



Universidad Austral de Chile
Facultad de Ciencias
Escuela de Biología Marina

PROFESOR PATROCINANTE:

DR. Stefan Woelfl
Instituto de Zoología
Facultad de Ciencias

PROFESOR COPATROCINANTE: DR.

Carlos Bertrán
Instituto de Zoología
Facultad de Ciencias

**"ACUMULACIÓN DE METALES PESADOS EN MICROCRUSTÁCEOS
PLANCTÓNICOS PROVENIENTES DE UN EMBALSE CONTAMINADO POR
RELAVES MINEROS, EMBALSE RAPEL (34 ° 10' S - 71 ° 29' W), CHILE."**

Tesis de Grado presentada como
parte de los requisitos para optar al
Título de Biólogo Marino.

SUSANA ISABEL MERCADO LEAL

VALDIVIA - CHILE

2004

A mis Padres y Hermanas....

....Por su inmenso Amor...

AGRADECIMIENTOS

Es Increíble como ha pasado el tiempo ahh...Primero que nada, le quiero agradecer a la vida por haberme permitido estar acá, y por haber conocido a personas maravillosas, las cuales de alguna u otra forma me ayudaron en este largo camino, el cual ha llegado a su fin, pero es el comienzo de otro.

Quiero Agradecer a mis padres, sin ustedes no hubiera podido.. por todo su apollo, por su inmenso amor y confianza que depositaron en mí en todos estos años, a mis hermanas, Ferny, siempre con tus cartitas, llamándome, acordándote de mí, a ti Vero, siempre conmigo, mi amiga, mi complice, todo...LOS AMO.. a ti abuelita que siempre creíste en mí y me apollaste en todo momento, sin tener ninguna obligación, Tia Mimi, chicos, gracias por tenerme en su casa como si fuera una de ustedes, por su sincero Amor, y a todos los de mi familia que estuvieron conmigo y confiaron en mí.... de verdad gracias..

Quiero agradecer especialmente a Miguel Angel, gracias por estos maravillosos años que vivimos juntos, por toda tu paciencia, apollo, por todas las fuerzas que me diste y fundamentalmente por todo el Amor que me entregaste, haberte conocido fué lo más lindo...

A ustedes amigos, compartimos tantas cosas, lo pasamos bien ahh! Gracias por estar conmigo en cada momento, sobretodo los difíciles..Chicas:Tamy, Iveth, Pao, Ely, Caro, Ale, Yeca, Maggy, por su compañía, cariño, Gracias amigas..no perdamos nunca el contacto!! A ti Cecy, aunque no hayas estado acá, siempre nos sentimos juntas. A ustedes amiguitos:Chipy, Hugo, Carlos, los quiero mucho...A Gaucho, Pupilo, Pelao, por todo su cariño.. A mis compañeros de carrera, sobretodo con los que compartí los primeros años..ustedes saben.. jamás los olvidaré, a todos les deseo mucha suerte! Siempre podrán contar conmigo..

En el trabajo directo, quiero agradecer a los profes Stefan Woelfl, Humberto González, Carlos Bertrán, por todos sus conocimientos que me entregaron, por su comprensión y apollo. A Lorena Villalobos, a la Dra. Irma Vila por todo su tiempo, a Luis Vargas por ayudarme en las correcciones, pero especialmente a Mariano Grandjean, por tu gran y sincera ayuda, gracias.

.....A TODOS USTEDES.....

QUE EL DESTINO LES TENGA PREPARADO ALGO MUY BUENO...

SINCERAMENTE, LOS QUIERE MUCHO, SÚ.

INDICE

AGRADECIMIENTOS

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

	Pág.
I RESUMEN	1
II ABSTRACT	2
III INTRODUCCION	3
Hipótesis	10
Objetivos Generales	10
Objetivos Específicos	11
IV MATERIALES Y METODOS	12
4.1 Área de Estudio	12
4.2 Muestreos y Procesamiento de las muestras	14
4.2.1 Estaciones y fechas de muestreos	14
4.2.2 Muestreo en la columna de agua	14
4.2.3 Muestreo del zooplancton	14
4.2.4 Liofilización de muestras de zooplancton	15
4.2.5 Selección y medición de las especies zooplanctónicas	16
4.2.6 Preparación de los especímenes y determinación del peso seco	16
4.3 Medición de metales con TXRF	18
4.3.1 Instrumentación para el análisis con TXRF	18

4.4	Determinación del Factor de Bioacumulación	19
4.5	Análisis Estadístico	19
V	RESULTADOS	20
5.1	Concentración de metales traza en el agua del lago Rapel	20
5.2	Acumulación de metales traza en especies zooplanctónicas en función a su peso.	20
5.3	Factor de bioacumulación de metales en especies zooplanctónicas	22
5.4	Comparación de la bioacumulación de metales en los microcrustáceos del lago Rapel v/s lago Laja	23
VI	DISCUSION	24
	CONCLUSIONES	35
VI	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	
VII	ANEXOS	
	ANEXO I : FIGURAS	37
	ANEXO II: GRAFICOS	42
	ANEXO III: TABLAS	48

INDICE DE FIGURAS	Pág
Fig. 1: Localización geográfica del área de estudio, sexta región, Embalse Rapel.	38
Fig. 2. Resumen Esquemático sobre el procedimiento y medición de metales en los microcrustáceos, según método TXRF (Woelfl et al., 2003).	39
Fig. 3. Red de zooplancton con apertura de malla entre 50 y 90 μm de diámetro.	40
Fig. 4. Medición de longitud de <i>Diaptomus diabolicus</i> después de ser liofilizado.	40
Fig. 5. Medición de longitud de <i>Ceriodaphnia dubia</i> después de ser liofilizado.	41
Fig. 6. Medición de longitud de <i>Bosmina chilensis</i> después de ser liofilizado.	41
 INDICE DE GRAFICOS	 42
Gráfico N°1: Concentraciones de Zn, Mn, Pb y Cu ($\mu\text{g}/\text{gr}$) v/s Peso seco (μg) en el lago Rapel en <i>Diaptomus diabolicus</i> .	43
Gráfico N°2: Concentraciones de Zn, Mn, Pb y Cu ($\mu\text{g}/\text{gr}$) v/s Peso seco (μg) en el lago Rapel en <i>Ceriodaphnia dubia</i> .	43
Gráfico N°3: Concentraciones de Zn, Mn, Pb y Cu ($\mu\text{g}/\text{gr}$) v/s Peso seco (μg) en el lago Rapel en <i>Bosmina chilensis</i> .	44
Gráfico N°4: Comparación de las concentraciones de Ni ($\mu\text{g}/\text{gr}$) versus Especie.	44
Gráfico N°5: Comparación de las concentraciones de Mn ($\mu\text{g}/\text{gr}$) versus Especie.	45
Gráfico N°6: Comparación de las concentraciones de Pb ($\mu\text{g}/\text{gr}$) versus Especie.	45
Gráfico N°7: Comparación de las concentraciones de Fe ($\mu\text{g}/\text{gr}$) versus Especie.	46
Gráfico N°8: Comparación de las concentraciones de Cu ($\mu\text{g}/\text{gr}$) versus Especie.	46
Gráfico N°9: Comparación de las concentraciones de Zn ($\mu\text{g}/\text{gr}$) versus Especie.	47

