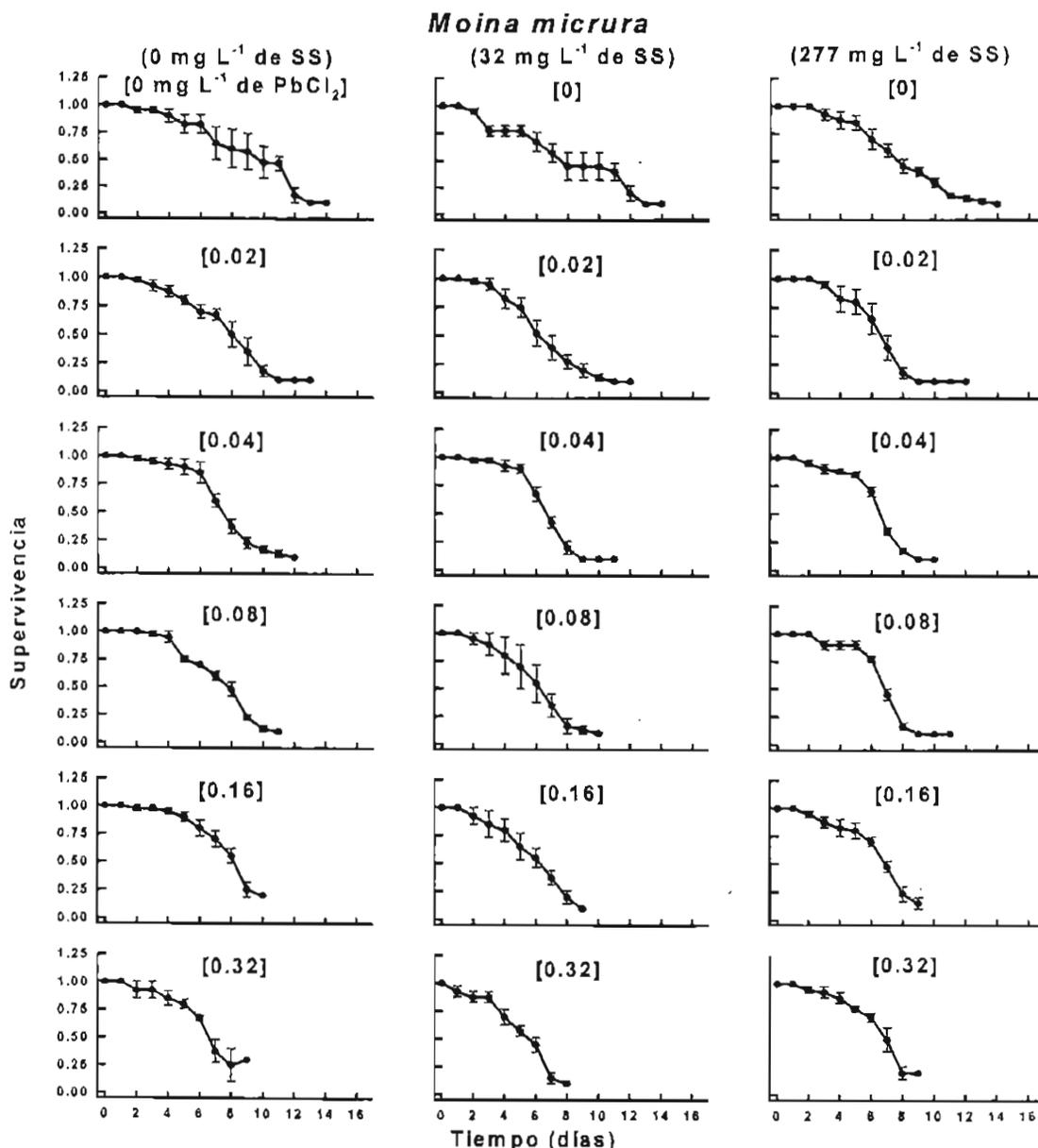


Fig. 9 - Proporción de supervivientes ( $I_x$ ) de *Moina micrura* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos en presencia de PbCl<sub>2</sub> (concentración nominal) y una concentración de  $1 \times 10^6$  cels mL<sup>-1</sup> de *Chlorella vulgaris*.

Las fecundidades ( $m_x$ ) mostraron un patrón muy claro, Es decir, que mientras mayor fue la concentración de ss, la  $m_x$  aumentaba, y mientras mayor fue la concentración de  $PbCl_2$ , la  $m_x$  disminuía, ya que se obtuvieron las  $m_x$  más altas en los grupos con la mayor concentración de sólidos suspendidos ( $277 \text{ mg L}^{-1}$ ), seguidas por el tratamiento con  $32 \text{ mg L}^{-1}$  y finalmente las  $m_x$  más bajas en la concentración de  $0 \text{ mg L}^{-1}$  ss. Se observó una disminución de la fecundidad, relacionada con el aumento de la concentración de cloruro de plomo en el medio (Fig. 10).

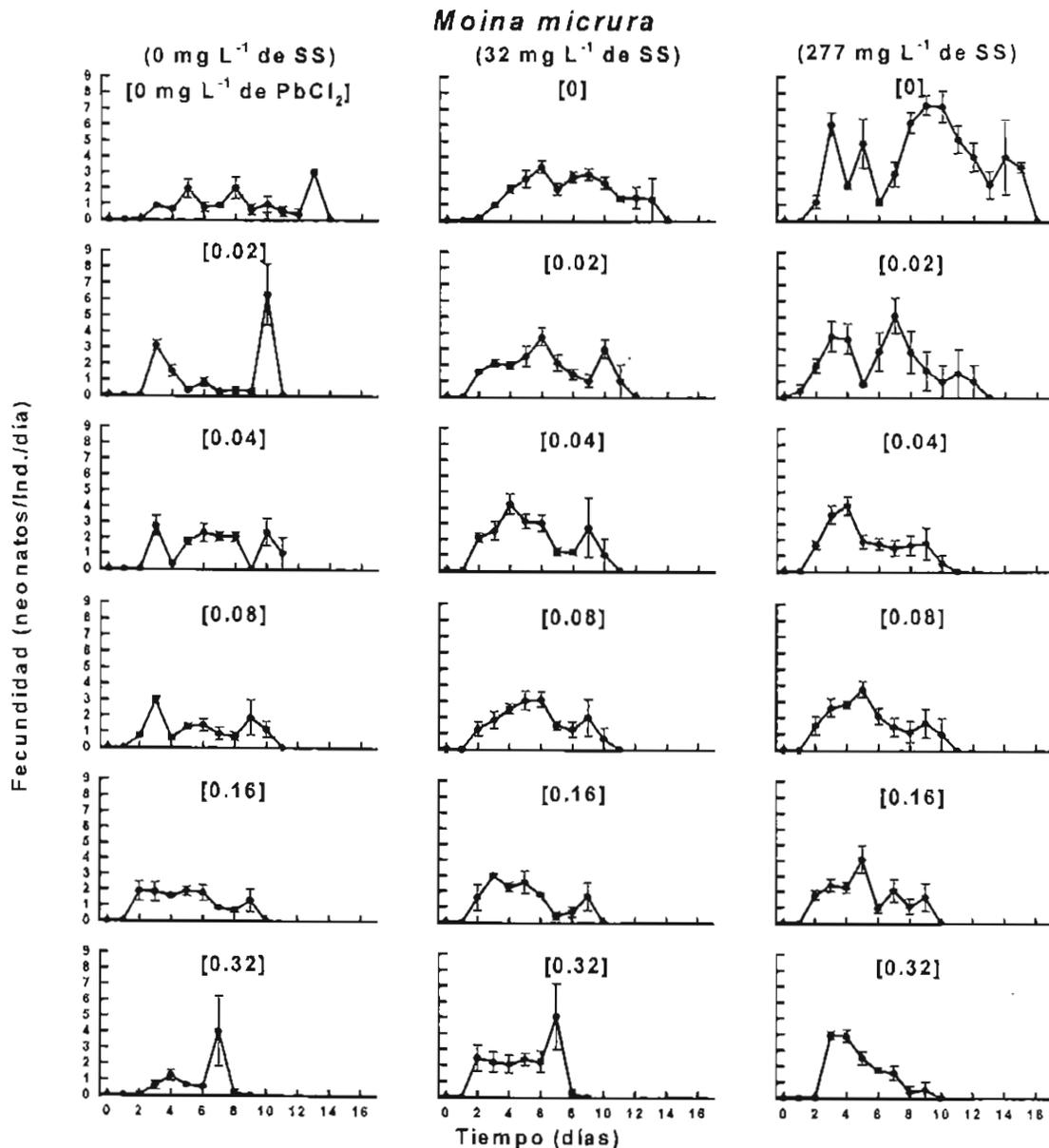


Fig. 10 - Proporción de neonatos ( $m_x$ ) de *Moina micrura* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos en presencia de  $PbCl_2$  (concentración nominal) y una concentración de  $1 \times 10^6$  cels mL<sup>-1</sup> de *Chlorella vulgaris*.

### ANOVAS (tabla de vida) *Alona rectangular*

De acuerdo con el ANOVA de dos vías realizado, para la mayoría de los parámetros poblacionales evaluados se observó un efecto significativo de los ss, en la exposición al  $PbCl_2$  y la interacción de los factores ( $P < 0.01$ ). No obstante, en el caso de la tasa de reproducción bruta, el tiempo generacional y la tasa de incremento poblacional, la interacción de los factores no ejerció un efecto significativo ( $P > 0.05$ ) (Tabla 6).

Tabla 6 - ANOVAS de dos factores realizados para determinar si existen diferencias significativas entre las tres concentraciones de sólidos suspendidos y las seis distintas concentraciones de  $PbCl_2$ , y la interacción entre ambos factores sobre: promedio de vida, esperanza de vida, tasa de reproducción bruta, tasa de reproducción neta, tiempo generacional y la tasa de incremento poblacional.

Parámetro Ecológico	Fuente de variación	df	MS	F	P
Promedio de Vida	conc. ss (A)	2	218.26	74.37	$P < 0.001$
	conc. de $PbCl_2$ (B)	5	57.15	19.47	$P < 0.001$
	A x B	10	21.49	7.32	$P < 0.001$
	<b>df error</b>	<b>54</b>			
	<b>MS error</b>		2.93		
Esperanza de Vida	conc. ss (A)	2	218.26	74.37	$P < 0.001$
	conc. de $PbCl_2$ (B)	5	57.15	19.47	$P < 0.001$
	A x B	10	21.49	7.32	$P < 0.001$
	<b>df error</b>	<b>54</b>			
	<b>MS error</b>		2.93		
Tasa de Reproducción Bruta	conc. ss (A)	2	359.85	19.55	$P < 0.001$
	conc. de $PbCl_2$ (B)	5	500.31	27.18	$P < 0.001$
	A x B	10	20.28	1.10	$P > 0.05$
	<b>df error</b>	<b>54</b>			
	<b>MS Error</b>		18.41		
Tasa de Reproducción Neta	conc. ss (A)	2	322.62	81.49	$P < 0.001$
	conc. de $PbCl_2$ (B)	5	107.18	27.07	$P < 0.001$
	A x B	10	30.35	7.67	$P < 0.001$
	<b>df error</b>	<b>54</b>			
	<b>MS error</b>		3.96		
Tiempo generacional	conc. ss (A)	2	11.59	7.24	$P < 0.01$
	conc. de $PbCl_2$ (B)	5	29.76	18.59	$P < 0.001$
	A x B	10	0.64	0.40	$P > 0.05$
	<b>df error</b>	<b>54</b>			
	<b>MS error</b>		1.60		
Tasa de Incremento poblacional	conc. ss (A)	2	0.08	42.44	$P < 0.001$
	conc. de $PbCl_2$ (B)	5	0.02	12.62	$P < 0.001$
	A x B	10	0.003	1.95	$P > 0.05$
	<b>df error</b>	<b>54</b>			
	<b>MS error</b>		0.002		

*Diaphanosoma birgei*

De acuerdo con el ANOVA de dos vías realizado, para la mayoría de los parámetros poblacionales evaluados se observó un efecto significativo de los ss, en la exposición al PbCl<sub>2</sub> y la interacción de los factores (P<0.05). No obstante, la interacción de ambos factores del promedio de vida, esperanza de vida y tasa de reproducción neta no ejercieron un efecto significativo (P>0.05) (Tabla 7).

Tabla 7 - ANOVAS de dos factores realizados para determinar si existen diferencias significativas entre las tres concentraciones de sólidos suspendidos y las seis distintas concentraciones de PbCl<sub>2</sub>, y la interacción entre ambos factores sobre: promedio de vida, esperanza de vida, tasa de reproducción bruta, tasa de reproducción neta, tiempo generacional y la tasa de incremento poblacional

Parámetro Ecológico	Fuente de variación	df	MS	F	P
Promedio de vida	conc. ss (A)	2	161.20	81.44	P< 0.001
	conc. de PbCl <sub>2</sub> (B)	5	45.95	23.21	P< 0.001
	A x B	10	1.80	0.91	<b>P&gt;0.05</b>
	<b>df error</b>	54			
	<b>MS error</b>		1.98		
Esperanza de vida	conc. ss (A)	2	161.20	81.44	P< 0.001
	conc. de PbCl <sub>2</sub> (B)	5	45.95	23.21	P< 0.001
	A x B	10	1.80	0.91	<b>P&gt;0.05</b>
	<b>df error</b>	54			
	<b>MS error</b>		1.98		
Tasa de Reproducción bruta	conc. ss (A)	2	1721.06	14.55	P< 0.001
	conc. de PbCl <sub>2</sub> (B)	5	1486.16	12.57	P< 0.001
	A x B	10	616.77	5.21	P< 0.001
	<b>df error</b>	54			
	<b>MS error</b>		118.27		
Tasa de Reproducción neta	conc. ss (A)	2	244.72	70.49	P< 0.001
	conc. de PbCl <sub>2</sub> (B)	5	54.41	15.67	P< 0.001
	A x B	10	4.10	1.18	<b>P&gt;0.05</b>
	<b>df error</b>	54			
	<b>MS error</b>		3.47		
Tiempo generacional	conc. ss (A)	2	437.53	37.23	P< 0.001
	conc. de PbCl <sub>2</sub> (B)	5	328.3	27.96	P< 0.001
	A x B	10	77.89	6.63	P< 0.001
	<b>df error</b>	54			
	<b>MS error</b>		11.75		
Tasa de Incremento poblacional	conc. ss (A)	2	0.08	100.23	P< 0.001
	conc. de PbCl <sub>2</sub> (B)	5	0.02	20.40	P< 0.001
	A x B	10	0.001	2.35	<b>P&lt;0.05</b>
	<b>df error</b>	54			
	<b>MS error</b>		0.0008		

*M. micrura*

De acuerdo con el ANOVA de dos vías realizado, para la mayoría de los parámetros poblacionales evaluados se observó un efecto significativo de los ss, en la exposición al  $PbCl_2$  y la interacción de los factores ( $P < 0.01$ ). No obstante, el promedio de vida, la esperanza de vida, la tasa de reproducción neta y en el tiempo generacional, la interacción de los factores no ejerció un efecto significativo ( $P > 0.05$ ) (Tabla 8).

Tabla 8 - ANOVAS de dos factores realizados para determinar si existen diferencias significativas entre las tres concentraciones de sólidos suspendidos y las seis distintas concentraciones de  $PbCl_2$ , y la interacción entre ambos factores sobre: promedio de vida, esperanza de vida, tasa de reproducción bruta, tasa de reproducción neta, tiempo generacional y la tasa de incremento poblacional.

Parámetro ecológico	Fuente de variación	df	MS	F	P
Promedio de vida	conc. ss (A)	2	7.734	8.38	$P < 0.001$
	conc. de $PbCl_2$ (B)	5	7.59	8.26	$P < 0.001$
	A x B	10	0.55	0.59	$P > 0.05$
	df error	54			
	MS error		0.92		
Esperanza de vida	conc. ss (A)	2	7.74	8.38	$P < 0.001$
	conc. de $PbCl_2$ (B)	5	7.57	8.26	$P < 0.001$
	A x B	10	0.55	0.59	$P > 0.05$
	df error	54			
	MS error		0.92		
Tasa de Reproducción bruta	conc. ss (A)	2	1083.25	51.85	$P < 0.001$
	conc. de $PbCl_2$ (B)	5	475.43	22.75	$P < 0.001$
	A x B	10	320.94	15.36	$P < 0.001$
	df error	54			
	MS error		20.89		
Tasa de Reproducción neta	conc. ss (A)	2	327.82	61.10	$P < 0.001$
	conc. de $PbCl_2$ (B)	5	68.57	12.78	$P < 0.001$
	A x B	10	46.07	8.59	$P < 0.001$
	df error	54			
	MS error		5.37		
Tiempo generacional	conc. ss (A)	2	1.26	4.88	$P > 0.05$
	conc. de $PbCl_2$ (B)	5	7.74	29.90	$P < 0.001$
	A x B	10	0.51	1.98	$P > 0.05$
	df error	54			
	MS error		0.26		
Tasa de Incremento poblacional	conc. ss (A)	2	0.42	52.38	$P < 0.001$
	conc. de $PbCl_2$ (B)	5	0.05	6.04	$P < 0.001$
	A x B	10	0.05	5.53	$P < 0.001$
	df error	54			
	MS error		0.008		

## PRUEBAS DE TUKEY (tabla de vida)

### Promedio de vida ( $L_x$ )

Este es el tiempo promedio que tiene de vida un organismo. De acuerdo con las pruebas de Tukey realizadas ( $\alpha = 0.05$ ) para *A. rectangula*, en el tratamiento sin sólidos suspendidos no se observaron diferencias significativas entre los diferentes grupos. En el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss, se encontraron diferencias significativas en dos bloques (cada bloque significa que no existen diferencias significativas entre las distintas concentraciones de cloruro de plomo que se encuentran agrupadas) en el primer bloque los grupos con 0 y 0.044 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y en el segundo bloque las concentraciones con 0.044, 0.089, 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss se apreciaron tres bloques diferentes, primero las concentraciones de 0, 0.044, 0.089 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, segundo las de 0.089 y 0.178 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y finalmente las de 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Fig. 11). Se apreció que aumentó la  $L_x$  en la concentración más alta de ss (277 mg L<sup>-1</sup>), y se redujo significativamente por el efecto del PbCl<sub>2</sub> (Fig. 11).

En el tratamiento sin ss de *D. birgei* se hallaron tres bloques: primero las concentraciones más bajas 0 y 0.044 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, segundo las concentraciones de 0.044, 0.089 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y tercero las concentraciones de 0.089, 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss también se encontraron tres bloques, primero el testigo, después los grupos con 0.02, 0.04, 0.08 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y al final los grupos con 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Por último, para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss solo se presentaron dos bloques, las concentraciones de 0, 0.02 y 0.04 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y segundo las concentraciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Fig. 11). Se observó que la  $L_x$  aumentó en la concentración más alta de ss (277 mg L<sup>-1</sup>), y se redujo significativamente por el efecto del PbCl<sub>2</sub> (Fig. 11).

En el caso de *M. micrura*, en el tratamiento sin ss, se obtuvieron dos bloques: primero las concentraciones de 0, 0.02, 0.04, 0.08 y 0.16 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y segundo las concentraciones de 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss se observaron también los mismos bloques y divididos de igual manera que en el tratamiento anterior. El tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss se apreciaron dos bloques, primero el testigo, y segundo las concentraciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Se encontró que redujo significativamente la  $L_x$  por el efecto del PbCl<sub>2</sub> (Fig. 11).

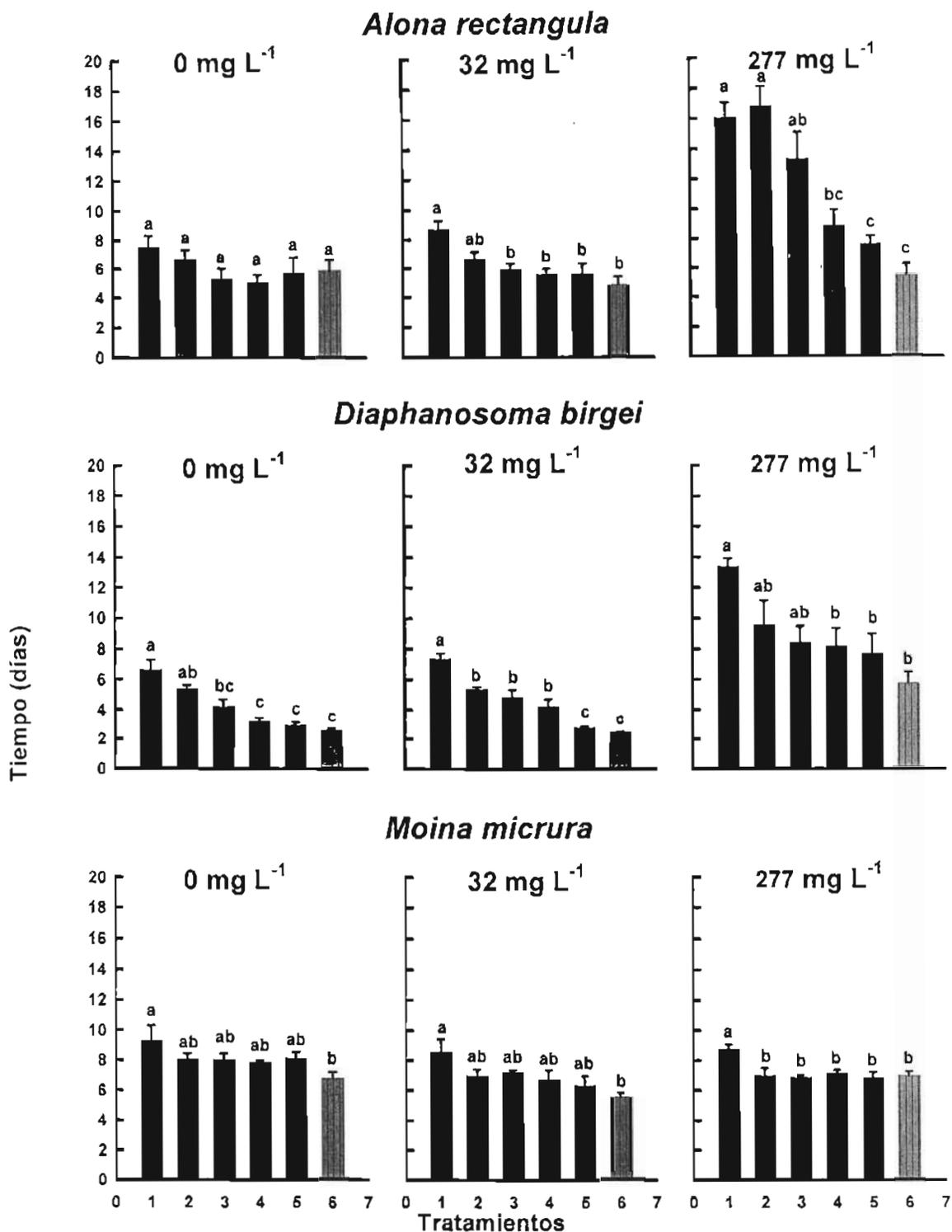


Fig. 11 - Promedio de vida ( $L_x$ ) de *Alona rectangulara*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos y una concentración de  $1 \times 10^6$  cels mL<sup>-1</sup> de *Chlorella vulgaris* como alimento. Tratamientos: *A. rectangulara*, 1 = Testigo, 2 = 0.044, 3 = 0.089, 4 = 0.178, 5 = 0.355 y 6 = 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>; *D. birgei* y *M. micrura*, 1 = Testigo, 2 = 0.02, 3 = 0.04, 4 = 0.08, 5 = 0.16, 6 = 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>.

Barras con letras diferentes denotan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

### Esperanza de vida ( $e_x$ )

Este es el tiempo que se esperaría estadísticamente que tenga de vida un organismo. En las pruebas de Tukey realizadas ( $\alpha = 0.05$ ) para *A. rectangula*, en el tratamiento sin sólidos suspendidos no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes grupos. El tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss se obtuvieron dos bloques, en el primer bloque se encontraron los grupos con 0 y 0.044 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y en el segundo los de 0.044, 0.089, 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss se observaron tres bloques diferentes, primero las concentraciones de 0, 0.044, 0.089 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, segundo las de 0.089 y 0.178 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y al final las de 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Fig. 12). Se observó que aumentó la  $e_x$  en la concentración más alta de ss (277 mg L<sup>-1</sup>), y se redujo significativamente por el efecto del PbCl<sub>2</sub> (Fig. 12).

*D. birgei*, en el tratamiento sin ss, mostró tres bloques: primero las concentraciones más bajas 0 y 0.044 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, segundo las concentraciones de 0.044, 0.089 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y tercero las concentraciones de 0.089, 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss, también se presentaron tres bloques con diferencias significativas, primero el testigo, después los grupos con 0.02, 0.04, 0.08 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y finalmente los de 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. En el caso del tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss solo se obtuvieron dos bloques, primero las concentraciones de 0, 0.02 y 0.04 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y segundo las concentraciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Fig. 12). Se encontró que la  $e_x$  aumentó en la concentración más alta de ss (277 mg L<sup>-1</sup>), y se redujo significativamente por el efecto del PbCl<sub>2</sub> (Fig. 12).

En el caso de *M. micrura*, en el tratamiento sin ss se encontraron dos bloques: primero las concentraciones de 0, 0.02, 0.04, 0.08 y 0.16 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y segundo las concentraciones de 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss se hallaron también los mismos bloques y divididos de igual manera que en el tratamiento anterior. Por último, para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss se observaron dos bloques, primero el testigo, y segundo las concentraciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Fig. 12). Se apreció que, se redujo significativamente la  $e_x$  por el efecto del PbCl<sub>2</sub> (Fig. 12).

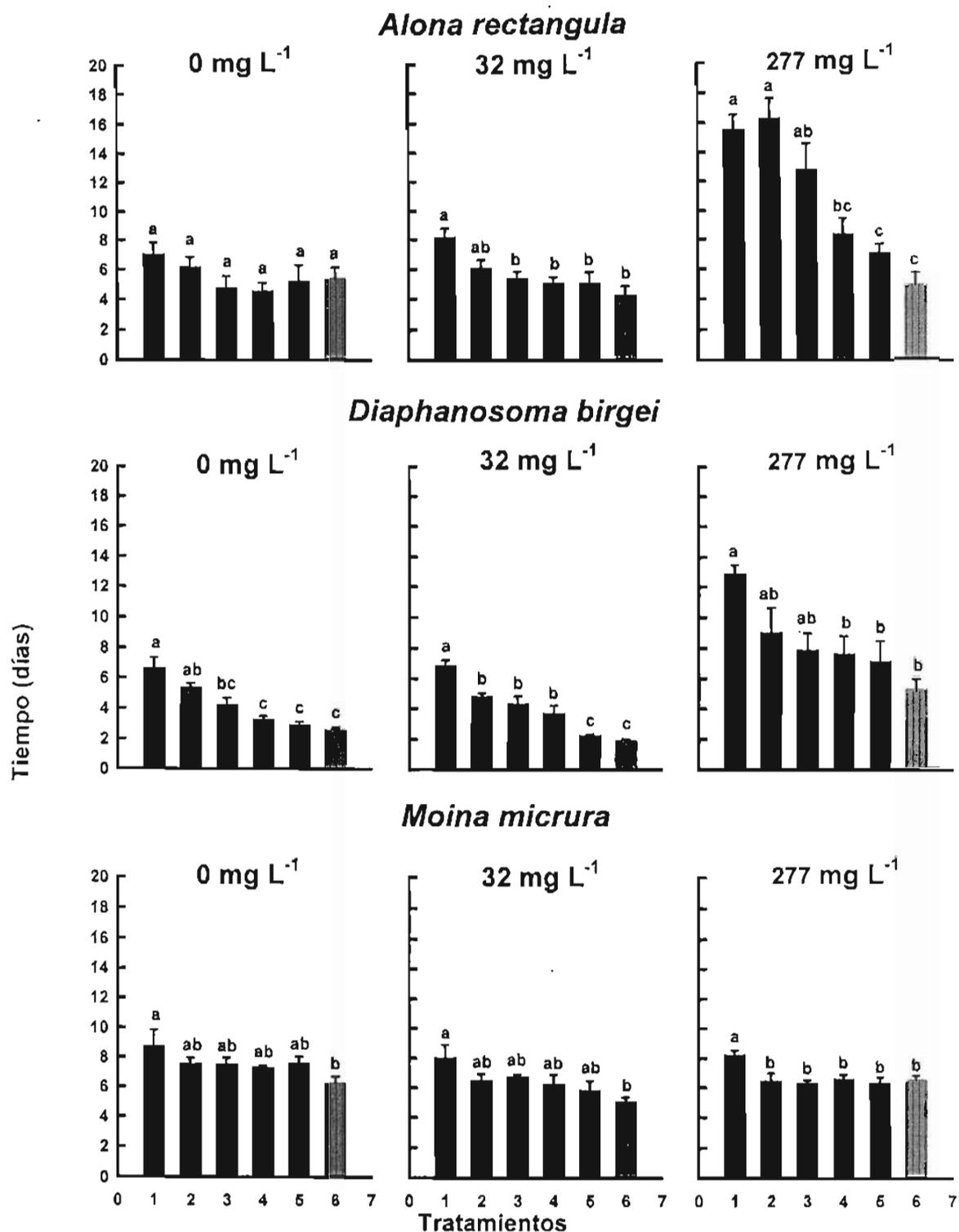


Fig 12 - Esperanza de vida de *Alona rectangulara*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos y una concentración de 1x10<sup>8</sup> cels mL<sup>-1</sup> de *Chlorella vulgaris* como alimento. Tratamientos: *A. rectangulara*, 1 = Testigo, 2 = 0.044, 3 = 0.089, 4 = 0.178, 5 = 0.355 y 6 = 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>; *D. birgei* y *M. micrura*, 1 = Testigo, 2 = 0.02, 3 = 0.04, 4 = 0.08, 5 = 0.16, 6 = 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> }.

Barras con letras diferentes denotan diferencias significativas (p < 0.05).

### Tasa de reproducción bruta

Esta es la tasa de reproducción de un organismo pero sin tomar en cuenta la supervivencia. Las pruebas de Tukey realizadas ( $\alpha = 0.05$ ) para *A. rectangula*, en el tratamiento sin sólidos suspendidos, mostraron tres bloques, en el primero las concentraciones de 0, 0.044, 0.089 y 0.178 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, en el segundo las concentraciones de 0.089, 0.178 y 0.355 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y en el tercero 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. En el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss nuevamente se encontraron tres bloques, primero las concentraciones de 0 y 0.044 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, segundo las concentraciones de 0.044, 0.089, 0.178 y 0.355 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y finalmente las de 0.089, 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss se observaron tres bloques distintos, las concentraciones de 0, 0.178 y 0.355 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, segundo las concentraciones de 0, 0.044, 0.089 y 0.178 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y al final las de 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Se apreció que se redujo significativamente la tasa de rep. bruta por el efecto del PbCl<sub>2</sub> (Fig. 13).

*D. birgei*, en el tratamiento sin ss no muestran diferencias significativas entre el testigo y las concentraciones de 0.02 y 0.04 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, sin embargo, en las concentraciones de 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> los organismos no fueron capaces de reproducirse. Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss se obtuvieron dos bloques, primero las concentraciones de 0, 0.04 y 0.08 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y segundo las de 0.02, 0.04 y 0.08 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, por otra parte las concentraciones de 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> no fueron capaces de reproducirse. El tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss no se hallaron diferencias significativas entre ninguna concentración (0, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) (Fig. 13). Se observó que se redujo significativamente la tasa de rep. bruta por el efecto del PbCl<sub>2</sub>, a excepción del tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> (Fig. 13).

En el caso de *M. micrura*, en el tratamiento sin ss, no se apreciaron diferencias significativas entre ninguna concentración (0, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>). Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss solo se encontraron dos bloques, primero las concentraciones de 0, 0.02, 0.04, 0.08 y 0.16 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, en el segundo las concentraciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Por último, para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss se ven dos bloques, primero el testigo, y segundo las concentraciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Se apreció que aumentó la tasa de rep. bruta en la concentración más alta de ss (277 mg L<sup>-1</sup>), y se redujo significativamente por el efecto del PbCl<sub>2</sub>, a excepción de el tratamiento sin ss (Fig. 13).