Gráfico N°10: Comparación de las concentraciones de Cr ($\mu\text{g}/\text{gr}$) versus Especie.	47
INDICE DE TABLAS	48
Tabla 1: Características físicas del lago Rapel.	49
Tabla 2: Análisis físico químico de las aguas del embalse Rapel.	50
Tabla 3: Comparación de metales en el lago Rapel, Llanquihue y Panguipulli.	51
Concentraciones máximas permitidas según NCh 1 333/78.	
Límites máximos permitidos para descargas de residuos líquidos a cuerpos de aguas lacustres. Decreto Supremo 90.	
Tabla 4: Rango de concentraciones ($\mu\text{g}/\text{gr}$) de metales traza en microcrustáceos.	52
Tabla 5: Análisis de Varianza para el Cromo, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.	52
Tabla 6: Análisis de Varianza para el Manganeso, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.	53
Tabla 7: Análisis de Varianza para el Hierro, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.	53
Tabla 8: Análisis de Varianza para el Níquel, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.	54
Tabla 9: Análisis de Varianza para el Cobre, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.	54
Tabla 10: Análisis de Varianza para el Zinc, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.	55
Tabla 11: Análisis de Varianza para el Plomo, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.	55
Tabla 12: Bioacumulación metales en los organismos.	56
Tabla 13: Comparación de algunos metales encontrados en los microcrustáceos del Lago Rapel v/s Lago Laja.	57

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

As	Arsénico
Ba	Bario
Ca	Calcio
Cu	Cobre
Cr	Cromo
Fe	Hierro
Mn	Manganeso
Mg	Magnesio
Ni	Níquel
Pb	Plomo
Zn	Zinc
L	Litro
mL	Mililitros
mg	miligramos
μg	microgramos
μL	microlitros
ng	nanogramo

I RESUMEN

El embalse Rapel, es un cuerpo de agua que está siendo sometido a un fuerte impacto antropogénico, por lo que evidencia severos signos de eutrofización. Esto último debido a que el embalse se ha transformado en el cuerpo receptor de una gran diversidad de efluentes (industriales, agrícolas y domésticos), que evacúan sus descargas sin ningún tipo de tratamiento. A lo cual se le debe agregar la recepción de aguas provenientes de los relaves de la mina de cobre “El Teniente”.

Con el objetivo de determinar la presencia y acumulación de metales pesados en el agua y en los organismos zooplanctónicos, durante el mes de Octubre del 2003 se tomaron muestras de agua y de ejemplares de *Ceriodaphnia dubia*, *Bosmina chilensis* y *Diatomus diabolicus*. Como especies bioindicadoras cualitativos de la calidad de agua. Las muestras fueron preparadas de acuerdo al método seco (*dry method*), recomendado para la detección simultánea de metales en organismos pequeños (entre 3 y 100 µg de peso seco). Se analizaron los elementos: Zn, Cr, Ni, Mn, Fe y Cu, tanto en el agua, como en los organismos mediante el método de Reflexión Espectro Fotométrica Fluorescente con Rayos X (TXRF), en UFZ-Leipzig/Halle, Alemania. Los resultados obtenidos en el agua, revelaron concentraciones promedio de 8.9 µg /L de Cu, 16.4 µg /L de Fe, 26 µg /L de Mn y 2.1 µg /L de Ni. En cuanto a los organismos, se observaron diferencias significativas en la acumulación de metales. Las concentraciones encontradas en las especies para algunos metales fueron los siguientes (µg /g peso seco): para el Cu entre 17 y 107; para el Zn entre 35 y 150; para el Fe entre 90 y 3600; y para el Mn entre 17 y 185. De acuerdo a lo resultados obtenidos se puede establecer que el lago Rapel corresponde a un cuerpo con altas concentraciones de metales, lo cual se corrobora debido a que los microcrustáceos presentaron mayor acumulación de metales (Cu, Fe) comparado con otro lago que no está influenciado por aguas de relaves mineros.

II ABSTRACT

The reservoir Rapel (Central Chile), it is an area which is subjected to an important anthropogenic impact, with severe signs of eutrofication, due to a diversity of industrial, agricultural and domestic sources that are evacuated without control. Also, receives wastewater of the worldwide biggest underground copper mine "El Teniente".

The objective of this investigation, resides in determining the accumulation of heavy metals appearance in the water and zooplankton organisms. For that, during the October 2003, samples of water and of zooplankton organisms zooplantónico (qualitative bioindicadores of the water) were collected in order to determine the accumulation of metal in *Ceriodaphnia dubia*, *Bosmina chilensis* and *Diaptomus diabolicus*. The zooplankton samples were prepared according to the *dry method* (simultaneous detection of metals in individuals with a dry weight of 3 - 100 µg). The elements Zn, Cr, Ni, Mn, Fe and Cu, were analyzed using Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometry (TXRF) in UFZ-Leipzig/Halle, Germany. The results obtained in the water, revealed average concentrations (µg /L) of: Cu 8.9, Fe of 16.4, Mn 26 and for the Ni of 2.1. In the organisms, significant differences were observed in the accumulation of metals among the species. The concentrations of certain metals in the species (µg element /g dry weight) were: Cu = 17-107; Zn = 35-150; Fe = 90-3600; Mn = 17-185. The results showed that the lake Rapel corresponds to a body of water with high metals concentrations, those that are reflected so much in the biggest copper contents in the water, and in the animals compared not with lakes influenced by relave waters.

III INTRODUCCION

Entre los conceptos básicos que definen la contaminación acuática, se cita la incorporación de elementos o compuestos extraños a cuerpos de agua, los cuales pueden constituir un riesgo a la calidad de vida de la población, deteriorando o alterando su equilibrio natural (Murgel, 1984; Gordillo, 1995; CONAMA, 1996; América & Molina, 2001). Siendo causada principalmente, por actividades antropogénicas de diversa índole. En este ámbito los sistemas acuáticos, por lo general, reciben un sin número de efluentes industriales y de aguas servidas; junto a residuos provenientes de la agricultura, minas, pesticidas, y numerosos otros contaminantes (Paredes, 1998; Wetzel & Likens, 2000). A estos se le debe agregar la carga natural de contaminantes, la cual siempre está presente y es originada por restos de animales, vegetales, minerales y sustancias que se disuelven en la masa de agua (Murgel, 1984).

Se pueden distinguir dos tipos de fuentes de contaminación antropogénica, las fuentes difusas y las puntuales. Las fuentes difusas son aquellas que descargan contaminantes en una región extensa, los cuales no tienen un punto claro de ingreso en los cursos de agua que los reciben (Ongley, 1997); mientras que las puntuales, son aquellas que descargan contaminantes en localizaciones específicas (Schwab *et al.*, 1996; Ongley, 1997; Dobson & Gilpin, 1999).

Entre las fuentes difusas, se pueden mencionar a las actividades agropecuarias y ganaderas, las cuales aportan esencialmente nutrientes orgánicos, compuestos de nitrogenados y fosforados; y en menor cantidad elementos alcalinos, alcalinotérreos e incluso metales tales como el hierro, manganeso, cobre y zinc, los que llegan mediante la escorrentía e incrementan las concentraciones de estos en la masa de aguas (Murgel, 1984; García *et al.*, 2002).