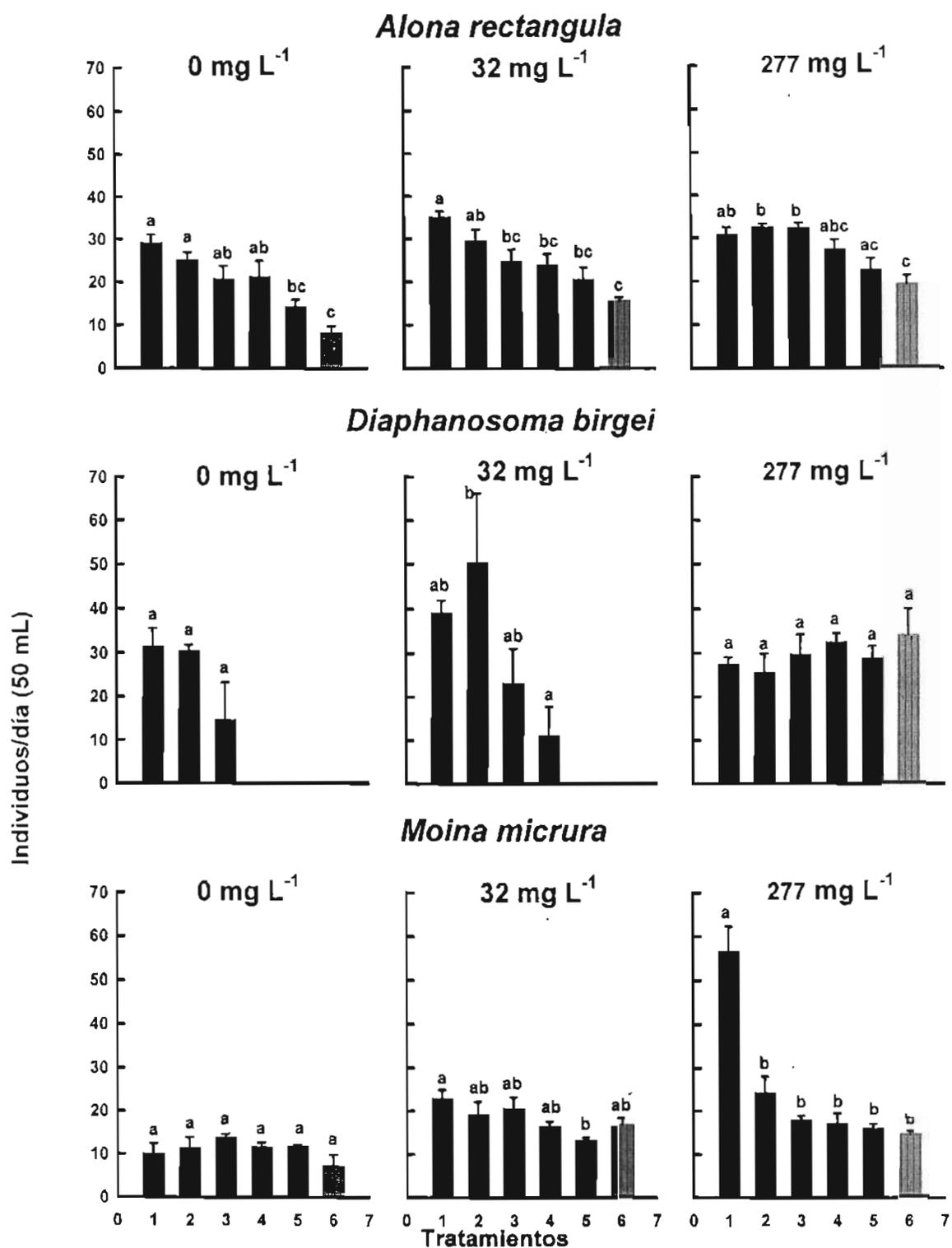


Fig. 13 - Tasa de reproducción bruta de *Alona rectangulara*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos y una concentración de 1x10<sup>6</sup> cels mL<sup>-1</sup> de *Chlorella vulgaris* como alimento. Tratamientos: *A. rectangulara*, 1 = Testigo, 2 = 0.044, 3 = 0.089, 4 = 0.178, 5 = 0.355 y 6 = 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>; *D. birgei* y *M. micrura*, 1 = Testigo, 2 = 0.02, 3 = 0.04, 4 = 0.08, 5 = 0.16, 6 = 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>.

Barras con letras diferentes denotan diferencias significativas (p < 0.05).

### Tasa de reproducción Neta

Es la tasa de reproducción de un organismo tomando en cuenta la supervivencia. En las pruebas de Tukey realizadas ( $\alpha = 0.05$ ) para *A. rectangula*, en el tratamiento sin sólidos suspendidos se encontraron dos bloques, en el primero las concentraciones de 0, 0.044, 0.089, 0.178 y 0.355 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y en el segundo las concentraciones de 0.044, 0.089, 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. En el caso de el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss se observaron también dos bloques, primero el testigo y segundo las concentraciones de 0.044, 0.089, 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss nuevamente se ven dos bloques, las concentraciones de 0, 0.044, 0.089 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> en el primero y en el segundo las concentraciones de 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Fig. 14). Se encontró que la tasa de rep. neta aumentó en la concentración más alta de ss (277 mg L<sup>-1</sup>), y se redujo significativamente por el efecto del PbCl<sub>2</sub> (Fig. 14).

*D. birgei*, en el tratamiento sin ss, presentó dos bloques, en el primero las concentraciones de 0 y 0.02 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y en el segundo las de 0.02 y 0.04 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, sin embargo, en el caso de las concentraciones de 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> los organismos no fueron capaces de reproducirse. Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss se encontraron tres bloques, primero las concentraciones de 0 y 0.02 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, luego las concentraciones de 0.02 y 0.04 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y por último las concentraciones de 0.04 y 0.08 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, nuevamente en las concentraciones de 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> los organismos no fueron capaces de reproducirse. Para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss se observaron dos bloques, en el primero las concentraciones de 0, 0.02, 0.04, 0.08 y 0.16 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y segundo en las de 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Fig. 14). Se observó que aumentó la tasa de rep. neta en la concentración más alta de ss (277 mg L<sup>-1</sup>), y se redujo significativamente por efecto del PbCl<sub>2</sub> (Fig. 14).

En el caso de *M. micrura*, en el tratamiento sin ss se apreciaron dos bloques, primero las concentraciones de 0, 0.02, 0.08 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y luego las de 0, 0.02, 0.04, 0.08 y 0.16 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss no se tienen diferencias significativas entre ninguna concentración. En el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss se tienen dos bloques, primero el testigo, y segundo las concentraciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Se apreció que aumentó la tasa de rep. neta en la concentración más alta de ss (277 mg L<sup>-1</sup>), y se redujo significativamente por el efecto del PbCl<sub>2</sub>, a excepción del tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> de ss (Fig. 14).

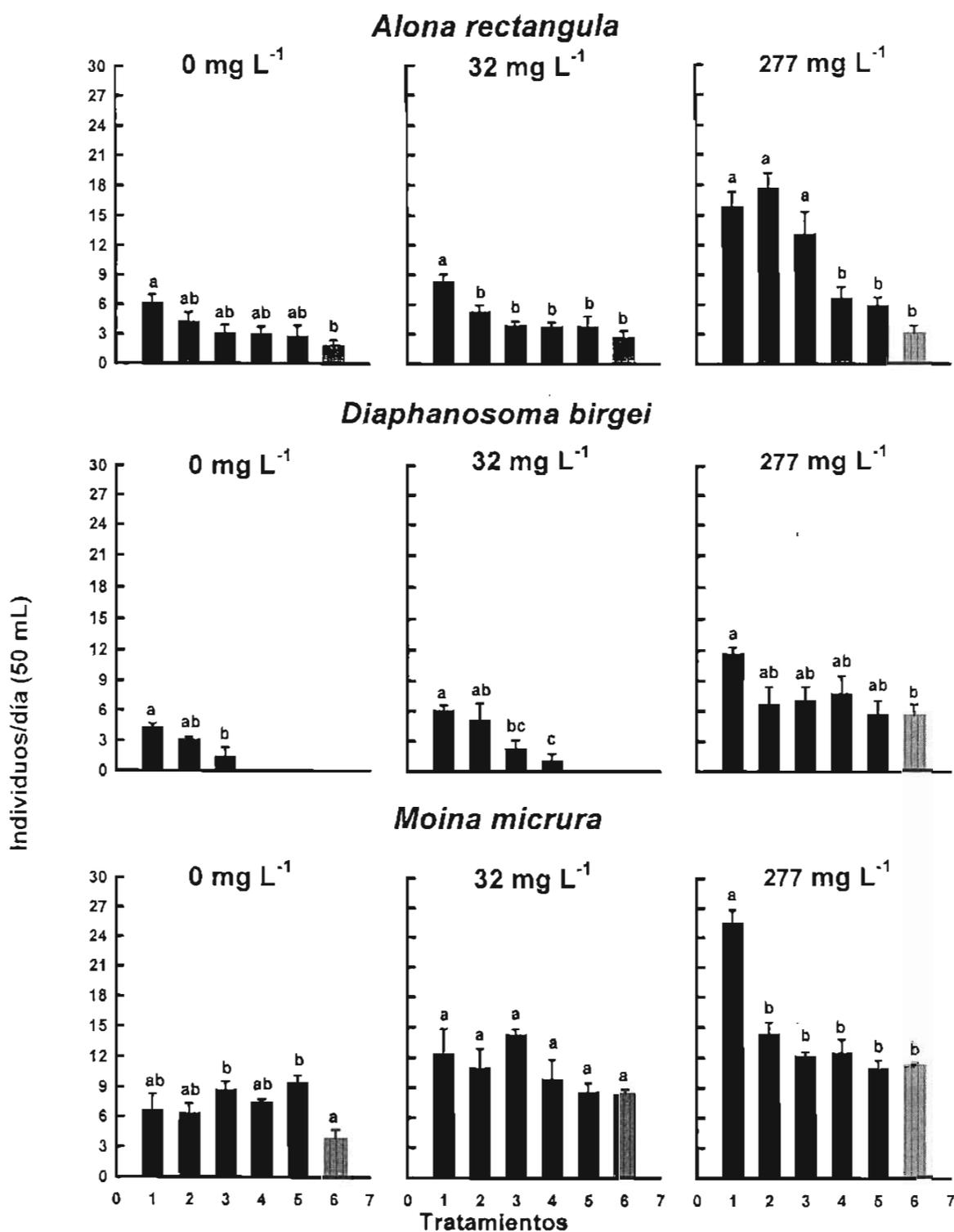


Fig. 14 - Tasa de reproducción neta de *Alona rectangula*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos y una concentración de 1x10<sup>6</sup> cels mL<sup>-1</sup> de *Chlorella vulgaris* como alimento. Tratamientos: *A. rectangula*, 1 = Testigo, 2 = 0.044, 3 = 0.089, 4 = 0.178, 5 = 0.355 y 6 = 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>; *D. birgei* y *M. micrura*, 1 = Testigo, 2 = 0.02, 3 = 0.04, 4 = 0.08, 5 = 0.16, 6 = 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Barras con letras diferentes denotan diferencias significativas (p < 0.05).

### Tiempo generacional (T)

Es el tiempo que tarda un organismo desde su nacimiento hasta su primera reproducción. En las pruebas de Tukey realizadas ( $\alpha = 0.05$ ) para *A. rectangula* se encontró que en el tratamiento sin sólidos suspendidos se obtuvieron tres bloques, el primero las concentraciones de 0, 0.044, 0.089 y 0.178 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, el segundo las concentraciones de 0, 0.089, 0.178 y 0.355 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y el tercero las de 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. En el caso de el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss se hallaron también tres bloques, las concentraciones de 0, 0.044, 0.089 y 0.178 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, segundo las de 0.044, 0.089, 0.178 y 0.355 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y finalmente las de 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss nuevamente se ven tres bloques diferentes, las concentraciones de 0, 0.044 y 0.089 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, segundo las concentraciones de 0.044, 0.089 y 0.178 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y al final las de 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Se apreció que aumentó el T, en la concentración más alta de ss (277 mg L<sup>-1</sup>), y se redujo significativamente por el efecto del PbCl<sub>2</sub> (Fig. 15).

*D. birgei*, en el tratamiento sin ss, se tienen dos bloques, en el primero las concentraciones de 0 y 0.02 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y en el segundo las de 0.02 y 0.04 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, en el caso de las concentraciones más altas (0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) los organismos no fueron capaces de reproducirse. Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss no se tuvieron diferencias significativas entre las concentraciones de 0, 0.02, 0.04 y 0.08 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, Por otra parte, los individuos en las concentraciones más altas (0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) no son capaces de reproducirse. Por último, para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss no se presentaron diferencias significativas entre ninguna concentración 0, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Se encontró que se redujo significativamente el T, por el efecto del PbCl<sub>2</sub>, excepto en el tratamiento de 277 mg L<sup>-1</sup> (Fig. 15).

En el caso de *M. micrura*, en el tratamiento sin ss se observaron dos bloques, primero las concentraciones de 0, 0.04 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y después las de 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss se encontraron diferencias significativas entre el testigo y los grupos con presencia de tóxicos (0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>). En el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss se vio lo mismo que para el tratamiento anterior, primero el testigo, y el segundo las concentraciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Fig. 15). Se observó que se redujo significativamente el T, por el efecto del PbCl<sub>2</sub> (Fig. 15).

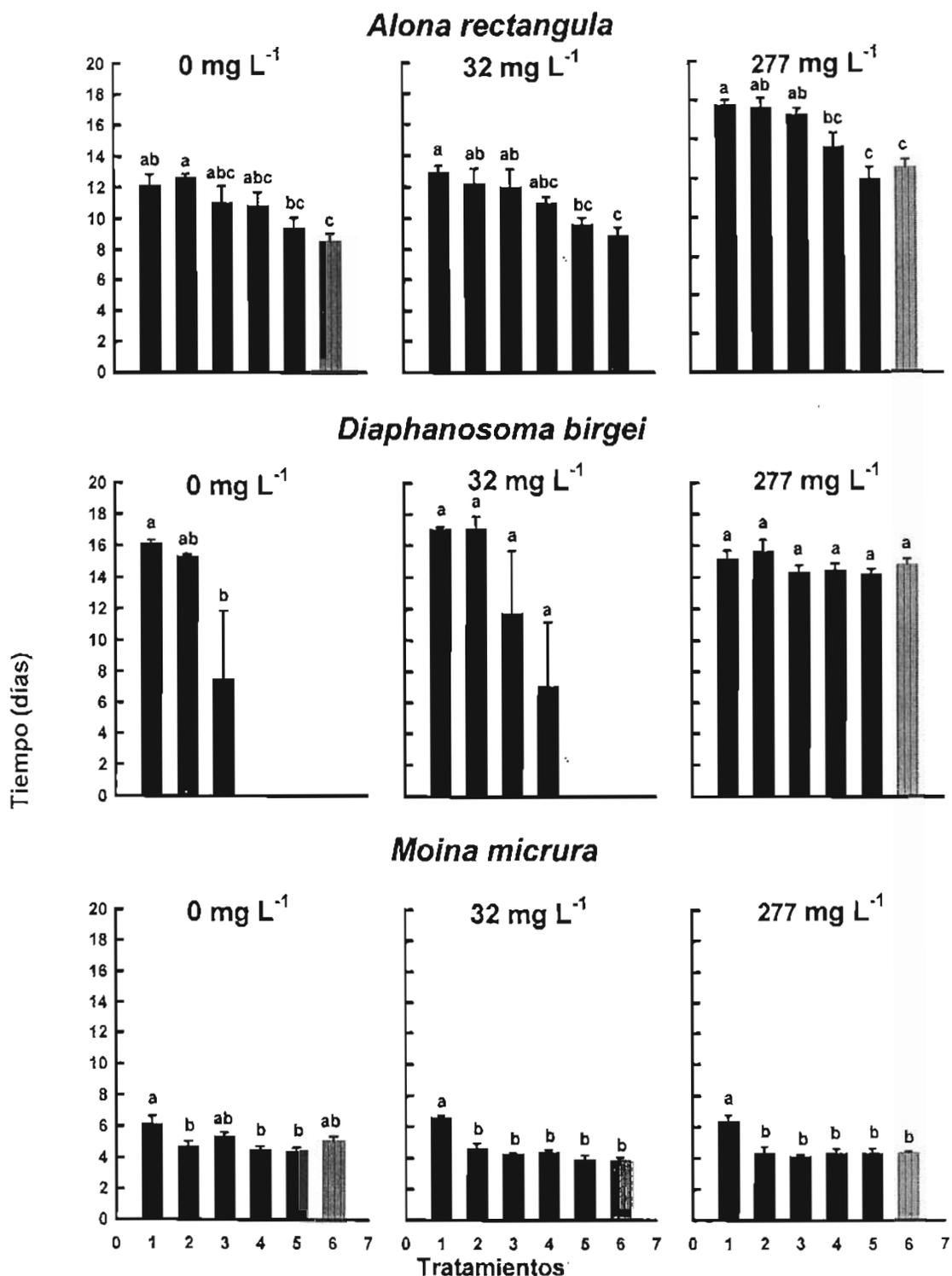


Fig. 15 - Tiempo generacional de *Alona rectangulara*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos y una concentración de 1x10<sup>6</sup> cels mL<sup>-1</sup> de *Chlorella vulgaris* como alimento. Tratamientos: *A. rectangulara*, 1 = Testigo, 2 = 0.044, 3 = 0.089, 4 = 0.178, 5 = 0.355 y 6 = 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>; *D. birgei* y *M. micrura*, 1 = Testigo, 2 = 0.02, 3 = 0.04, 4 = 0.08, 5 = 0.16, 6 = 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>.

Barras con letras diferentes denotan diferencias significativas (p < 0.05).

### Tasa de Incremento poblacional

Es la tasa a la cual los organismos incrementan su población. Según las pruebas de Tukey realizadas ( $\alpha = 0.05$ ) para *A. rectangula* en el tratamiento sin sólidos suspendidos se observaron dos bloques, en el primero las concentraciones de 0, 0.044, 0.089, 0.178 y 0.355 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y en el segundo las de 0.044, 0.089, 0.178, 0.355 y 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. En el caso del tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss no se obtuvieron diferencias significativas entre ninguna concentración de tóxico. Para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss se ven tres bloques diferentes, primero las concentraciones de 0, 0.044 y 0.089 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, segundo las de 0, 0.089, 0.178 y 0.355 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, y al final la de 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Se encontró que aumentó la tasa de incremento poblacional en la concentración más alta de ss (277 mg L<sup>-1</sup>), y se redujo significativamente por el efecto del PbCl<sub>2</sub>, excepto en el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> de ss (Fig. 16).

Para *D. birgei*, en el tratamiento sin ss, se apreciaron dos bloques, el primero con las concentraciones de 0 y 0.02 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y en el segundo las de 0.02 y 0.04 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, sin embargo, en las concentraciones más altas (0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) los organismos no fueron capaces de reproducirse. Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss, se tienen tres bloques, en el primero las concentraciones de 0 y 0.02 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, después las de 0.02 y 0.04 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y finalmente las de 0.04 y 0.08 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, por otra parte, las concentraciones de 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> tampoco fueron capaces de reproducirse. Por último, para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss no se encontraron diferencias significativas entre ninguna concentración (0, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>). Se apreció que aumentó la tasa de incremento poblacional en la concentración más alta de ss (277 mg L<sup>-1</sup>), y se redujo significativamente por el efecto del PbCl<sub>2</sub>, a excepción del tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> de ss (Fig. 16).

*M. micrura*, el tratamiento sin ss, se hallaron dos bloques, primero las concentraciones de 0, 0.04 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y después las de 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Para el tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss se observaron dos bloques, primero el testigo y segundo los grupos con presencia de tóxicos (0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>). Para el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss se obtuvo lo mismo que en el tratamiento anterior, primero el testigo, y segundo las concentraciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Se apreció que aumenta la L<sub>x</sub>, en la concentración más alta de ss (277 mg L<sup>-1</sup>), y se reduce significativamente por el efecto del PbCl<sub>2</sub>, excepto en el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> de ss (Fig. 16).

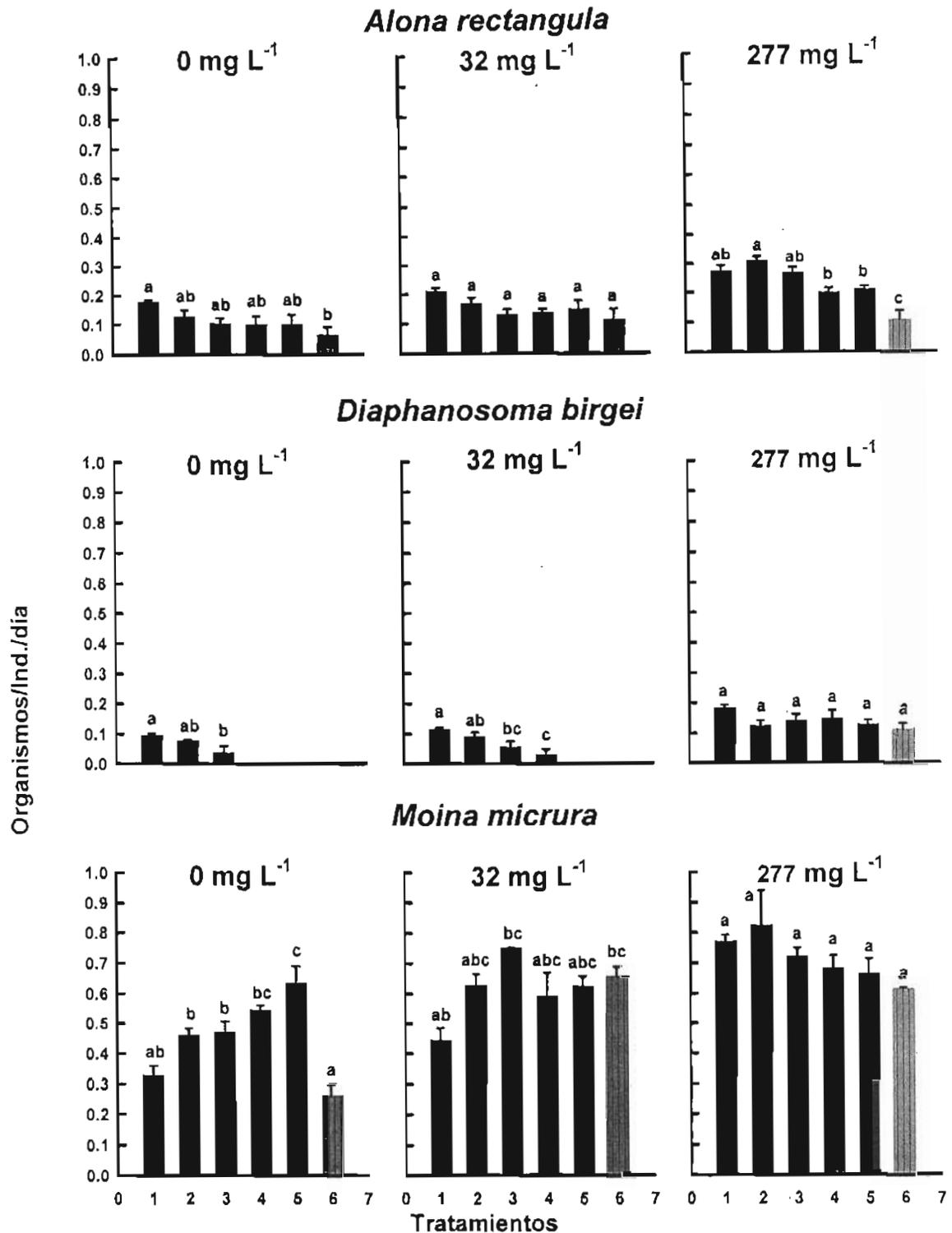


Fig. 16 - Tasa de incremento poblacional de *Alona rectangulara*, *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura* con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos y una concentración de 1x10<sup>6</sup> cels mL<sup>-1</sup> de *Chlorella vulgaris* como alimento. Tratamientos: *A. rectangulara*, 1 = Testigo, 2 = 0.044, 3 = 0.089, 4 = 0.178, 5 = 0.355 y 6 = 0.71 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>; *D. birgei* y *M. micrura*, 1 = Testigo, 2 = 0.02, 3 = 0.04, 4 = 0.08, 5 = 0.16, 6 = 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Barras con letras diferentes denotan diferencias significativas (p < 0.05).

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1 Análisis de sedimentos

En el presente trabajo se utilizaron sólidos suspendidos en un intervalo de  $<0.5-20\mu$ , similar al utilizado por Arruda *et al.* (1983), el cual además es posible observar en la naturaleza (Nakamura y Adachi, 1981). Para las especies utilizadas en el presente estudio (*A. rectangularis*, *D. birgei* y *M. micrura*), se presentaron crecimientos poblacionales hasta cuatro veces mayores en presencia de concentraciones de  $277 \text{ mg L}^{-1}$  de sólidos suspendidos, en comparación con los tratamientos a los cuales se les administraron  $32$  y  $0 \text{ mg L}^{-1}$  de sólidos en suspensión. Los resultados anteriores son contrarios a lo obtenido por Arruda *et al.* (1983), los cuales encontraron reducciones en las tasas de ingestión y asimilación del alimento de tres dafnidos (*D. pulex*, *D. parvula* y *D. similis*), en concentraciones de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de sedimentos. Las posibles causas de dicho comportamiento podría ser explicado debido a las adaptaciones del zooplancton a las aguas turbias, las cuales pueden ser las siguientes: (1) diferencias en la eficiencia de captura de partícula basado en la estructura del peine filtrador, (2) ajustes facultativos en el aparato filtrador, (3) química de la partícula y nutrición, o (4) reacción sensorial relacionada con la tasa a la cual las partículas llenan el intestino, y finalmente (5) a la capacidad de los cladóceros para la utilización de la materia orgánica disuelta adsorbida por las partículas en suspensión, proveniente de la excreción de las algas y de la alimentación del zooplancton, lo que representa un importante suplemento nutricional en conjunción con las algas (Arruda *et al.*, 1983).

En este trabajo se encontró un porcentaje del tamaño partícula de  $86.66 \%$  partículas entre  $20$  y  $2\mu$  y  $13.33 \%$  de partículas  $< 2\mu$ , predominando las partículas gruesas, lo anterior es importante, porque se ha encontrado que altas concentraciones de arcillas gruesas ( $> 1\mu$ ), causan una reducción en la tasa de crecimiento poblacional de algunas especies de cladóceros. Por otra parte, en bajas concentraciones ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) de arcillas gruesas y altas concentraciones de arcillas finas ( $< 1\mu$ ), las poblaciones no decrecieron, esto es ocasionado posiblemente porque los cladóceros no son eficientes alimentándose de tamaños de partícula menores a  $0.5\mu$ , lo que ocasiona que los cladóceros no colecten o ingieran las arcillas menores a ese tamaño, de tal forma que no se ven afectados por la presencia de las mismas (Arruda *et al.*, 1983; Kirk y Gilbert, 1990; Kirk, 1991<sup>a</sup> y 1991<sup>b</sup>).

## 8.2 PRUEBAS TOXICOLÓGICAS.

### 8.2.1 Toxicidad Aguda

Existen muy pocos trabajos ecotoxicológicos relacionados con la exposición del zooplancton al plomo, esto es muy discordante, ya que se ha observado que después del zinc, el plomo es el metal más abundante en la biosfera (Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999), por lo que es muy necesario realizar este tipo de pruebas con zooplancton, puesto que dichos organismos forman parte importante de la red trófica, constituyendo el eslabón entre los productores primarios y los consumidores secundarios (Dodson y Frey, 1991; Zou, 1997).

En nuestros bioensayos se encontró que la especie litoral es significativamente más resistente que las pelágicas a los efectos del tóxico, pues se observó que en el bioensayo de toxicidad aguda, la  $CL_{50}$  (24h) para *Alona rectangula* fue de  $7.06 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1} \pm \text{ES } 0.39$ , para *Diaphanosoma birgei* fue de  $3.16 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1} \pm \text{ES } 0.25$  y por último para *Moina micrura* fue de  $3.24 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1} \pm \text{ES } 0.69$  (concentración nominal), observándose una diferencia de aproximadamente el doble, entre la especie litoral (*A. rectangula*) y las especies pelágicas (*D. birgei* y *M. micrura*).

Lo anterior fue observado a pesar de que la especie litoral es más pequeña que las pelágicas, pero se ha encontrado que los organismos tienden a evolucionar en presencia de tóxicos, volviéndose más resistentes a ellos (Kammenga y Laskowski, 2000). Las especies litorales y bentónicas se encuentran en contacto más directo con los agentes tóxicos, porque estas especies desarrollan sus vidas cerca de los sedimentos de los cuerpos de agua, en los cuales, tienden a adherirse los metales, por lo que es donde se encuentra una mayor concentración de tóxico (Newman y Mc Intosh, 1991; Laws, 2000) y por lo tanto, es posible que sean más resistentes a la exposición de los metales que las especies pelágicas.

## 8.2.2 Toxicidad Crónica

### 8.2.2.1 Crecimiento poblacional

Aunque existe evidencia de que los sólidos suspendidos tienen un impacto negativo sobre los cladóceros y los daphnidos en particular, algunos estudios en campo revelan relaciones inversas entre las abundancias promedio de *Daphnia sp.* y su correspondencia con los niveles de turbidez en un ecosistema dado, es decir, que dichos organismos son más abundantes cuando se presentaba un fenómeno fluvial, época en la cual la turbidez es más alta, por el arrastre de sedimentos de la cuenca hacia el cuerpo de agua (Hart, 1992). Por medio de estudios realizados en laboratorio (Kirk y Gilbert, 1990), se ha encontrado una inhibición de la alimentación de daphnidos en presencia de sólidos suspendidos, esto crea una paradoja, que si realmente existe una inhibición de los sedimentos sobre los daphnidos, ya que esos estudios fueron realizados con organismos que no se encontraban en cuerpos de agua con la presencia de altas concentraciones de sólidos en suspensión. Es necesario realizar estudios con especies que se encuentren naturalmente en lagos turbios, las cuales tienen una ventaja adaptativa a la presencia de los sedimentos, ya que otros estudios demuestran que dichas especies se ven beneficiadas y posiblemente es esencial la presencia de sólidos en suspensión para el bienestar de estas especies (Robinson, 1957; Hart, 1992).

En el crecimiento poblacional de los grupos testigo (sin  $PbCl_2$ ) de *A. rectangula* y *D. birgei*, se encontró que las poblaciones crecieron cerca de tres veces más, en los tratamientos con  $277 \text{ mg L}^{-1}$  ss, en comparación con las poblaciones de los tratamientos con 0 y  $32 \text{ mg L}^{-1}$  ss (Fig. 1 y 2). Eso es similar a lo hallado por Kirk y Gilbert (1990), los cuales también siguieron la misma metodología, en cuanto al tratamiento de los sedimentos, que la utilizada en este trabajo, es decir, que eliminaron la materia orgánica de los sedimentos, y a pesar de eso, y de que no utilizaron especies de zooplancton que se encontraran en lagos con presencia de altas concentraciones de sedimentos, observaron que se incrementaban las tasas de crecimiento poblacional en presencia de sedimentos. Concluyendo que esto era posible, tal vez debido a que, los sedimentos adsorbían la materia orgánica presente proveniente de la excreción de las algas y de la alimentación del zooplancton, haciéndola disponible para su asimilación por los cladóceros, siendo esto una fuente importante de energía adicional.

Por otra parte Hart (1992), utilizó dos especies de daphnidos (*D. gibba* y *D. barbata*) y adicionalmente a dos especies de cladóceros pequeños *Diaphanosoma excisum* y *Moina micrura*, las cuales son encontradas en lagos turbios, y otras dos especies *D. pulex* y *D. laevis* las cuales son reportadas en aguas con baja turbidez mineral. Encontró un beneficio en la dinámica poblacional de las especies que se encuentran comúnmente en sitios con altas concentraciones de sólidos suspendidos, esto cuando se les mantenía en concentraciones altas de los mismos, y por el contrario, se presentaba una disminución en sus poblaciones cuando se mantenían en concentraciones bajas de sólidos, al igual que lo encontrado en este trabajo. Lo anterior es explicado debido a 3 diferencias inter-específicas que se pueden presentar en respuesta a la presencia de sedimento:

Morfológicas/estructurales.- relacionadas con el espaciamiento inter-setular de los apéndices filtradores (Geller y Müller, 1981; Brendelberger, 1986), los cuales evolucionaron volviendo a dichos organismos filtradores de partículas más grandes, para evitar o reducir la interferencia de las partículas finas en suspensión. Lo anterior se ha comprobado realizando exploraciones con microscopía electrónica, observando que el espacio inter-setular de las especies de aguas turbias son significativamente más grandes que las de las especies de aguas claras (Hart, 1992). Además, se han hallado cambios inter-poblacionales e inter-generacionales en la setulación de los apéndices filtradores en daphnidos (Koříněk y Macháček, 1980; Koza y Koříněk, 1985), ofreciendo mecanismos adicionales de respuesta a cambios en los niveles de sedimentos suspendidos a corto-termino.

De comportamiento.- La respuesta de evasión se da bajo condiciones de turbidez alta y bajos niveles de luz, lo que ocasiona que se reduzca la tasa de batido de los apéndices (Young *et al.*, 1984), y por lo tanto su tasa de alimentación. Las consecuencias de esta respuesta pueden, por tanto, ser energéticamente contraproducentes bajo condiciones limitadas de alimento (Gliwicz, 1980).

Fisiológicas.- la utilización de la materia orgánica disuelta adsorbida por las partículas en suspensión, representa un importante suplemento nutricional en conjunción con las algas y/o bacterias, proveyendo un balance nutricional total (Arruda *et al.*, 1983).