Dentro de las fuentes puntuales de contaminación que tienen un fuerte impacto ambiental, destacan las actividades industriales y en especial la actividad minera, cuyo principal efecto es contribuir al incremento de las concentraciones de minerales (Arcos, 1998; Vila *et al.*, 1997). En este contexto el empleo de agua en el proceso productivo minero provoca serias modificaciones en los ecosistemas acuáticos; ya sea mediante el uso de aguas superficiales o subterráneas o bien a través de las descargas de sus desechos sólidos y líquidos (relaves) a cuerpos de agua. En este último caso se producen contribuciones significativas de metales, los que provocan modificaciones en los componentes faunísticos y florísticos del ecosistema (Murgel, 1984; Dobson & Gilpin, 1999; Eisler, 2000).

Las minas a tajo abierto que ocupan grandes áreas, así como también la acumulación de minerales expuestos a las lluvias, propician el contacto de las aguas con el mineral y con el suelo, potenciando procesos físicos, tales como la erosión, o procesos químicos como la oxidación de los sulfuros, causantes de drenaje ácido, lixiviación, etc. (Sánchez, 1995).

Cuando ocurren reacciones de oxidación se generan ácidos, se oxidan los sulfuros a sulfatos y se liberan metales presentes en la roca, principalmente Fe, Mn y Cu; razón por la cual este tipo de metales son los que se encuentran más expuestos al medio. Igualmente se liberan otros metales como As, Ba, Cd, Zn, Ni y Pb; pero en concentraciones reducidas. Estos minerales también son elementos de importancia entre los residuos mineros; debido a que por lixiviación pueden llegar a contaminar aguas superficiales y/o aguas subterráneas (FAO, 1981; Sánchez, 1995; Roa, 2001).

Entre los metales que ingresan a los cuerpos de agua y que tienen efectos nocivos, destacan los denominados metales pesados. Los metales pesados son elementos químicos que poseen un peso atómico comprendido entre 63.55 (Cu) y 200.59 (Hg), y un peso específico superior a 4 (g cm^{-3}).

Todos los metales ya sean biológicamente esenciales como aluminio, arsénico, cromo, cobalto, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, níquel, selenio, estaño, vanadio, y zinc; o no esenciales como cadmio, oro, plomo, mercurio, y plata (Paredes, 1998; García et al., 2002; Alarcón, 2003), se caracterizan por ser potencialmente dañinos para los organismos a concentraciones elevadas, debido a que tienen efectos tóxicos en la biota (Langston, 1990; Rainbow, 1997; Villalobos, 1997; Mann *et al.*, 2002).

Un caso emblemático entre los cuerpos de agua lénticos, el cual fue severamente afectado por la contaminación, debido a la actividad minera, lo constituye el lago Süder ubicado al oeste de Halle, Alemania. Este lago, fuera de recibir la totalidad de los residuos líquidos de una explotación minera cercana; también recibe aguas servidas de la población aledaña; lo cual sumado a los arrastres de lixiviados, contribuyeron a conformar un cuadro dramático de contaminación, caracterizado por la presencia de altos niveles de zinc, arsénico, y cobre (Becker *et al.*, 2001).

En Chile, de acuerdo a los antecedentes proporcionados por Cabrera et al. (1977), el Embalse Rapel, está recibiendo una carga considerable de metales pesados, provenientes de la actividad minera de El Teniente. Este embalse artificial desde su creación, ha estado sometido regularmente a perturbaciones antrópicas, las que incluyen el manejo artificial de los niveles de agua del embalse y las actividades turísticas y agrícolas (Adams *et al.*, 2000). El incremento sostenido de estas actividades, según diversos investigadores, estaría produciendo un proceso acelerado de eutrofización en los últimos años (Vila *et al.*, 1987; Roa, 2001; Vila *et al.*, 2000; Bahamonde & Ruíz, 2003). A las actividades mencionadas anteriormente se le debe agregar la puesta en marcha de una vía de evacuación de relaves de la minería del cobre en el año 1988, lo

que ha significado el incremento en la cantidad de cobre y otros metales pesados en el agua (Vila *et al.* 1997; Gagneten, 2000; Adams *et al.*, 2000; Vila *et al.*, 2000).

Según los antecedentes proporcionados por Gagneten & Vila (2001), estos metales pueden tener efectos nocivos sobre los organismos; ya que influyen en todos los niveles de organización, desde el nivel molecular hasta niveles comunitarios, afectando aspectos fisiológicos relacionados con los procesos celulares; como alteraciones en la permeabilidad de la membrana plasmática e inhibiendo las funciones enzimáticas y fotosintéticas, entre otras (Paredes, 1998; Wolterbeek, H & Verburg, T. 2001; Mann *et al.*, 2002).

Los efectos mencionados anteriormente, dependen de las concentraciones de metales, y por ende, del grado de toxicidad del mismo; la cual variará su efecto según la especie y tolerancia de las mismas; estando esta última en función de la concentración y duración de la exposición en el ambiente (Murgel, 1984; Paredes, 1998; Gagneten, 2000; Gagneten & Vila, 2001; Chang *et al.*, 2002).

Los efectos sobre la biota se pueden manifestar en una variada gama de consecuencias, los que pueden afectar el crecimiento, morfología, comportamiento, reproducción y reclutamiento; así como en procesos fisiológicos relacionados a las características de la sangre y circulación, deterioro en el sistema renal, hepático o neuronal, depresión o aceleración de la actividad enzimática y hormonal; además, de efectos carcinogénicos y mutagénicos, propensión al parasitismo, enfermedades, e incluso daños letales a los organismos (Langston, 1990; Paredes, 1998; Eisler, 2000; Gagneten, 2000; Gagneten & Vila, 2001; Chang *et al.*, 2002).

Para evaluar la toxicidad de los metales en el agua, es necesario analizar la calidad de éstas, la cual está asociada esencialmente a las características geoquímicas del área y a los usos del suelo en las cuencas de drenaje (agrícola, forestal, construcción, urbanización, industrial, etc.). Las características físicas y químicas del ambiente, se ven reflejadas en parámetros como oxígeno disuelto, dureza, DQO, alcalinidad, pH, nutrientes, etc. Cuyos niveles influyen directamente en el grado de toxicidad de los metales (Murgel, 1984; Chen *et al.*, 2000; Gagneten & Vila, 2001). Es así como, el oxígeno disuelto y el pH, pueden actuar regulando la toxicidad de un mismo metal, en una determinada especie de invertebrados. De la misma manera el pH puede influir en la solubilidad de los metales pesados (Murgel, 1984; Gagneten & Vila, 2001). En el caso específico del Cu, los efectos negativos se incrementan frecuentemente en condiciones de pH bajo; mientras que con pH altos se facilita la unión de iones de Cu con diversos compuestos orgánicos e inorgánicos, lo que redundaría en la formación de precipitados de Cu y la consecuente disminución de cobre disuelto (Gagneten, 2000; Gagneten & Vila, 2001).

Los efectos negativos que tienen los metales pesados en la biota acuática, se deben básicamente a que éstos pueden ser acumulados, transformados en las cadenas alimenticias, y ser liberados como formas químicas severamente tóxicas (Murgel, 1984; Langston, 1990; Arcos, 1998; Gagneten, 2000; Gagneten & Vila, 2001). En general, estos metales son incorporados por los organismos acuáticos a través de la ingesta de agua y principalmente mediante el alimento; proceso que se conoce con la denominación de bioacumulación (donde el metal es tomado desde la dieta y es acumulado en su organismo a lo largo de su vida) y biomagnificación (incorporación de metales traza a niveles tróficos superiores). Estos procesos, son específicos para cada metal y taxa; y son dependientes de la fisiología de los organismos, grado de adaptación en el hábitat y

hábitos alimenticios (Rainbow, 1997; Paredes, 1998; Dobson & Gilpin, 1999; Chen *et al.*, 2000; Chang *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2002).