En el caso de los grupos testigo (sin  $\text{PbCl}_2$ ) de *M. micrura*, se observó un crecimiento poblacional similar en todos los tratamientos (0, 32 y 277  $\text{mg L}^{-1}$  ss) (Fig. 3). Eso también fue encontrado por Hart (1992), pero con *Diaphanosoma excisum*. En este caso tampoco encontró ninguna diferencia entre los tratamientos con sólidos suspendidos y los que carecían de ellos. Ese comportamiento puede ser ocasionado posiblemente a que estas especies de cladóceros tengan un espaciamiento inter-setular muy grande, de tal forma que no se vean afectadas positiva o negativamente por la presencia de los sedimentos. Es decir, que no puedan aprovechar la materia orgánica adherida a las partículas en suspensión, como en el caso de *Diaphanosoma birgei* y *Moina micrura* (Hart, 1992), y también que los sedimentos no interfieran en la filtración de partículas de alimento, como en el caso de algunas especies de daphnidos (Arruda *et al.*, 1983; Kirk y Gilbert, 1990; Kirk, 1991<sup>a</sup> y 1991<sup>b</sup>), por lo que no existe diferencia entre las poblaciones de los tratamientos con 0, 32 y 277  $\text{mg L}^{-1}$  de sólidos suspendidos.

En casi todos los grupos a los que se les agregó tóxico de las tres especies (*A. rectangula*, *D. birgei* y *M. micrura*), en el tratamiento con 277  $\text{mg L}^{-1}$  ss (a excepción de *A. rectangula* en la concentración más alta de  $\text{PbCl}_2$ , es decir, 0.71  $\text{mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$ ), no se encontró ningún efecto adverso del plomo sobre el crecimiento poblacional (Fig. 1, 2 y 3). Debido posiblemente a que los metales son rápidamente adsorbidos por las partículas y sedimentos de la columna de agua, ya que hay muchos posibles mecanismos para la retención de metales por el sedimento: sitios de adsorción e intercambio de cationes, sedimentación, precipitación y formación de complejos con suelo ó materia orgánica (Jenne, 1968, 1976; Hilderbrand y Blum, 1974; Fred, 1975; Florence, 1986; Faulkner y Richardson, 1990; Campbell y Tessier, 1991; Schindler, 1991; Nu Hoai *et al.*, 1998). Además, como es posible observar en la tabla 4, la concentración de sólidos en suspensión disminuye de 296 NTU en el tiempo 0 a 111 NTU después de 24h, de tal manera que algunos de los iones de plomo que son captados por los sedimentos no se mantienen disponibles para los cladóceros en la columna de agua.

Cabe resaltar que *A. rectangula* en la concentración más alta de tóxico (0.71  $\text{mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$ ), del tratamiento con 277  $\text{mg L}^{-1}$  ss, sí se observa una disminución significativa en el

crecimiento poblacional (Fig. 1), lo cual no se observa con las otras especies, en las cuales ninguna concentración utilizada de  $\text{PbCl}_2$  afecta el crecimiento de la población (Fig. 2 y 3). Esto es debido quizás a que *A. rectangula* son organismos litorales, los cuales continúan alimentándose en el fondo del recipiente (lo cual fue observado en los experimentos realizados en esta tesis), y de esta manera, los organismos se mantienen más tiempo expuestas al efecto del metal, puesto que los sólidos que se precipitan al fondo del recipiente, tienen plomo adherido a su superficie. Las otras dos especies al ser planctónicas y alimentarse en la columna de agua no presentaron el mismo efecto, puesto que los sedimentos al ser depositados evitan que los iones adheridos a ellos ocasionen un efecto negativo en las poblaciones de los cladóceros.

En los tratamientos sin adición de sólidos en suspensión, es posible observar efectos negativos en exposiciones tan bajas como  $0.044 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$  para *Alona rectangula* y  $0.02 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$  para *Moina micrura*. Esto es importante pues las concentraciones corresponden a una dilución de 1/100 con base en la  $\text{CL}_{50}$  24h obtenida, concentraciones que son consideradas como inofensivas por algunos autores, sin embargo en exposiciones crónicas estas concentraciones pueden ocasionar una disminución en el crecimiento poblacional. Además se han encontrado valores de hasta  $4 \text{ mg L}^{-1}$  de plomo en lagunas y ríos (Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999), el cual es un valor mayor en dos ordenes de magnitud, en comparación con el usado en el presente trabajo.

La  $r$  obtenida en el presente trabajo para *A. rectangula* en el grupo testigo (sin  $\text{PbCl}_2$ ) y sin sólidos en suspensión, con una concentración de  $1 \times 10^6$  cels  $\text{mL}^{-1}$  de *C. vulgaris*, fue de 0.081. Similar a lo obtenido por Nandini *et al.* (2002), los cuales obtuvieron una  $r$  de 0.070 para dos densidades de *Chlorella vulgaris* ( $0.5$  y  $2 \times 10^6$  cels  $\text{mL}^{-1}$ ). También se observó que la adición de sólidos en suspensión ocasiona una mayor  $r$ , ya que se encontraron valores más altos 0.085 y 0.11, en los grupos testigo (sin  $\text{PbCl}_2$ ) de los tratamientos con 32 y 277  $\text{mg L}^{-1}$  ss respectivamente, por lo que la presencia de sedimentos causa un aumento en la tasa de crecimiento poblacional.

Las tasas de crecimiento más altas para *A. rectangula* y *D. birgei* fueron encontradas en el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss, a diferencia de *Moina micrura*, en la cual, la tasa más alta se encuentra en el testigo del tratamiento con 0 mg L<sup>-1</sup> de sedimentos. Por otra parte, las *r* de los grupos con presencia de plomo, para todas las especies son más altas en el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> ss, esto fue observado quizás porque dichas especies, al ser organismos que se encuentran en cuerpos de agua generalmente turbios, se ven beneficiados en la presencia de los mismos. Además, los sedimentos al adsorber el metal, ocasionan que dichos iones sean menos disponibles en la columna de agua, y por tal motivo, se ven menos afectados en el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos.

### 8.2.2.2 TABLA DE VIDA

En los grupos testigo (sin PbCl<sub>2</sub>) y sin ss, se encontraron promedios de vida ( $L_x$ ) y esperanzas de vida ( $e_x$ ) para *D. birgei* de 6.65 y 6.15 respectivamente, y de 9.28 y 8.78 para *M. micrura*, pero en este caso alimentados con *C. vulgaris*, a una concentración de  $1 \times 10^6$  cels mL<sup>-1</sup>. Sipaúba-Tavares (2002) obtiene una longevidad de 14 y 5 días para *D. birgei* y *M. micrura* respectivamente, alimentados con *Ankistrodesmus gracillis*, en una concentración de 3 a  $4 \times 10^6$  cels mL<sup>-1</sup>. La diferencia entre las longevidades de *D. birgei* es alta, con una diferencia de más de 7 días, por lo que se apreció que *A. gracillis* es posiblemente un mejor alimento para dicho organismo que *C. vulgaris*, aunque en presencia de una concentración de 277 mg L<sup>-1</sup> ss, las diferencias entre las longevidades es muy baja 13.4 y 12.9 respectivamente, con aproximadamente un día de diferencia. Por tanto, tal vez lo que afecte a estos organismos, es la ausencia de sedimentos en el medio y no precisamente el tipo de alimento, puesto que los organismos fueron colectados de un cuerpo de agua turbio, con una concentración entre 512 y 285 mg L<sup>-1</sup> ss, y se ha observado que los sedimentos son necesarios para una mejor supervivencia de las especies que normalmente viven en presencia de sólidos en suspensión (Hart, 1992). En el caso del grupo testigo (sin PbCl<sub>2</sub>) de *M. micrura* se observa una diferencia de más de cuatro días menos en comparación con el presente trabajo, con un  $L_x$  y  $e_x$  de 9.28 y 8.78 días respectivamente, en este caso la  $L_x$  y  $e_x$  es un poco menor en el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup> con valores de 8.75 y 8.25 respectivamente, pero sin embargo la diferencia es significativa con una  $P < 0.001$  (Tabla 5).

El promedio de vida más alto, comparando entre las diferentes especies utilizadas fue para *A. rectangula*, seguida de *D. birgei* y por último *M. micrura*. Esto es debido a que las diferentes especies, también tienen una duración de su ciclo de vida diferente, ya que los valores obtenidos, son muy similares a los reportados por otros autores.

En las  $L_x$  y  $e_x$  de todos los tratamientos a los cuales se les administró  $PbCl_2$ , se encontró que mientras mayor era la concentración de plomo en el medio, era mayor el efecto negativo sobre las poblaciones y eso ocasionaba que el promedio de vida y la esperanza de vida disminuyeran, aunque este efecto se veía disminuido, mientras mayor era la concentración de sólidos en suspensión.

En general, las tasas de reproducción bruta más altas fueron encontradas en los tratamientos con la concentración más alta de ss ( $277 \text{ mg L}^{-1}$ ). También se observó que las tasas de reproducción bruta disminuyeron conforme disminuía la concentración de sólidos suspendidos. Hernández-Valdés (2002) obtiene algo muy similar a lo hallado en el presente trabajo, utilizando aguas de tres diferentes etapas de una planta de tratamiento como medio de cultivo. El primer tratamiento fue con agua cruda (es decir sin ningún tratamiento), el segundo del reactor biológico, el tercero del agua tratada y finalmente como condición control medio de cultivo EPA con *Chlorella vulgaris* como alimento. Encontrando las tasas de reproducción bruta y neta más altas para *Moina micrura* en el agua cruda, en comparación con un tratamiento posterior que es el agua del reactor biológico. A su vez, las tasas brutas y netas del agua del reactor biológico fueron mayores que en los grupos testigo, en los cuales se utilizó *Chlorella vulgaris* como alimento. Cabe mencionar que en el agua cruda existe una mayor concentración de sólidos inorgánicos en suspensión, los cuales disminuían entre un 80 y 90 % en las aguas del reactor biológico y no estaban presentes en los grupos con *Chlorella*, por lo que se observa que mientras disminuía la cantidad de sólidos inorgánicos en suspensión, disminuían las tasas brutas y netas de reproducción.

Las tasas de reproducción neta más altas para las tres especies, se encontraron en los grupos testigo del tratamiento con  $277 \text{ mg L}^{-1}$  de sólidos en suspensión. La tasa de reproducción

neta más alta comparando entre especies fue para *M. micrura* con 25.58, seguida por *A. rectangula* con 15.85 y por último *D. birgei* con 11.75. En este caso *A. rectangula* tuvo una mayor tasa de reproducción neta que *D. birgei*, el cual había presentado una tasa bruta más alta, por lo tanto, se observa que los neonatos de *A. rectangula* resisten más la presencia de turbidez que los neonatos de *D. birgei*.

En el caso de *D. birgei*, en las concentraciones más altas (0.08, 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), del tratamiento sin sólidos suspendidos y las de 0.16 y 0.32 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> del tratamiento con 32 mg L<sup>-1</sup> ss, no fueron capaces de reproducirse. Esto también ha sido reportado por Mangas-Ramírez *et al.* (2004), los cuales trabajaron con *Moina macrocopa*, encontrando que en las concentraciones más altas de Cloruro de Cadmio, los organismos no fueron capaces de reproducirse. Debido a que los metales producen una disminución en la tasa de filtración y en la tasa metabólica, inducen alteraciones en la ganancia neta de carbono, en el crecimiento, en la reproducción y en el rango intrínseco de incremento natural. (Michaels *et al.*, 2000; Knops *et al.*, 2001).

Se pudo apreciar que *D. birgei* es más sensible a la exposición crónica al plomo que *A. rectangula* y *M. micrura*.

Los tiempos generacionales para *A. rectangula* más largos se hallaron en los grupos testigo con 277 mg L<sup>-1</sup> ss, por lo que se observó que esa especie se ve favorecida con la presencia de sedimentos en el medio. Para *D. birgei* se encontraron los mayores tiempos en las concentraciones más bajas de tóxico (0 y 0.02 mg PbCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), de los tratamientos con 0 y 32 mg L<sup>-1</sup> ss, esto debido quizás a que en dichas concentraciones y sin la presencia de tantos sólidos suspendidos, los organismos se encuentran sometidos a un menor estrés, tardando más tiempo en reproducirse al no estar bajo una presión externa muy grande. En el caso de *M. micrura* los tiempos son muy similares entre las respectivas concentraciones de tóxico de todos los tratamientos con 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> de sólidos en suspensión. El tiempo entre generaciones más largo obtenido, comparando entre especies fue para *D. birgei* con 17.09 días, seguido por *A. rectangula* con 13.75 días, y finalmente *M. micrura* con 6.62 días.

Las tasas de incremento poblacional obtenidas para *D. birgei* fueron de 0.10, 0.12 y 0.18 organismos/individuo/día, para los grupos testigo de los tratamientos de 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> ss respectivamente, y para *M. micrura* fueron de 0.33, 0.45 y 0.77 organismos/individuo/día, para los grupos testigo de los tratamientos de 0, 32 y 277 mg L<sup>-1</sup> ss respectivamente, en ese caso, dichos organismos fueron alimentados con el alga *Chlorella vulgaris*. Sipaúba-Tavares (2002) encontró una tasa intrínseca de incremento de 0.37 y 0.50 para *D. birgei* y *M. micrura* respectivamente, en ese caso se utilizó el alga *Ankistrodermus gracillis* como alimento. Sipaúba-Tavares encontró una r de 0.37 para *D. birgei*, a diferencia del presente trabajo, en el cual la r más alta obtenida fue de 0.18. En el caso de *M. micrura* se encuentra una r mayor en este trabajo, con un valor de 0.77, en comparación con la r obtenida por Sipaúba-Tavares, la cual fue de 0.50. Comparando entre las especies, la tasa más alta fue encontrada para *M. micrura* con 0.77 organismos/individuo/día, seguido por *A. rectangula* con 0.3 y por último *D. birgei* con 0.18 en el tratamiento con 277 mg L<sup>-1</sup>.

Todos los parámetros ecológicos (promedio de vida, esperanza de vida, tasa de reproducción bruta y neta, tiempo generacional y tasa de incremento poblacional) en los grupos a los que se les administró PbCl<sub>2</sub> se ven afectados, y aumenta el efecto negativo, mientras aumenta la concentración de tóxico administrada. Esto ha sido observado porque, se ha encontrado que los metales producen una disminución en la tasa de filtración y en la tasa metabólica, entre otras actividades biológicas (Michaels *et al.*, 2000), por lo que es más difícil la obtención de alimento, ocasionando una disminución en dichos parámetros.

## CONCLUSIONES

- Los bioensayos de toxicidad aguda mostraron que, la  $CL_{50}$  más alta encontrada fue para la especie litoral *Alona rectangula* con  $7.06 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$ , y para las otras dos especies fue de  $3.16 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$  para *Diaphanosoma birgei* y  $3.24 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$  de  $\text{PbCl}_2$  para *Moina micrura*, las cuales son especies pelágicas, por lo que se observa que la especie litoral tiene una mayor resistencia a la exposición aguda al plomo.
- Se encontró que el plomo tiene un efecto negativo sobre la dinámica poblacional de los organismos utilizados para estos bioensayos.
- En los bioensayos de exposición crónica subletal, sin sólidos en suspensión, se observan efectos negativos en exposiciones tan bajas como  $0.044 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$  de  $\text{PbCl}_2$  para *Alona rectangula*,  $0.08 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$  para *Diaphanosoma birgei* y  $0.02 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$  para *Moina micrura*.
- Se pudo observar que concentraciones tan altas como  $277 \text{ mg L}^{-1}$  de sólidos en suspensión, no afectan a las poblaciones de cladóceros, y por el contrario, las poblaciones de los organismos sometidas a esta concentración, muestran un aumento en la población de hasta cuatro veces más, en comparación con los organismos que se mantuvieron libres de sedimentos.
- Se encontró que los sólidos suspendidos son capaces de disminuir el efecto negativo del plomo, ya que, en los grupos con una concentración de  $277 \text{ mg L}^{-1}$  ss, los organismos no sufrieron ningún efecto negativo apreciable, inclusive en las concentraciones más altas de tóxico empleadas para cada especie.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abel PD. 2000. Water Pollution Biology. 3<sup>rd</sup> Imp. Taylor & Francis Group.
- Arruda JA, Marzolf GR, Faulk RT. 1983. The role of suspended sediments in the nutrition of zooplankton in turbid reservoirs. *Ecology*. 64(5): 1225-1235.
- Atwell L, Hobson KA, Welch HE. 1998. Biomagnification and bioaccumulation of mercury in an arctic marine food web: insights from stable nitrogen isotope analysis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55: 1114-1121.
- Baudo R. 1987. Ecotoxicological testing with *Daphnia*. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.* 45: 461-482.
- Berglund O, Larsson P, Ewald G, Okla L. 2000. Bioaccumulation and differential partitioning of polychlorinated biphenyls in freshwater, planktonic webs. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57: 1160-1168.
- Black RW III, Slobodkin LB. 1987. What is cyclomorphosis?. *Freshw. Biol.* 18: 373-378.
- Borowitzka MA, Borowitzka LJ. 1988. Micro-algal biotechnology. Cambridge University Press, London.
- Boston HL, Hill WR, Stewart AJ. 1991. Evaluating direct toxicity and food-chain effects in aquatic systems using natural periphyton communities. *Astm. Spec. Tech. Publ., Astm.* 1115: 126-145.
- Burton GA, Jr. 1991. Assessing the toxicity of freshwater sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 10: 1585-1627.
- Brendelberger H. 1986. Filter mesh-size and retention efficiency for small particles: comparative studies with Cladocera. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 21: 135-146.
- Campbell PGC, Tessier A. 1991. Biological availability of metals in sediments: analytical approaches. 161-173pp In: Vernet J-P (Editor). Heavy metals in the environment. Elsevier, Amsterdam.
- Cañizares-Villanueva RO, Martínez-Jerónimo F, Espinosa-Chávez F. 2000. Acute toxicity to *Daphnia magna* of effluents containing Cd, Zn and a mixture Cd-Zn, after metal removal by *Chlorella vulgaris*. *Environ. Toxicol.* 15: 160-164.
- Carlisle DM. 2000. Bioenergetic food webs as a means of linking toxicological effects across scales of ecological organization. *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recov.* 7(2): 155-165.

- Carpenter S. 1988. Complex interactions in lake communities. Springer-Verlag, New York.
- Case TJ. 2000. An Illustrated guide to theoretical Ecology. Oxford University Press, Inc. USA. 1-13pp.
- Cervantes C, Moreno-Sanchez R. 1999. Contaminación ambiental por metales pesados, Impacto en los seres vivos. AGT Editor S.A., México, D.F. 1-40pp.
- Chen CY, Stemberger RS, Klaue B, Blum JD, Pickhardt PC, Folt CL. 2000. Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. *Limnol. Oceanogr.* 45(7): 1525-1536.
- Chen T, McNaught DC. 1992. Toxicity of the methylmercury to *Daphnia pulex*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 49: 606-612.
- Day KE, Maguire RJ, Milani D, Batchelor SP. 1998. Toxicity of tributyltin to four species of freshwater benthic invertebrates using spiked sediment bioassays. *Water Qual. Res. J. Can.* 33(1): 111-132.
- De Boer WJ, Den Besten PJ, Ter Braak CF. 2002. Statistical analysis of sediment toxicity by additive monotone regression splines. *Ecotoxicol.* 11: 435-450.
- De Filippis LF, Pallaghy CK. 1994. Heavy metals : sources and biological effects. 31-77pp In: LC Rai, JP Gaur, CJ Soeder. Advances in limnology series: algae and water pollution. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- De Gregori H, Pinochet HC, Arancibia MJ, Vidal AB. 1996. Grain size effect on trace metals distribution in sediments from two coastal areas of Chile. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57: 163-170.
- Dekker T, Krips OE, Admiraal W. 2002. Life history changes in the benthic cladoceran *Chydorus piger* induced by low concentrations of sediment-bound cadmium. *Aquatic Toxicol.* 56(2): 93-101.
- De la Lanza EG, García CJL. 2002. Lagos y presas de México. AGT Editor S.A., México, D.F. 680pp.
- Dodson SI. 1988. The ecological role of chemical stimuli for the zooplankton: predator-avoidance behavior in *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.* 33: 1431-1439.
- Dodson SI. 1989. Predator-induced reaction norms. *Bioscience.* 39: 447-452.

- Dodson SI, Frey DG. 1991. Cladocera and other Branchiopoda. Ecology and Classification of North American freshwater invertebrates. Academic Press. Inc., USA. 723-786pp.
- Dumont HJ. 1987. Groundwater Cladocera: a synopsis. *Hidrobiol.* 100: 3-45.
- Edmonson WT. 1987. *Daphnia* in experimental ecology: notes on historical perspectives. 45: 11-30pp In: RH Peters and R de Bernardi (Editors). "Daphnia". Memorie dell' Instituto Italiano di Idrobiologia.
- Elnabarawy MT, Welter AN, Robideau RR. 1986. Relative sensitivity of three Daphnid species to selected organic and inorganic chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.* 5: 393-398.
- Engle DL. 1985. The production of hemoglobin by small pond *Daphnia pulex*; intraspecific variation and its relation to habitat. *freshw. Biol.* 15: 631-638.
- Enserink EL, Mass-Diepeveen JL, Van Leeuwen CJ. 1991. Combined effects of metals; an ecotoxicological evaluation. *Water Res.* 25(6): 679-687.
- EPA. 1991. Technical support document for water quality-based toxic control: Office of Water Enforcement and Permits, Office of Water Regulations and Standards, U.S. Environmental Protection Agency: Washington, DC 20460.
- EPA. 1999. National Recommended Water Quality Criteria – Correction. EPA 822-Z-99-001. Environmental protection Agency, Washington, DC. 25pp.
- Fargasova A. 1994. Toxicity of metals of *Daphnia magna* and *Tubifex tubifex*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 27: 210-213.
- Faulkner SP, Richardson CJ. 1990. Physical and chemical characteristics of freshwater wetlands soils. 41-72pp In: DA Hammer (Editor). Constructed wetlands for wastewater treatment: Municipal, industrial and agricultural. Lewis, USA.
- Finney DJ. 1971. Probit Analysis. 3<sup>rd</sup> Ed. Cambridge University Press. 333pp.
- Fitz P. 1985. Suelos: Su formación, clasificación y distribución. CECSA. 118pp.
- Florence TM. 1986. Electrochemical approach to trace element speciation in waters: a review. *Analyst London.* 111: 489-505.
- Fred LG. 1975. Role of hydrous metal oxides in the transport of heavy metals in the environment. 137-147pp In: PA Krenkel (Editor). Heavy metals in the aquatic environment. Pergamon, Oxford.

- Fretwell SJ. 1987. Food chain dynamics: the central theory of ecology?. *Oikos*. 50: 291-301.
- Frey DG. 1988. Separation of *Pleuroxus laevis* Sars 1961, from two resembling species in North America: *Pleuroxus straminius* Birge, 1879 and *P. chiangi* n. sp. (Cladocera, Chydoridae). *Can. J. Zool.* 66: 2534-2563.
- Gabriel W, Taylor BE, Kirsch-Prokosh S. 1987. Cladoceran birth and death rates estimates: experimental comparisons of egg-ratio methods. *Freshw. Biol.* 18: 361-372.
- García GG, Nandini S, Sarma SSS. 2004. Effect of cadmium in a Population Dynamics of *Moina macrocopa* and *Macrothrix triserialis* (Cladocera). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 72: 717- 724.
- Geller W, Müller H. 1981. The filtration apparatus of Cladocera: filter mesh-sizes and their implications on food selectivity. *Oecol.* 49: 316-321.
- Gliwicz ZM. 1980. Filtering rates, food size selection, and feeding rates in cladocerans – another aspect of interspecific competition in filter-feeding zooplankton. 282-291pp In Kerfoot WC (Editor), *Evolution and Ecology Zooplankton Communities*. University press of New England, Hanover, NH.
- Gonzalez F, Silva M, Schalscha E, Alay F. 1998. Cadmium and lead in trophic marine Chain. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60: 112-118.
- Hart RC. 1988. Zooplankton feeding rates in relation to suspended sediment content: potential influences on community structure in a turbid reservoir. *Freshw. Biol.* 19: 123-139.
- Hart RC. 1992. Experimental studies of food and suspended sediment effects on growth and reproduction of six planktonic cladocerans. *J. plankt. res.* 10: 1425-1448.
- Hebert PDN. 1988. The comparative evidence. 175-196pp In: SC Stearns (Editor). *The evolution of sex and its consequences*. Birkhauser, Boston, Massachusetts.
- Hernández-Valdéz M. 2002. Estudio de la capacidad de aprovechamiento de aguas residuales como medio de cultivo para las especies *Moina macrocopa*, *Daphnia pulex*, *Ceriodaphnia dubia* y *Alona rectangula* (Cladocera) por medio de un estudio demográfico de tablas de vida. Tesis de licenciatura. UNAM FES-Iztacala, México. 77pp.

- Hilderbrand EE, Blum WE. 1974. Lead fixation by iron oxides. *Naturwissenschaften*. 61: 169-170.
- Hutchinson GE. 1967. *Tratado de Limnología*. Wiley, New York.
- Jacobs J. 1987. Cyclomorphosis in *Daphnia*. 45: 325-352pp In: RH Peters and R de Bernardi (Editors). "Daphnia". *Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia*.
- Jenne EA. 1968. Controls on Mn, Fe, Co, Ni, Cu and Zn concentrations in soils and water: the significant role of hydrous Mn and Fe-oxide. *Adv. Chem. Ser.* 73: 337-387.
- Jenne EA. 1976. Trace element sorption by sediments and soils-sites and processes. 425-553pp In: W Chapbell and K Pettersen (Editors). *Symposium on molybdenum*, vol. 2. Marcel Dekker, New York.
- Kammenga J, Laskowski R. 2000. *Demography in Ecotoxicology*. John Wiley & sons, Ltd. England. 127-211pp.
- Khargarot BS, Ray PK. 1989. The confirmation of a mammalian poison classification using a water flea (*Daphnia magna*) screening method. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 18: 109-20.
- Kirk KL, Gilbert JJ. 1990. Suspended clay and the population dynamics of planktonic rotifers and cladocerans. *Ecology*. 71(5): 1741-1755.
- Kirk KL. 1991<sup>a</sup>. Suspended clay reduces *Daphnia* feeding rate: behavioral mechanisms. *Freshw. Biol.* 25: 357-365.
- Kirk KL. 1991<sup>b</sup>. Inorganic particles alter competition in grazing plankton: The role of selective feeding. *Ecology*. 72(3): 915-923.
- Klerks LP, Lentz AS. 1998. Resistance to lead and zinc in the western mosquitofish *Gambusia affinis* inhabiting contaminated Bayou Trepagnier. *Ecotoxicol.* 7: 11-17.
- Knops M, Altenburger R, Senger H. 2001. Alterations of physiological energetics, growth and reproduction of *Daphnia magna* under toxicant stress. *Aquat. Toxicol.* 53: 79-90.
- Kokkinn MJ, Williams WD. 1987. Is ephippial morphology a useful taxonomic descriptor in the Cladocera? An examination based on a study of *Daphniopsis* (Daphniidae) from Australian salt lakes. *Hydrobiol.* 145. 67-73.
- Koříněk V, Macháček J. 1980. Filtering structures of Cladocera and their ecological significance. I. *Daphnia pulicaria*. *Vestn. Cesk. spool. Zool.* 44: 213-218.

- Koza V, Koříněk V. 1985. Adaptability of the filtration screen in *Daphnia*: Another answer to the selective pressure of the environment. *Arch. Hydrbiol. Beih.* 21: 193-198.
- Krebs CJ. 1985. Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance. 3<sup>rd</sup> ed. Harper & Row, New York.
- Laws AE. 2000. Aquatic Pollution. 2<sup>a</sup> ed., John Wiley & sons, Inc., USA. 369-431pp.
- Lane TW, Morel FMM. 2000. A biological function for cadmium in marine diatoms. *PNAS.* 97: 4627- 4631.
- Lampert W. 1987a. Vertical migration of freshwater zooplankton: indirect effects of vertebrates predators in algal communities. 291-299pp In: WC Kerfoot and A Sih, (Editors). Predation: direct and indirect impacts on aquatic communities. University Press of New England, Hanover, New Hampshire.
- Lampert W. 1987b. Feeding and nutrition in *Daphnia*. 45: 143-192p In: RH Peters and R de Bernardi (Editors). "*Daphnia*". Memorie dell' Instituto Italiano di Idrobiologia.
- Lewis WM. 1996. Tropical lakes: how latitude makes a difference. *Perspect. Trop. Limnol.* 43-64.
- Lynch M. 1989. The life history consequences of resource depression in *Daphnia pulex*. *Ecology.* 70: 246-256.
- Mangas-Ramírez E, Sarma SSS, Nandini S. 2002. Combined Effects of Algal (*Chlorella vulgaris*) Density and Ammonia Concentration on the Population Dynamics of *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa* (Cladocera). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 51: 216–222.
- Mangas-Ramírez E, Sarma SSS, Nandini S. 2004. Recovery patterns of *Moina macrocopa* exposed previously to different concentrations of cadmium and methyl parathion: life-table demography and population growth studies. *Hydrobiol.* 526: 255-265.
- McQueen DJJR, Mills EL. 1986. Trophic relationship in freshwater pelagic ecosystems. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43: 1571-1581.
- Michaels E, Semsari S, Bin C, De Meester L. 2000. Effect of sublethal doses of cadmium on the phototactic behavior of *Daphnia magna*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 47: 261-265.
- Montague K, Montague P. 1971. Mercury. Sierra club, San Francisco. 158pp.

- Nandini S, Muro-Cruz G, Sarma SSS. 2002. Competition Between Littoral Cladocerans *Macrothrix triserialis* and *Alona rectangula* (Cladocera) in Relation to Algal Food Level and Inoculation Density. *Acta hydrochim. hydrobiol.* 30(1): 1-8.
- Nakamura S, Adachi S. 1981. Temporal and spatial distributions of turbidity and gradings of turbidity materials in reservoirs. 1344-1351pp In: HG Stefan (Editor), *Proceedings of the symposium on surface water impoundments*. American Society of civil Engineers. New York, New York, USA.
- Negrea S, Botnariuc N, Dumont HJ. 1999. Phylogeny, evolution and classification of the Branchiopoda (Crustacea). *Hydrobiologia.* 412: 191-212.
- Newman M, McIntosh A. 1991. Trace metals in freshwater sediments: A review of the literature and assessment of research needs. Edit Board, USA. 243-260pp.
- Nu Hoai VN, Farrah HE, Lawrance GA, Orru GL. 1998. Efficiency of a small artificial wetland with an industrial urban catchment. *Sci. Tot. Environ.* 214: 221-237.
- Pereira AMM, Soares AMVM, Goncalves F, Ribeiro R. 2000. Water-column, sediment, and *in situ* chronic Bioassays with cladocerans. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 47: 27-38.
- Peters RH. 1987. *Daphnia* culture. 45: 483-495pp In: RH Peters and R de Bernardi (Editors). "*Daphnia*". Memorie dell' Instituto Italiano di Idrobiologia.
- Petrusek A. 2002. *Moina* (Crustacea: Anomopoda, Moinidae) in the Czech Republic: a review. *Acta Soc. Zool. Bohem.* 66: 213-220.
- Ringelberg J. 1987. Light induced behavior in *Daphnia*. 45: 285-323pp In: RH Peters and R de Bernardi (Editors). "*Daphnia*". Memorie dell' Instituto Italiano di Idrobiologia.
- Robinson M. 1957. The effects of suspended materials on the reproductive rate of *Daphnia magna*. *Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Texas.* 4: 265-277.
- Rodier J. 1981. Análisis de las aguas. Ed. Omega, Barcelona. 1059pp.
- Ruppert EE, Barnes RD. 1996. Zoología de los invertebrados. 6<sup>a</sup> ed., McGraw-Hill, México. 757-762pp.
- Sacherová V, Hebert PDN. 2003. The evolutionary history of the Chydoridae (Crustacea: Cladocera). *Biol. J. Linnean Soc.* 79: 629-643.
- Sampaio EV, Rocha O, Matsumura-Tundisi T, Tundisi JG. 2002. Composition and abundance of zooplankton in the limnetic zone of seven reservoirs of the Paranapanema river, Brazil. *Braz. J. Biol.* 62(3): 525-545.

- Schindler PW. 1991. The regulation of heavy metal concentrations in natural aquatic systems. 95-113pp In: JP Vernet (Editor). Heavy metals in the environment. Elsevier, Amsterdam.
- Scholtz S, Seaman MT, Pieterse JH. 1988. Effects of turbidity on life history parameters of two species of *Daphnia*. *Freshw. Biol.* 20: 177-184.
- Selby DA, Ihnat JM, Messer JJ. 1985. Effects of Sub-acute Cadmium Exposure on a Hardwater Mountain Stream Microcosm. *Wat. Res.* 19(5): 645-655.
- Sibley PK, Legler J, Dixon DG, Barton, DR. 1997. Environmental health assessment of the benthic habitat adjacent to a pulp mill discharge. I. Acute and chronic toxicity of sediments to benthic macroinvertebrates. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 32(3): 274-284.
- Sipaúba-Tabares LH, Bachion MA. 2002. Population growth and development of two species of cladocera, *Moina micrura* and *Diaphanosoma birgei*, in laboratory. *Brs. J. Biol.* 62(4A): 701-711.
- Sokal RR, Rolhf FJ. 1995. Biometry. 3<sup>rd</sup> Ed. W.H. Freeman and Company, USA. 451-554p.
- Stemmer BL, Burton GA, Jr, Leibfritz-Frederick S. 1990. Effect of sediment test variables on selenium toxicity to *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.* 9:381-389.
- Taylor BE. 1988. Analyzing population dynamics of zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 33: 1266-1273.
- Tessier AJ, Goulden CE. 1987. Cladoceran juvenile growth: implications for competitive ability. *limnol Oceanogr.* 32: 680-685.
- Threlkeld ST. 1987. *Daphnia* population fluctuations: patterns and mechanisms. 45: 367-388pp In: RH Peters and R de Bernardi (Editors). "*Daphnia*". Memorie dell' Instituto Italiano di Idrobiologia.
- Young S, Taylor VA, Watts E. 1984. Visual factors in *Daphnia* feeding. *Limnol. Oceanogr.* 29: 1300- 1308.
- Zar JH. 1984. Biostatistical Analysis. 2<sup>d</sup> Ed. Prentice-Hall Inc. New Jersey.
- Zou E. 1997. Effects of sublethal exposure to zinc chloride on the reproduction of the water flea, *Moina irrasa* (Cladocera). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 58: 437-441.