La concentración de metales que se puede encontrar en un individuo, depende de la biodisponibilidad del metal en el medio, así como igualmente del balance entre la captación y excreción del metal, que realiza el organismo (Ying *et al.*, 1993). La eliminación de los metales desde un organismo se produce básicamente a través de la excreción y muda del exoesqueleto. De este modo la porción de los metales que es retenida por el organismo, es usualmente transferido a los niveles tróficos más altos (Wang *et al.*, 2002).

Entre los animales que son considerados bioacumuladores de metales, destacan las especies filtradoras y organismos planctónicos, los que están expuestos a los metales pesados disueltos en el agua, y/o asociados al material particulado. Dentro de este contexto, según Wang & Yu (2002), el zooplancton juega un rol importante en todos los ciclos biogeoquímicos de elementos metálicos en ambientes marinos.

Así el análisis del componente zooplanctónico es elemental para investigar la captación y transferencia de sustancias a lo largo de una cadena trófica (Dobson & Gilpin, 1999; Mages *et al.*, 2001; Woelfl *et al.*, 2003). Además, estos organismos, son considerados como bioindicadores cualitativos del agua, los cuales mediante absorción directa y alimentación (filtración) pueden incorporar y acumular rápidamente metales pesados (Ying *et al.*, 1993; Mages *et al.*, 2001; Woelfl *et al.*, 2003). Dentro de los organismos que conforman el zooplancton de aguas continentales, destaca el grupo de los Cladóceras; estos representan al grupo de microfiltradores

más abundantes del zooplancton en los sistemas limnéticos. En este contexto, los Cladóceras representan el 80% de la herbivoría que ocurre en dichos sistemas acuáticos (Martínez, 2000; Mages *et al.*, 2001; Ruiz & Bahamonde, 2003; Woelfl *et al.*, 2003). Por otra parte, en muchas pruebas ecotoxicológicas involucran al cladóceros *Daphnia sp.*, como bioindicador en los ecosistemas de agua dulce (Murgel, 1984; Dobson & Gilpin, 1999; Mages *et al.*, 2001; Castillo *et al.*, 2000; Woelfl *et al.*, 2003).

Dentro de la comunidad zooplanctónica presente en el embalse Rapel, se señala el predominio de microcrustáceos de los grupos Copépoda y Cladóceras. Los Copépodos están representados mayoritariamente por la especie *Diaptomus diabolicus*; mientras que el grupo de los Cladóceras está representada por las especies *Bosmina chilensis* y *Ceriodaphnia dubia* (Zúñiga & Araya, 1982; Ruiz & Bahamonde, 2003).

En el embalse Rapel, se ha registrado durante los años 1989 y 1990, una mortalidad masiva de peces y en los últimos 16 años, se han observado alteraciones negativas sobre la composición y diversidad de especies en este cuerpo de agua (Vila *et al.*, 1997; Adams *et al.*, 2000; Vila *et al.*, 2000). Como elementos de causalidad se ha postulado, por una parte, que estas probablemente se deben a que la totalidad de las aguas servidas son vertidas al afluyente (río Rapel), sin tratamiento previo (Vila *et al.*, 1997; Roa, 2001); y por otra, a las cargas de nutrientes y materia orgánica acarreados por los afluentes (Soto *et al.*, 1984; Ruiz & Bahamonde, 2003). Sin embargo, en el último tiempo, se señala que aparentemente la contaminación más importante, provendría de los relaves de la mina de cobre de El Teniente, los cuales han incrementado considerablemente la concentración de sulfato de cobre (Vila *et al.*, 1997; Vila *et al.*, 2000; Roa, 2001).

De acuerdo a lo establecido anteriormente en la presente investigación se pretende cuantificar la presencia y acumulación de metales pesados en el agua y la comunidad zooplanctónica de microcrustáceos presentes en el Embalse Rapel.

Los antecedentes recopilados permiten plantear la siguiente hipótesis: “Los microcrustáceos del lago Rapel presentan una acumulación de metales pesados (μg de peso seco promedio); significativamente mayor a las concentraciones cuantificadas en microcrustáceos de otros ambientes limnéticos que no se encuentran influenciados por aguas de relave”.

Los Objetivos generales de este trabajo son:

1. Cuantificar la concentración de metales pesados en las aguas del embalse Rapel y determinar el grado de acumulación de estos en microcrustáceos zooplanctónicos provenientes de este cuerpo de agua.

Objetivos específicos:

1. Cuantificar las concentraciones de metales pesados en el agua del Lago Rapel.
2. Determinar el grado de acumulación de metales pesados en *Bosmina chilensis*, *Ceriodaphnia dubia*, y *Diaptomus diabolicus* en función a su peso.
3. Determinar la bioacumulación de metales pesados en *Bosmina chilensis*, *Ceriodaphnia dubia* y *Diaptomus diabolicus*.
4. Comparación del grado de bioacumulación de metales pesados en los microcrustáceos del lago Rapel v/s los microcrustáceos del lago Laja.

IV MATERIAL Y METODO

4.1 AREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en el embalse Rapel (34° 10' S.; - 71° 29' W.) ubicado en la VI región de Chile, distante a 140 km al SO de la ciudad de Santiago. Este embalse, es considerado como un lago artificial, el cual ocupa gran parte de la cuenca y valle del río Rapel, cubriendo una superficie de 6940 ha (Fig.1). Es el mayor lago artificial del país y fue construido con la finalidad de abastecer a la central Hidroeléctrica Rapel, la cual entró en funcionamiento en el año 1968 (Soto *et al.*, 1984; Vila *et al.*, 1987; Bahamonde & Ruiz, 2003).

El embalse Rapel es alimentado principalmente por las aguas de los ríos Cachapoal y Tinguiririca, a las que se le agregan las provenientes del estero Alhué (Soto *et al.*, 1984; Araya & Zúñiga, 1982; Ruiz & Bahamonde, 2003). El río Cachapoal, es el principal afluente del embalse y presenta un caudal promedio de 74 m³/seg, con un mínimo de 27 m³/seg durante marzo y un máximo de 154 m³/seg, durante enero (Bahamonde & Ruiz, 2003). Mientras que el Tinguiririca presenta los caudales mínimos de 6,3 m³/seg durante marzo; y máximos de 77 m³/seg durante julio - agosto. De manera que el embalse Rapel recibe las aguas que drenan en una cuenca de más de 14.177 km².

El río Cachapoal, desagua los principales nevados de la zona, lo que incluye cumbres de más de 3000 m en la cordillera de los Andes; las aguas son empleadas mayoritariamente por las actividades mineras desarrolladas por la mina de cobre subterránea más grande del mundo (CODELCO, El Teniente) antes de alcanzar el embalse (Vila *et al.*, 2000; Ruiz & Bahamonde, 2003).

El río Rapel, previo a la construcción del embalse, presentaba un angosto cauce de más de 45 Km. de longitud. El muro de la represa tiene una cota de inundación máxima de 105 m de altura; de manera que en la actualidad, en la parte superior de esta cota, confluyen los ríos Cachapoal y Tinguiririca. La superficie total inundada abarca unos 120 km² aproximadamente, con una longitud máxima de 43 Km (Soto *et al.*, 1984); un perímetro de 288,6 Km y un ancho medio de 3.14 Km. El volumen del agua embalsada es de 0.832 km³ (Araya & Zúñiga, 1982; Ruiz & Bahamonde, 2003).