## Anexo 1. Medio de Cultivo Bold Basal

La preparación del medio se basó en la propuesta de

1.- NaNO <sub>3</sub>	250 gr L <sup>-1</sup>
2.- MgSO <sub>4</sub>	75 gr L <sup>-1</sup>
3.- K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	75 gr L <sup>-1</sup>
4.- KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	75 gr L <sup>-1</sup>
5.- NaCl	25 gr L <sup>-1</sup>
6.- EDTA	50 gr + 31 gr de KOH L <sup>-1</sup>
7.- FeSO <sub>4</sub>	4.98 gr L <sup>-1</sup> + (1 mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> L <sup>-1</sup> )
8.- H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	11.42 gr L <sup>-1</sup>
9.- CaCl <sub>2</sub>	25 gr L <sup>-1</sup>
10.- Elementos Traza:	
a) ZnSO <sub>4</sub>	8.82 gr L <sup>-1</sup>
b) MnCl <sub>2</sub>	1.44 gr L <sup>-1</sup>
c) MoO <sub>3</sub>	0.71 gr L <sup>-1</sup>
d) CuSO <sub>4</sub>	1.75 gr L <sup>-1</sup>
e) Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.49 gr L <sup>-1</sup>

Para el cultivo de *Chlorella vulgaris* en 10 botellas de 2 L de capacidad (las tapas deben de tener dos perforaciones) es necesario preparar una solución tomando 30 mL de cada uno de los diferentes nutrientes antes preparados (NaNO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaCl, EDTA, FeSO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub> y elementos traza). De aquí se toman 30 mL y se transfieren a cada botella.

Agregar 1.8 L de agua destilada a cada una de las botellas.

Adicionar 5 o 10 mL de cultivo puro de *Chlorella vulgaris* (el cual debe ser examinado al microscopio para verificar que no se encuentre contaminado con ciliados, flagelados u otra especie de algas) a cada botella.

Adicionar 0.5 mL de bicarbonato de sodio a cada botella cada dos días.

Colocar el dispositivo de aireación (tubo de vidrio y manguera) y Finalmente mantener en condiciones de luz constante.

## ANEXO 2- Cuantificación real de Plomo

Para las mediciones reales de plomo se prepararon seis frascos de plástico, lavados con etanol al 2 %, enjuagados con agua destilada, mantenidos durante 24h en Ác. nítrico al 5 % (para eliminar los residuos de metales que pudieran tener), enjuagados nuevamente con agua destilada y finalmente se dejaron secar. A tres frascos se les agregaron 15 mL de EPA y con una concentración de  $0.5 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$ . Los otros tres se les agregaron 15 mL de medio EPA. A cada una de las muestras se les agregó 0.3 mL de Ác. nítrico, para que cada muestra tuviera Ác. nítrico al 2 % (para evitar que los metales se depositen en las paredes o el fondo de los frascos). Las muestras fueron analizadas por medio de espectroscopia atómica, con un equipo ICP-OES (inductively coupled plasma optical emission spectroscopy), marca Perkin Elmer.

La concentración encontrada en la solución EPA fue de  $0.025 \text{ mg L}^{-1}$  de plomo.

La concentración real de plomo obtenida para una concentración nominal de  $0.5 \text{ mg PbCl}_2 \text{ L}^{-1}$ , fue de  $0.532 \text{ mg L}^{-1}$  de plomo. Esto significa que existe una diferencia de 1.4 % entre las concentraciones nominales y las reales.

## ANEXO 4- Presentaciones en congresos derivadas del presente trabajo.

A continuación se presenta la información derivada a partir del presente estudio de tesis de Maestría presentada en congresos.

Autores	Título de la ponencia	Congreso (Lugar y fecha)	Tipo de participación
García-García G. S. Nandini y S.S.S. Sarma	Efecto de la turbidez y el metal pesado plomo sobre la dinámica poblacional de <i>Moina micrura</i> y <i>Alona rectangular</i> (Cladóceras).	Simposio de Biología acuática en Honor al Dr. Henry J. Dumont. Universidad Autónoma de Aguascalientes, 2003.	Oral
García-García G. S. Nandini y S.S.S. Sarma	Efecto de la turbidez y plomo sobre las características poblacionales de <i>Alona rectangular</i> (Cladóceras).	1 <sup>er</sup> Congreso de la Asociación Mesoamericana de Ecotoxicología y Química Ambiental. Jiutepec, Morelos, 2004.	Oral

## Effect of Cadmium on the Population Dynamics of *Moina macrocopa* and *Macrothrix triserialis* (Cladocera)

G. G. García,<sup>1</sup> S. Nandini,<sup>1</sup> S. S. S. Sarma<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Division of Research and Postgraduate Studies, National Autonomous University of Mexico, Campus Iztacala, AP 314, CP 54000, Los Reyes, Tlalnepantla, State of Mexico, Mexico

<sup>2</sup> Laboratory of Aquatic Zoology, Division of Research and Postgraduate Studies, National Autonomous University of Mexico, Campus Iztacala, AP 314, CP 54000, Los Reyes, Tlalnepantla, State of Mexico, Mexico

Received: 4 June 2003/Accepted: 5 January 2004

Among different heavy metals, cadmium enters the atmosphere through natural processes such as weathering and volcanic emissions and is then deposited by precipitation into waterbodies. Cadmium is taken up by bacteria, phytoplankton, zooplankton and fish directly or through the food chain. Single-celled green algae such as *Chlorella* concentrate cadmium in the cells by both adsorption and active uptake (Cañizares-Villanueva et al. 2000). Zooplankton also accumulate significant levels of Cd<sup>+2</sup> as has been shown in *Daphnia galeata* (Parker et al. 1982).

Both acute and chronic toxicity tests are essential for a better understanding of the response of organisms to toxicants. Zooplankton, particularly rotifers and cladocerans, are useful for these tests since they are not only sensitive to metal stress, but also due to their wide distribution, easy to maintain under laboratory conditions, parthenogenetic life cycle ensuring the supply of several individuals with little genetic variability and relatively higher population growth rates (Halbach et al. 1983). Among several biological variables, population growth characteristics serve as sensitive indicators of toxic stress in zooplankton (Forbes and Calow 1999). For ecotoxicological testing *Daphnia magna* is used worldwide (Koivistio 1995). However, its distribution is mostly restricted to North America and Europe (Thorpe and Covich 2001). In tropical countries, therefore, it is prudent to use locally available cladocerans, such as *Daphnia pulex*, and various members of the genera *Moina* and *Ceriodaphnia* (Mangas-Ramírez et al. 2002). *Moina macrocopa* is particularly useful in this regard since it has a wide distribution, high growth rates and can reach high densities at 25° to 30°C, common in tropical waterbodies. In this study we evaluated the acute and the chronic toxicity of cadmium to the two tropical cladocerans (*Moina macrocopa* Goulden, a planktonic species and *Macrothrix triserialis* Brady, a littoral species) at two food levels.

### MATERIALS AND METHODS

*M. triserialis* and *M. macrocopa* originally isolated from a small pond in Vera Cruz and the Manuel Avila Camacho Reservoir, Puebla (Mexico), respectively, were cultured separately starting with a single female using EPA medium and on a diet of *Chlorella vulgaris* at 1X10<sup>6</sup> cells/mL. The EPA medium was prepared by

Correspondence to: S. Nandini

dissolving 96 mg NaHCO<sub>3</sub>, 60 mg CaSO<sub>4</sub>, 60 mg MgSO<sub>4</sub> and 4 mg KCl in one litre of distilled water (Anon. 1985). *Chlorella* was maintained on Bold's basal medium (Borowitzka and Borowitzka 1988). Log phase alga was centrifuged, resuspended in distilled water and stored in at 4°C until use. This stock alga was quantified using a haemocytometer. For experiments and the stock cultures, the containers we maintained at 23±2°C, pH 7.5, continuous but diffused fluorescent illumination. We used alga of no more than 3 day old for the experiments.

Based on a preliminary range finding test, we selected six final concentrations (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 and 1.6 mg/L of CdCl<sub>2</sub>) to determine the LC<sub>50</sub> of the heavy metal for each of the two species. We prepared the toxicant solutions using EPA medium. At each concentration and for each species we set up three replicates. Exactly 20 individuals of 24±2h old were introduced into each test jar containing 20 ml medium of specified heavy metal concentration (but without algal food) using a Pasteur pipette. After 24h, we counted the number of dead individuals from each test jar. The mortality data were subjected to the standard analysis to derive LC<sub>50</sub> (Finney 1971). Based on the LC<sub>50</sub>, we selected seven Cd<sup>+2</sup> levels (prepared through serial dilution from a stock solution of 5 mg/L) for the chronic toxicity tests. These were: 0 (=control), 0.005, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08 and 0.16 mg/L for *M. triserialis* and 0.0106, 0.0212, 0.0425, 0.085, 0.17 and 0.34 mg/L of CdCl<sub>2</sub> for *M. macrocopa*. We studied the heavy metal toxicity at low (0.5 X 10<sup>6</sup> cells/mL) and high (2.0X 10<sup>6</sup> cells/mL) *Chlorella* levels. Experiments were conducted in 100 ml glass beakers containing 50 ml of the medium with chosen Cd<sup>+2</sup> concentration and *Chlorella* density. Into each of 84 test vessels (2 test species X 7 test concentrations (including controls) X 2 food levels X 3 replicates) we introduced 20 individuals (mixed age group) of one of the two cladoceran species. Following initiation of population growth experiments, every 24h we counted the numbers of living cladocerans alive in each replicate and transferred them to a fresh medium with appropriate levels of *Chlorella* and Cd<sup>+2</sup>. The experiments were terminated after a declining trend was observed in most of the test populations, which was 31 days for *M. triserialis* and 15 days for *M. macrocopa*.

The population growth rate (*r*) was calculated following the exponential growth equation (Krebs, 1985):  $r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$ , where *N*<sub>0</sub> and *N*<sub>t</sub> are the initial and final population densities and *t* is time in days. The *r* and the peak population densities were analysed for statistical significance (Two – way ANOVA and Tukey's tests) following Sokal and Rohlf (2000).

## RESULTS AND DISCUSSION

Data on median lethal concentration of Cd<sup>+2</sup> showed that *M. triserialis* was more sensitive than *M. macrocopa* (Table 1). Population growth of *M. triserialis* was affected by both the food availability and the toxicant concentration (Figure 1). *M. triserialis* showed decreased population growth with increasing CdCl<sub>2</sub> concentration in the medium. The effect of greater food availability in mitigating the adverse effect of the toxicant was evident from the fact that under higher Cd<sup>+2</sup> (0.16 mg/L) level, the population survived for a longer period of time at 2X10<sup>6</sup> than that at 0.5X10<sup>6</sup> cells/mL of *Chlorella*.

**Table 1.** Median lethal concentration of CdCl<sub>2</sub> for *M. macrocopa* and *M. triserialis* in the absence of food. Bioassayed at 24h. Nominal concentrations were used.

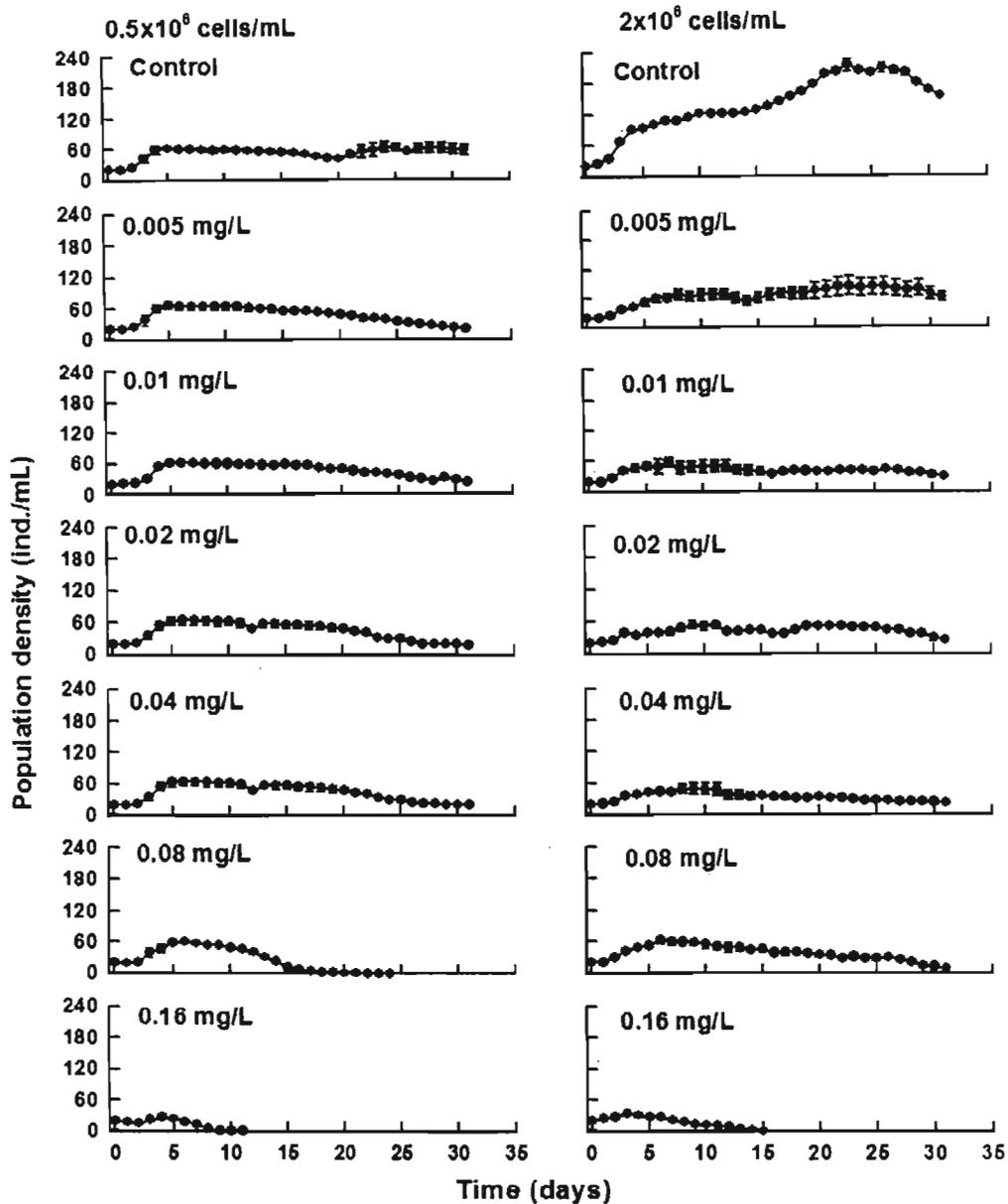
Cladoceran species	CdCl <sub>2</sub> concentration (mg/L) (Mean±SE)
<i>M. macrocopa</i>	0.68±0.001
<i>M. triserialis</i>	0.42±0.002

In *Moina macrocopa* higher algal level not only contributed to higher peak population densities but also a greater resistance to Cd<sup>2+</sup> toxicity (Figure 2). At a cadmium concentration of 0.085 mg/L, at the high food level, the population increased to 100 individuals but at the low algal density the population gradually declined. However, at both food levels, the population eventually crashed to zero by day 8. While *M. triserialis* still had the growth rate of >0.01 at cadmium level as high as 0.16 mg/L, *M. macrocopa* completely declined in less than four days and with a negative *r* under similar conditions (Figure 3). The peak population density was reached earlier under cadmium stress than in the controls in most treatments for both the test species. Peak population densities in *M. triserialis* were observed at day 5 at the lower food level but around day 10 at the higher food level, which ultimately resulted in a pronounced adverse effect of the toxicant in terms of growth rates.