La región presenta clima templado cálido con lluvias invernales y una estación seca prolongada. Las características del cuerpo de agua corresponden a un lago monomítico temperado, situado a 200 m sobre el nivel del mar, con aguas poco transparentes, en las que se registran periodos de anoxia y abundantes nutrientes en todo el perfil vertical (Adams *et al.*, 2000; Ruiz & Bahamonde 2003). Muestra altas fluctuaciones estacionales del nivel del agua y escasa vegetación ribereña, (Cabrera *et al.*, 1977; Vila *et al.*, 1986; Ruiz & Bahamonde, 2003), con excepción de aquellas zonas vecinas a cursos de agua que ingresan al embalse (Ruiz & Bahamonde, 2003). El lago Rapel ha sido descrito hasta 1987 como mesotrófico (Vila *et al.*, 1987); sin embargo, desde entonces está sufriendo un proceso acelerado de eutrofización (Soto *et al.*, 1984; Adams *et al.*, 2000; Vila *et al.*, 2000). Estudios sobre la distribución espacio temporal del plancton en este embalse, han determinado que tanto el fitoplancton como el zooplancton, presentan distribución heterogénea con marcadas diferencias estacionales (Soto *et al.*, 1984; Vila *et al.*, 1997; Araya & Zúñiga, 1982).

4.2 MUESTREOS Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

4.2.1 Estación y fecha de muestreo

Se colectó zooplancton y agua del embalse Rapel en la estación "las Balsas" el 31 de Octubre del 2002. Las condiciones físicas y químicas del lago se muestran en la Tabla 1. La obtención de las muestras y su procedimiento, tanto para el zooplancton como para el agua, se realizó de acuerdo a Mages *et al.*, 2001 & Woelfl *et al.*, 2003 (Fig. 2).

4.2.2 Muestreo del agua

Las muestras de agua se colectaron a 5 metros de profundidad mediante una botella Friedinger (Volumen: 1 litro) y se depositaron en frascos de vidrio de 100 mL, previamente lavados con etanol. Finalmente, las muestras fueron filtradas empleando filtros de 0.2 μm contenidos en jeringas y traspasadas a frascos de PVC (0.3 litros), adicionándoles 60 μL de ácido nítrico (HNO_3 Suprapure, Merck Nr. 1.00441.0250), el cual contiene un bajo contenido en metales, para la digestión de la materia orgánica y liberación de los metales pesados.

4.2.3 Muestreo del zooplancton

Las muestras de material biológico fueron tomadas mediante arrastres verticales y oblicuos entre 0 y 5 m, con una red de zooplancton libre de metales, la cual se conforma por un círculo de plástico unido a la boca de la red (50 μm mesh) con un diámetro de abertura de 20 cm; al extremo inferior de ésta, se instaló un copo de plástico no filtrante de 100 ml, unido a un peso (arena) para que pueda hundirse (Fig. 3). La red fue construida manualmente a efectos de evitar contaminación por metales, lo cual se produciría con una red convencional. Las muestras fueron

tomadas desde una balsa con el fin de evitar contaminación, por el motor del bote, el cual se encontraba sin funcionar y alejado de la zona de muestreo.

Las muestras de zooplancton obtenidas se depositaron en frascos de vidrio de 100-1000 mL previamente lavados con etanol y agua destilada, y se trasladaron al laboratorio de terreno de la Universidad de Chile en las riberas del embalse Rapel.

En el laboratorio, las muestras de los especímenes fueron lavadas 3 veces utilizando filtros de diferentes aberturas de malla (250 μm , 100 μm y 50 μm) con agua del lago previamente filtrada, empleando un filtro Nuclepore de 0.2 μm (Mages *et al.*, 2001; Woelfl *et al.*, 2003); a fin de eliminar bacterias, sales y algas que puedan influir en los resultados de las concentraciones de los metales. Finalmente, se trasladaron alícuotas de 2 mL a frascos de teflón para congelarlas en Nitrógeno líquido.

4.2.4 Liofilización de las muestras de zooplancton

En uno de los laboratorios del Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile, las muestras congeladas se traspasaron a un freezer y fueron mantenidas a una temperatura aproximada de -17°C . Finalmente, fueron trasladadas al Instituto de Microbiología, Universidad Austral de Chile, siendo liofilizadas durante 24 horas en un equipo Leybold – Heraeus modelo LYOVAC GT 2.

4.2.5 Selección y medición de las especies zooplanctónicas

Las muestras secas de material biológico, se identificaron y se seleccionaron mediante un microscopio invertido, modelo Leitz Fluovert FU y lupa Periplan GF con magnitudes de 10 X y 40 X.

Los animales se manipularon con pinzas de cerámica previamente lavadas con alcohol al 95%, a fin de evitar contaminación por metales pesados a través de pinzas convencionales.

De los individuos encontrados en la comunidad zooplanctónica del embalse Rapel, se seleccionaron 2 especies, una de copépodos (*Diaptomus diabolicus*) y otra de cladóceros (*Ceriodaphnia dubia* y *Bosmina chilensis*); de los cuales: 33 individuos fueron de *Diaptomus diabolicus* (Fig. 4), 19 de *Ceriodaphnia dubia* (Fig. 5) y 37 de *Bosmina chilensis* (Fig. 6); con rangos de tamaño que oscilaban entre 0.2 mm a 1.6 mm de longitud total, siendo seleccionados los ejemplares en mejor estado.

4.2.6. Preparación de los especímenes y determinación del Peso Seco

Los individuos se agruparon de acuerdo a su tamaño y especie, y se depositaron en tubos Eppendorf de capacidad de 1 mL (previamente rotulados); Posteriormente se trasladaron a Alemania y se pesaron en una balanza ultra micro analítica Sartorius (sensibilidad 0.1µg).

Para la determinación del peso seco, se determinó la temperatura y humedad relativa del aire y se aplicó un factor de corrección para la humedad, a través de la siguiente fórmula (Mages *et al.*, 2001):

$$Dwo = DWx / (1 + Ahx * CF)$$

Donde:

Dwo = es el peso de la especie extrapolada a 0% de humedad.

DWx = es el peso de los individuos.

Ahx = es la humedad atmosférica relativa.

CF = es el factor de corrección (0.00293 +/- 0.00013).

A continuación, fueron depositados en cristales de cuarzo (Carriers)(sólo contienen silice) para no interferir en los resultados de los metales; luego, se le adicionó alícuotas de 2.5 µL de agua deionizada para que los animales queden adheridos al cristal; y fueron evaporadas sobre una estufa a una temperatura de 90° C para facilitar su adhesión sobre el cristal.

Antes de la determinación de los metales en los individuos, a cada carrier se le agregó 10 µL de agua destilada y se secaron al aire hasta la evaporación de los individuos. Luego, se le agregó 5 ng de Galio como estándar interno y 10 µL HNO₃ suprapur. A continuación, los cristales de cuarzo fueron trasladados y secados nuevamente sobre una placa térmica a 100 °C.

Finalmente, los carrier se trasladaron al UFZ-Leipzig/Halle, Departamento de Inland Water Research, Magdeburg, Alemania, donde se determinaron los metales pesados, mediante el análisis Total X-Ray Fluorescence Spectrometry (TXRF), de acuerdo a los procedimientos descritos por Mages *et al.*, 2001; Woelfl *et al.*, 2003.

4.3 MEDICIÓN DE METALES CON TXRF

4.3.1. Instrumentación para el análisis con TXRF

La instrumentación que se utilizó para el análisis fue Reflexión Radiografía Fluorescencia Espectrómetro Total 8030 C (TXRF)(FEI Company Munich, Alemania). El espectrómetro estaba provisto con un 80-mm² Si (Li) con una resolución de 158 eV, finos focos operado a 50 kV y 55 MA y un computador con un sistema de análisis de multicanales, combinado con un programa de espectro. El tiempo de medición de metales fue de 1000 s.

4.3.2. Eliminación de la materia orgánica por CPA

En un segundo paso, las especies fueron incineradas en un plasma frío de ceniza (Plasma-System 100, Technics Plasma GmbH, Kirchheim, Alemania). Los parámetros fueron los siguientes: Presión de oxígeno 1 mbar; oxígeno de alta pureza factor 4.5 (99.995% oxígeno), poder del microonda 300 W, tiempo de la reacción dos horas.

Para evitar contaminación, se suministró oxígeno separado con tubos de plástico y un filtro con 0.2 µm de tamaño de abertura. Esta técnica se utiliza para rastrear elementos de material biológico diminuto (rango - µg) debido a la **heterogeneidad** que presentan éstos sobre el cuarzo. Permitiendo la oxidación de materia orgánica, principalmente del carbono, el cual corresponde al 50 % del peso seco de los individuos, mejorando el descubrimiento de metales pesados (Woefl *et al.*, 2003). La oxidación de la materia orgánica fue a una temperatura de -180 °C (Plasma-sistema 100, Plasma de Technics GmbH, Kirchheim, Alemania).

4.4 DETERMINACION DEL FACTOR DE BIOACUMULACION

Para calcular el factor de bioacumulación de metales pesados, se dividió la concentración de cada metal encontrado en cada especie (cladóceros y copépodos), según el peso de cada individuo ($\mu\text{g/g}$) por la concentración promedio de metales existente en el agua ($\mu\text{g/L}^{-1}$). Pero como las concentraciones deben estar expresadas en las mismas unidades, se asumió que un litro de agua tiene un kilogramo de masa (con una densidad específica del agua de 1 g/ml).

Ejemplo:

Si: La concentración del Mn en el agua del lago es de: $26 \mu\text{g L}^{-1} / 1000 = 0.0026 \mu\text{g mL}^{-1}$

La concentración del Mn en el organismo es de : $74 \mu\text{g/g DW}$

Por lo Tanto: El Factor de Bioacumulación: $(74 \mu\text{g/g DW}) / (0.0026 \mu\text{g mL}^{-1}) = 2836$

4.5 ANALISIS ESTADISTICO

Los datos fueron analizados por los programas estadísticos: Statgraphics plus versión 2.0 y Statistics versión 5.0. Las concentraciones de los metales fueron comparadas entre las tres especies estudiadas con un análisis de varianza, Anova a una vía. Y se transformaron las concentraciones de metales pesados en las variables dependientes a $\log_{10}(X+1.5)$ para obtener las condiciones de normalidad y homocedasticidad. Se aplicó las pruebas "T-student" y el "test de Tukey" con un nivel de significancia del 95 % a fin de comparar las diferencias existentes.

V RESULTADOS

5.1 CONCENTRACION DE METALES TRAZA EN EL AGUA DEL LAGO RAPEL

Los valores máximos de concentración de metales en el agua, presentaron el siguiente orden jerárquico ($\mu\text{g L}^{-1}$): $\text{Mn} > \text{Fe} > \text{Cu} > \text{Ni}$.

La concentración más alta correspondió a 26 ($\mu\text{g L}^{-1}$) para el manganeso, 16.4 ($\mu\text{g L}^{-1}$) para el hierro, 8.9 ($\mu\text{g L}^{-1}$) para el cobre y 2.1 ($\mu\text{g L}^{-1}$) para el níquel (Tabla 3).

5.2 ACUMULACION DE METALES PESADOS EN ESPECIES ZOOPLANCTONICOS EN FUNCION A SU PESO

Los resultados de la acumulación de metales pesados tales como cobre, níquel, zinc, hierro, cromo, plomo y manganeso en las especies *Diatomus diabolicus* (0.41 mm a 1.67 mm) (Gráfico 1), *Ceriodaphnia dubia* (0.4 mm a 0.82 mm) (Gráfico 2) y *Bosmina chilensis* (0.38 mm a 0.5 mm) (Gráfico 3) en función a su peso (unidad: μg elemento /g peso seco) fueron en el siguiente orden jerárquico:

$\text{Fe} > \text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Ni} > \text{Pb}$. (Tabla 3).

El hierro, es el metal que presentó mayor concentración en todos los individuos, presentando el valor más alto de 4485 $\mu\text{g/g}$ en la especie de *B. chilensis*, y el más bajo de 90 $\mu\text{g/g}$ en *D.*

diabolicus (Gráfico 6). En cuanto al Mn, presentó la concentración más alta en *Ceriodaphnia dubia* con un valor de 271 $\mu\text{g/g}$ y el más bajo en *Diaptomus diabolicus* con 17 $\mu\text{g/g}$ (Gráfico 5). Con respecto al Zn, éste presentó un valor máximo de 198 $\mu\text{g/g}$ y un valor mínimo de 51 $\mu\text{g/g}$ en la especie *Ceriodaphnia dubia* (Gráfico 9). El Cu presentó un valor superior de 144 $\mu\text{g/g}$ en la especie de *Ceriodaphnia* y un valor mínimo de 17 $\mu\text{g/g}$ en *Diaptomus* (Gráfico 8). El Ni presentó las concentraciones más bajas con respecto a los otros metales, obteniendo el valor más alto de 36 $\mu\text{g/g}$ en la especie de *Ceriodaphnia dubia* (Gráfico 4), al igual que el plomo, a diferencia que éste fue el que presentó las concentraciones más bajas de todos los metales analizados (Gráfico 6).

Dentro de las tres especies, la que presentó una mayor concentración en la mayoría de los metales fue *Ceriodaphnia dubia* (1.31 - 6.07 μg peso seco), luego, *Bosmina chilensis* (1.08 - 6.77 μg peso seco) y las concentraciones más bajas la obtuvo *Diaptomus diabolicus* (1.01 - 34.87 μg peso seco) (Tabla 4).

De acuerdo a estas diferencias, las muestras fueron sometidas a un análisis de varianza, Anova a 1 vía, 3 niveles para todos los metales (Tablas: N°5 a la N°11) las cuales mostraron diferencias entre los elementos y las especies, salvo en el cromo (P- valor: 0.98) (Tabla 5). A continuación se les aplicó el test posterior de Tuckey, el cual indicó que existían diferencias significativas entre el Copépedo *Diaptomus* y los Cladóceros, *Bosmina* y *Ceriodaphnia*. En el caso del zinc sólo existió diferencia significativa (P valor: 0.0125) entre *Diaptomus* y *Bosmina*. Entre los cladóceros no se determinaron diferencias significativas (Tabla 10).