Statistically, there was a significant impact of both food level and heavy metal concentration on the peak population density of the two cladoceran species ( $p < 0.001$ , 2-way ANOVA). Post-hoc analysis showed that the time taken to reach the peak population density was significantly affected for *M. macrocopa* at  $2 \times 10^6$  cells/mL of *Chlorella* ( $p < 0.05$ , Tukey's test). An *a-posteriori* analysis of the population growth rate of both the cladocerans showed that at the highest toxicant levels (0.16 - 0.34 mg/L), there was a significant decrease as compared to the controls or to the lower toxicant levels ( $p < 0.05$ , Tukey's test).

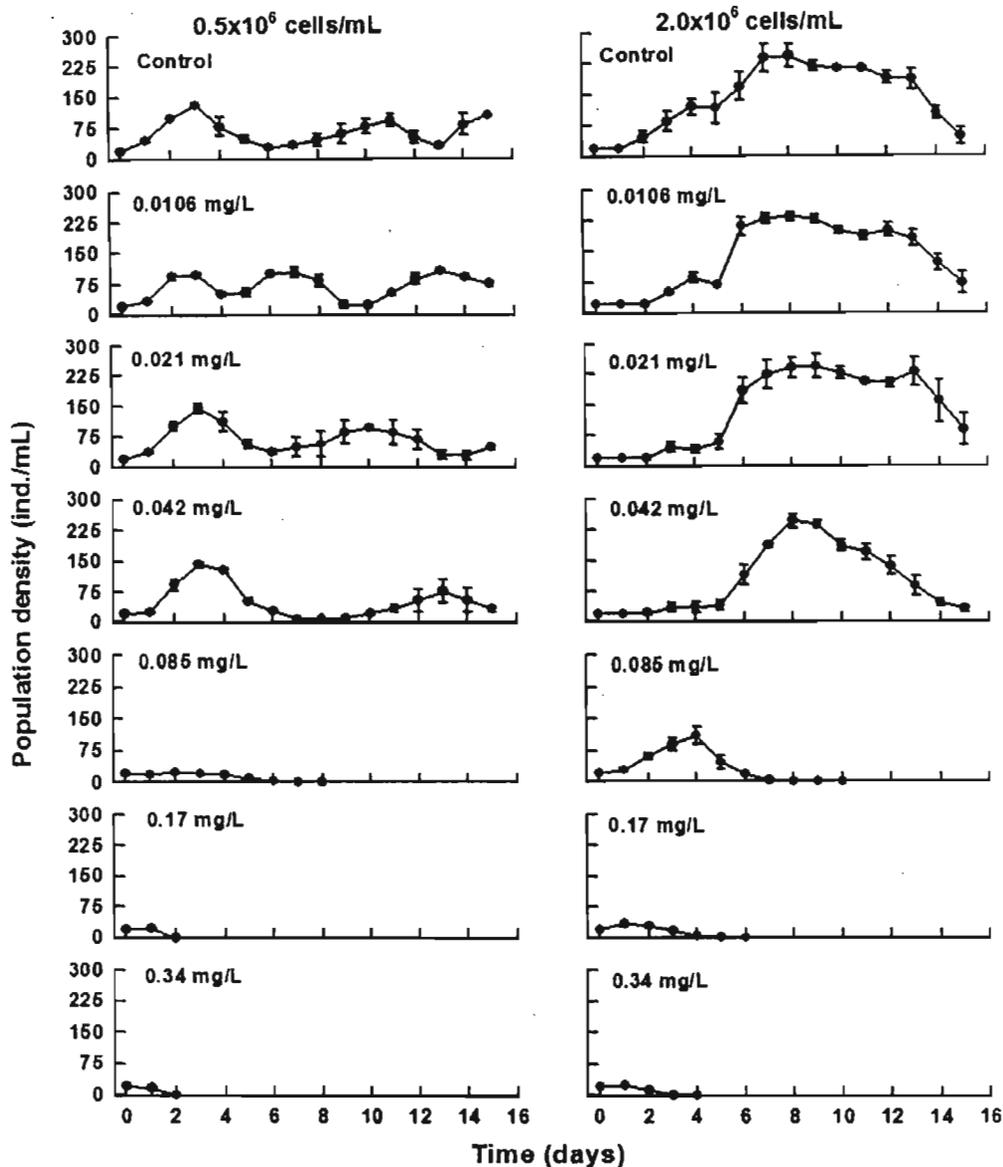
The duration of the experimental period for the population growth was dependent on the biological characteristics of the test species. *M. macrocopa* has lifespan of about 15 days and like other species of this genus is r-selected with a early maturity and large brood size (Nandini 2000). *M. triserialis*, on the other hand, has lifespan longer than twice that of *Moina* but with a lower net reproductive and population growth rates (Muro-Cruz et al. 2002). Population growth studies are helpful to quantify sublethal effects of toxicants including heavy metals to zooplankton because small changes in survivorship and fecundity are eventually summed up in peak abundances and growth rates (Halbach et al. 1984). For this, single species tests are appropriate because they yield information both rapidly and quantitatively to evaluate the direct effects of toxicants which could be extrapolated to natural conditions with some precision (Koivisto 1995).

Cadmium negatively influences both survivorship and fecundity of several cladoceran genera including *Macrothrix* (= *Echinisca*) (Chandini 1988), *Moina* (Wong and Wong 1990) and *Daphnia* (Jak et al. 1996). However, the effect on fecundity may not be with the same magnitude on survivorship. For example, cadmium at 0.005 mg/L has affected the fecundity of *M. macrocopa* but had no effect on the survivorship (Wong and Wong 1990).



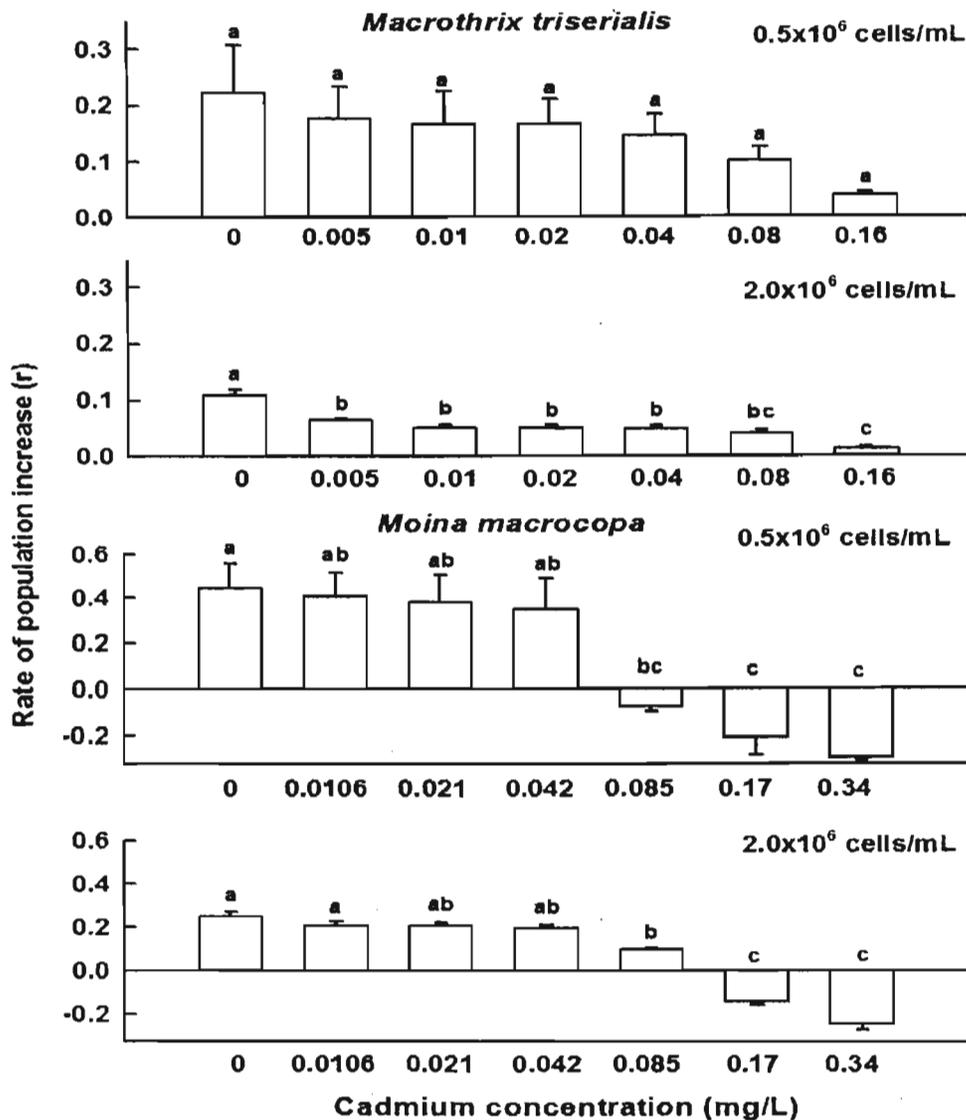
**Figure 1.** Population growth of *M. triserialis* in relation to different concentrations of  $\text{CdCl}_2$  and *Chlorella*. Values represent mean  $\pm$  standard error based on 3 replicates.

In our study we found that the population growth rate of *M. macrocopa* was not significantly different from the controls at cadmium concentrations eight times higher used in Wong and Wong (1990). This may be due to the presence of individuals of different ages in a population growth study, which is similar to a natural population than a cohort of individuals of the same age as used in life table studies. The use of mixed age group for starting the experiments could influence the overall population dynamics of a species, however, this is much less for parthenogenetic taxa because the stable age distribution is rapidly reached (Nandini



**Figure 2.** Population growth of *M. macrocopa* in relation to different concentrations of  $\text{CdCl}_2$  and *Chlorella*. Values represent mean $\pm$ standard error based on 3 replicates.

and Sarma 2000). Depending on the algal density, the toxicity of a heavy metal to cladoceran taxa could vary. For example, at low concentrations of heavy metals, increased algal levels enhance resistance of the test species. However, beyond a certain concentration of heavy metal in the medium, increased food availability could have little role in mitigating the adverse effects on zooplankton (Sarma et al. 2000). On the other hand, if a cladoceran species is relatively sensitive to higher algal levels (causing feeding inhibition), then the interaction with the toxicant could be synergistic as shown in *D. magna* (Martínez-Jerónimo and García-González 1994).



**Figure 3.** Rate of population increase ( $r$ ) of *M. triserialis* and *M. macrocopa* grown at different concentrations of  $\text{CdCl}_2$  and *Chlorella*. Values represent mean $\pm$ standard error based on 3 replicates. Bars containing same letter are not statistically significant ( $p>0.05$ ; Tukey's test).

Independent of the species involved, cladocerans in general cannot tolerate algal levels higher than  $4 \times 10^6$  cells/mL (Nandini and Sarma 2000). In the present study, we used much lower algal densities, and possibly no feeding inhibition could be expected. We did not however evaluate this variable. Moreover, *M. triserialis* showed increased population growth rates with increasing *Chlorella* densities ( $0.5 \times 10^6$  to  $2.0 \times 10^6$  cells/mL) in the medium (Muro-Cruz et al. 2002). In the present work, *M. triserialis*, regardless of  $\text{Cd}^{+2}$  concentration in the medium, had higher peak abundances at higher algal levels but these were reached later.

*M. macrocopa*, on the other hand, was less affected by cadmium at a concentration of 0.085 mg/L at the higher food level. Both, in acute and chronic toxicity tests, cadmium toxicity could be reduced to some extent by increasing algal densities in the medium. For example, Sarma et al. (2000) have shown that the median lethal concentration of cadmium for brachionid rotifers were lower at higher ( $3 \times 10^6$  cells/mL) algal food density than at  $1 \times 10^6$  cells/mL of *Chlorella*. Increased algal density may permit absorption and/or detoxification of heavy metals (Gotsis 1982). Based on field studies, Pickardt et al. (2002) have shown that seasonal algal blooms actually reduce the toxicity of mercuric compounds to cladocerans. The levels of food and the heavy metal used in this study have also been used in many previous studies (e.g., Sarma et al. 2000). Although *M. macrothrix* had lower growth rates than *M. macrocopa*, we found that the percentage difference in toxicity as compared to the controls was higher in the latter. We also found that *M. macrocopa* was more sensitive to cadmium than *M. triserialis*. Nebekar et al. (1986) have shown that *Hyalloella azteca* is more susceptible to cadmium than *Daphnia*. This further emphasizes the importance of including diverse taxa in routine toxicity tests.

In conclusion, our study considered the possible positive of algae in reducing the toxic effects of cadmium to the chosen cladocerans. Concentrations of cadmium as low as 0.01 mg/L had a negative influence on the population growth of the tested cladoceran species.

*Acknowledgments.* One of us (GGG) thanks CONACyT (Ref. 171046) for a scholarship. SN and SSSS thank the SNI (Ref. 20520 & 18723) for support.

## REFERENCES

- Anonymous (1985) Methods of measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. US Environment Protection Agency EPA/600/4-85/013
- Borowitzka MA, Borowitzka LJ (1988) Micro-algal biotechnology. Cambridge University Press, London
- Cañizares-Villanueva RO, Martínez-Jeronimo F, Espinosa-Chávez F (2000) Acute toxicity to *Daphnia magna* of effluents containing Cd, Zn, and a mixture Cd-Zn, after metal removal by *Chlorella vulgaris*. Environ Toxicol 15: 160-164
- Chandini T (1988) Effects of different food (*Chlorella*) concentrations on the chronic toxicity of cadmium to survivorship, growth and reproduction of *Echinisca triserialis* (Crustacea, Cladocera). Environ Pollut 54: 139-154
- Thorp JH, Covich AP (2001) (eds) Ecology and classification of North American Freshwater Invertebrates. Academic Press, London.
- Finney DJ (1971) Probit analysis. Cambridge University Press, 3rd edn, London
- Forbes VE, Calow P (1999) Is the per capita rate of increase a good measure of population-level effects in ecotoxicology? Environ Toxicol Chem 18: 1544-1556
- Gotsis O (1982) Combined effects of selenium/mercury and selenium/copper on the cell population of the alga *Dunaliella minuta*. Mar Biol 71: 217-222

- Halbach U, Siebert M, Westermayer M, Wissel C (1983) Population ecology of rotifers as a bioassay tool for ecotoxicological tests in aquatic environments. *Ecotoxicol Environ Saf* 7: 484-513
- Jak RG, Maas JL, Scholten MCT (1996) Evaluation of laboratory derived toxic effect concentrations of a mixture of metals by testing fresh water plankton communities in enclosures. *Water Res* 30: 1215-1227
- Koivistio S (1995) Is *Daphnia magna* an ecologically representative zooplankton species in toxicity tests? *Environ Pollut* 90: 263-267
- Krebs JC (1985) Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance 3rd edn Harper & Row. New York
- Mangas-Ramírez E, Sarma SSS, Nandini S (2002) Combined effects of algal (*Chlorella vulgaris*) density and ammonia concentration on the population dynamics of *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa* (Cladocera). *Ecotoxicol Environ Saf* 51: 216-222
- Martínez-Jerónimo F, García-González R (1994) Effect of food concentration on the chronic toxicity of sodium dodecyl sulphate to *Daphnia magna*. *J Aquat Ecosyst Health* 3: 247-253
- Muro-Cruz G, Nandini S, Sarma SSS (2002) Comparative life table demography and population growth of *Alona rectangula* and *Macrothrix triserialis* (Cladocera: Crustacea) in relation to algal (*Chlorella vulgaris*) food density. *J Freshwater Ecol* 17: 1-11
- Nandini S (2000) Responses of rotifers and cladocerans to *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae): A demographic study. *Aquatic Ecol* 34: 227-242
- Nandini S, Sarma SSS (2000) Lifetable demography of four cladoceran species in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) density. *Hydrobiologia* 435: 117-126
- Nebeker AV, Onjukka ST, Cairns MA, Krawczyk DF (1986) Survival of *Daphnia magna* and *Hyaella azteca* in cadmium-spiked water and sediment. *Environ Toxicol Chem* 5: 933-938
- Pickhardt PC, Folt CL, Chen CY, Klaue B, Blum JD (2002) Algal blooms reduce the uptake of toxic methylmercury in freshwater food webs. *Proc Nat Acad Sci USA* 99: 4419-4423
- Sarma SSS, Ramírez-Pérez T, Nandini S (2000) Comparison of the sensitivity of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera) to selected heavy metals under low and high food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Bull Environ Contam Toxicol* 64: 735-739
- Sokal RR, Rohlf, FJ (2000) Biometry. WH Freeman and Company, New York.
- Wong CK, Wong PK (1990) Life table evaluation of the effects of cadmium exposure on the freshwater cladoceran, *Moina macrocopa*. *Bull Environ Contam Toxicol* 44: 135-141