5.3 DETERMINACION DEL FACTOR DE BIOACUMULACIÓN DE METALES EN ESPECIES ZOOPLANCTÓNICAS.

De acuerdo a la especie y peso, la secuencia obtenida para el factor de bioacumulación fue la siguiente (Tabla 12):

- En *C. dubia*: $Fe > Cu \approx Ni > Mn$.
- En *B. chilensis*: $Fe > Cu > Ni > Mn$.
- En *D. diabolicus*: $Fe > Cu > Ni > Mn$.

El hierro registra el factor de bioacumulación más alto en las tres especies, con un valor de 273000 en *Bosmina*, casi duplicando el factor de bioacumulación que presentó *Ceriodaphnia* con 173000 y quintuplicando a *Diatomus*, el cual presentó un factor de bioacumulación de 34000 (Tabla 12).

El cobre registró el segundo factor de bioacumulación más alto con respecto a los otros metales analizados, con un factor de 16000 en la especie de *Ceriodaphnia dubia*; duplicando el factor que presentó *Diatomus* con 8207 (Tabla 12); En el caso del Mn, los factores de bioacumulación, *Ceriodaphnia* (10432) y *Bosmina* (7206) acumulan 4 a 5 veces más que *Diatomus* (2183)(Tabla 12).

5.4 COMPARACION DE LA BIOACUMULACIÓN DE METALES EN LOS MICROCRUSTACEOS DEL LAGO RAPEL V/S LAGO LAJA

Al comparar las concentraciones de metales en los microcrustáceos del Lago Rapel con los microcrustáceos del lago Laja, se observó que en el lago Rapel existe una mayor acumulación por parte de los organismos, específicamente para el cobre, con una media de 69.0 para *Bosmina* y 47.2 para *C. dubia* en Rapel y 7.87 para *D. pulex* en el lago Laja, encontrándose diferencias significativas entre los cladóceros (Tabla 13). En cuanto al hierro, las medias observadas fueron de 1990 y 882 para *B. chilensis* y para *C. dubia* en Rapel respectivamente, y 654 para *D. pulex* en el lago Laja, encontrándose diferencias significativas igualmente en la acumulación para ambos lagos.

La diferencia significativa más importante (con un p valor: 0.00) radica en la acumulación del Cu presentada por los microcrustáceos del lago Rapel, las cuales fueron hasta casi 8 veces más, en relación con el L. Laja y casi 4 veces más para el hierro (Tabla 13). Con respecto a la acumulación presentada para los otros metales tales como Zn, Mn, Ni, estos también presentan diferencias significativas en la acumulación presentadas por las especies, pero en menor grado si se compara con la acumulación de cobre y hierro (Tabla 13).

VI DISCUSION

En general, las concentraciones de metales pesados cuantificadas en el presente estudio en las aguas del lago Rapel, durante Octubre del 2002, no sobrepasan los niveles establecidos por la Norma Chilena de Uso de Aguas Para Riegos (NCh 1 333/1978), ni los límites máximos permitidos para la descarga de residuos líquidos a cuerpos de agua lacustre (República De Chile D.S. N°90, 2000), para los metales: Cu, Cr, Fe, Ni, Mn y Zn (Tabla 3).

En relación a concentraciones de metales pesados cuantificados en cuerpos de agua, antecedentes recopilados por Wetzel (1981), indica que la cantidad normal de hierro que se encuentra en la superficie oxigenada de aguas naturales con un pH entre 5 y 8 se encuentran en un rango de 50 a 200 (fig/L), de acuerdo a esto, se puede inferir que las concentraciones determinadas en el lago Rapel (16.4 $\mu\text{g/L}$) se encuentran dentro de los parámetros normales. Con respecto a otros metales cuantificados, concentraciones medias en las superficies de lagos y ríos mundiales es de 35 $\mu\text{g/L}$ para el manganeso y 10 $\mu\text{g/L}$ para el cobre, si se comparan estos valores con los niveles de manganeso (26 $\mu\text{g/L}$) y cobre (8.9 $\mu\text{g/L}$) obtenidos en Rapel, se puede inferir que las concentraciones encontradas en éste lago registran un nivel inferior a las concentraciones descritas por la literatura a nivel internacional, al igual que los otros metales analizados.

Sin embargo, al establecer tales comparaciones, hay que considerar otros factores tales como las características de los cuerpos de agua, si son naturales o artificiales, condiciones físico química, como también factores hidrológicos como el caudal y recambio de agua, el cual puede influir significativamente en el comportamiento de los ciclos biogeoquímicos en este embalse (Dussart,1984).

Por otra parte, cuando se establece un análisis comparativo a nivel Nacional, entre las concentraciones de metales pesados obtenidos en el lago Rapel y los antecedentes proporcionados por Mages *et al.*, (2003), en cuerpos de agua sin influencias de relaves (lagos Panguipulli y Llanquihue), muestran que las concentraciones en el agua del lago Rapel sobrepasan considerablemente a las concentraciones encontradas en dichos lagos nordpatagónicos (Tabla 3). De este modo se puede verificar que los valores encontrados en el lago Rapel, para los metales Fe ($16.4 \mu\text{g L}^{-1}$), Cu ($8.9\mu\text{g L}^{-1}$) y Mn ($26\mu\text{g L}^{-1}$), corresponden a valores que son 2.1, 11 y 18 veces más altas que las determinadas en el lago Panguipulli, para el Hierro, Cobre y Manganeso, respectivamente; mientras que cuando se realiza el mismo análisis comparativo con el lago Llanquihue, dichas concentración son 2.4, 2.7 y 18 veces más altas en el lago Rapel (Tabla 3). Lamentablemente, no fue posible establecer un análisis estadístico entre las concentraciones de dichos metales entre los tres cuerpos de agua, debido a la escasa disponibilidad de datos.

Por lo anterior, de acuerdo a los resultados encontrados en el presente estudio se podría inferir que las concentraciones de metales pesados del lago Rapel se encuentran dentro de los rangos establecidos por la normativa vigente, sin embargo, sus valores son superiores si se comparan con otras concentraciones encontradas en lagos nacionales, como los recientemente mencionados.

Los niveles de metales pesados encontrados en el agua del embalse Rapel, están relacionadas directamente con las características físicas y químicas del ambiente, como dureza, materia orgánica, temperatura, oxígeno disuelto y pH; de acuerdo al último factor mencionado, se ha determinado que el pH influye directamente en la solubilidad de los metales pesados (Murgel,

1984; Gagneten & Vila, 2001). En este contexto, en el presente estudio se encontró que el manganeso, presentó las concentraciones más altas (26 $\mu\text{g/L}$), a lo cual se debe adicionar que posee una solubilidad considerablemente mayor que la del hierro, de manera que en el lago Rapel se registró una concentración de 16.4 $\mu\text{g/L}$. Finalmente en lo que respecta al Cobre este presentó la menor concentración con sólo 8,9 $\mu\text{g/L}$.

Estudios realizados por Fleming & Trevors, (1989) y Gagneten & Vila, (2001), revelan que el cobre alcanza un nivel tóxico en sus formas iónicas a concentraciones sobre 5 $\mu\text{g/L}$ y a un pH 6 en la mayoría de cuerpos de agua dulce; sin embargo, las idénticas concentraciones no estarían produciendo efectos negativos a un pH 8; lo cual podría explicar si las concentraciones existentes tienen un efecto tóxico para las especies, de acuerdo sólo a esto, por lo tanto, se podría inferir que en el embalse Rapel las concentraciones de cobre determinadas (8,9 $\mu\text{g/L}$), no tendría efectos tóxicos debido a que el pH del embalse, tiende a alta alcalinidad. En este sentido, de acuerdo a los antecedentes proporcionados por Vila *et al.* (1997); Vila *et al.*, (2000) y Roa, (2001), se indica que el Embalse Rapel ha recibido relaves con niveles significativos de sulfato de cobre durante los últimos quince años, lo cual ha contribuido a alcalinizar las aguas y a cambiar una serie de parámetros hasta la fecha.

Vila *et al.*, (1987) caracteriza al embalse Rapel como un lago mesotrófico monomíctico temperado en proceso de eutrofización. Sin embargo, a partir del año 1987, autores como: Vila *et al.*, (1997); Vila *et al.*, (2000) y Roa, (2001), señalan que este cuerpo de agua evidencia severos cambios en una serie de parámetros ambientales; esto último como consecuencia de la intensificación de actividades turísticas, agrícolas, domésticas e industriales, las cuales se

desarrollan preferentemente en las riberas del embalse, y cuyos desechos (riles y aguas servidas), son evacuados directamente al lago sin ningún tipo de tratamiento (Adams *et al.*, 2000).

Por otra parte, a este incremento en las cargas de materiales orgánicos e inorgánicos, que recibe el embalse, debido a las actividades antropogénicas, se deben agregar los riles provenientes de las actividades mineras. Estas se han incrementado con la creación del embalse de relaves Carén de la División Codelco, Chile (Vila *et al.*, 1997; Adams *et al.*, 2000; Roa, 2001). En este contexto, hay que considerar que del mineral extraído, sólo el 2% corresponde al metal de interés, el resto es descartado como desecho, el 50% material estéril, 44% relaves y 4% escorias (López, 2003). De esta forma en promedio, se generan 28 toneladas de relave por cada tonelada de concentrado de cobre producido, siendo sólo 10 kilogramos de cobre y los 990 kilogramos restantes, son desechos, los cuales son evacuados al tranque de relaves Caren (López, 2003). Por lo anterior, un manejo descuidado de los desechos de mina pueden constituir un serio riesgo ambiental, para los cuerpos de agua al generarse arrastres de desechos y residuos, causados por las precipitaciones y/o eventualmente debido a crecidas de ríos y avalanchas. Estos eventos pueden conducir a crear fenómenos de acidificación de las aguas, solubilización de metales, arrastre de sedimentos (situación que se constató en el caso de la bahía de Chañaral) y contaminación de napas subterráneas (López, 2003). De allí la importancia de cumplir con la normativa vigente, tanto en lo que respecta al manejo de los residuos sólidos, como de los vertidos de los residuos líquidos a los cuerpos de agua y en especial a los sistemas lénticos.

Por otra parte, es importante señalar que los afluentes principales del embalse Rapel: ríos Cachapoal, Tinguiririca y estero Alhué (Araya & Zúñiga, 1982; Vila *et al.*, 1997; Ruiz & Bahamonde, 2003), también contribuyen con una carga natural de metales. En este caso el

Departamento de Normalización y Control de Chile (1992), asegura que el río Cachapoal, conformado por los subsistemas fluviales Fangal y Coya, se caracteriza por presentar aguas con una carga importante de cobre disuelto (22.57 mg/L); además se agrega que el Tinguiririca igualmente presenta contenidos altos de manganeso (0.06 mg/L). Estas cargas de minerales serían consecuencia de eventos fortuitos ocurridos a principios del siglo XX (1911-1915), que cargaron de minerales los lechos de los ríos. Por lo anterior, se debe tener en consideración que actualmente, todavía se siguen derramando accidentalmente depósitos de relaves a dichos cuerpos de agua (Folchi, 2003), lo que contribuye a incrementar las concentraciones de metales en el embalse.

En el caso del cobre, este mineral en la actualidad no estaría produciendo efectos tóxicos directamente sobre la biota acuática del embalse; no obstante, puede estar produciendo efectos de bioacumulación en algunos eslabones de la cadena trófica acuática y además; eventualmente puede estar integrándose a las tramas tróficas terrestres, debido al empleo del agua en actividades de regadío (Gagneten & Vila, 2001). Situación que es mencionada y destacada por informes técnicos de CODELCO, los que evalúan positivamente el aprovechamiento de dichas aguas para el riego agrícola de tipo intensivo, regando plantas y hortalizas; y además, el abastecimiento de agua potable a una densa red de pequeñas y medianas ciudades de la región.

La interpretación y obtención de las condiciones ambientales determinadas mediante cuantificaciones directas de metales pesados en la masa de agua, tiene algunas desventajas debido a que los metales se pueden encontrar en muy baja concentración, presentar una gran variabilidad espacial y temporal; por lo tanto, muchas veces la presencia no esta relacionada con la

disponibilidad para los organismos (Paredes, 1998; Alarcón, 2003). Por esta razón, actualmente, existen métodos alternativos que tienen relación directa con la biota ya que trabajan con organismos y son ampliamente utilizados para monitorear metales pesados en sistemas acuáticos (Mages *et al*, 2001; Mages *et al*, 2003).

Estos métodos consisten en cuantificar la abundancia o biodisponibilidad de contaminantes de acuerdo a la concentración presente en los tejidos de los animales, los cuales son referidos como bioindicadores o biomonitores (Ying *et al.*, 1993; Mages *et al.*, 2001; Mages *et al.*, 2003). Siendo éstos, especies o comunidades de organismos cuya presencia, comportamiento o estado fisiológico, presenta una estrecha correlación con determinadas circunstancias del entorno, por lo que pueden utilizarse como indicadores de éstas (Ongley, 1997; Dobson & Gilpin, 1999); En cuanto a los organismos acuáticos estos pueden acumular concentraciones mucho más altas, de las que se encuentran a su alrededor (Yasuno & Whitton, 1986).

Las concentraciones que se acumularon en estos individuos acuáticos (cladóceros y copépodos), proporcionan una relación esencial entre la concentración de metales en el ambiente y los efectos de éstos sobre la biota. En este contexto, la bioacumulación que presentaron los animales en el presente estudio, y de acuerdo a las concentraciones relativas al peso ($\mu\text{g}/\text{gr}$) (Tabla 4), las cuales fueron sometieron a un análisis de Anova (Tabla 6 a la 12) y a un test de Tuckey, presentando diferencias significativas entre las especies y metales salvo en el cromo, con un p-valor: 0.98 (Gráfico 10), específicamente entre el Copépodo (*D. diabolicas*) y los Cladóceros (*B. chilensis* y *C. dubia*) (Gráficos 4 al 9).

Estas diferencias se pueden producir a causa de que la acumulación de metales pesados por parte de los organismos acuáticos es influida por varios factores, tales como: localización, fluctuaciones estacionales, profundidad, temperatura y salinidad; condiciones fisiológicas del animal, etapa de vida del organismo y modo de alimentación (Martincin'c *et al.*, 1984; Chang *et al.*, 2002).

De acuerdo con lo señalado anteriormente, la fisiología controla primordialmente la ingesta de metales, como la toma del metal desde la fase disuelta y su tasa de depuración, dependiendo principalmente del consumo de los individuos (Ying *et al.*, 1993; Chang *et al.*, 2002). En cuanto a las conductas alimenticias de los animales, éstas son específicas para cada especie, por ejemplo, si se compara la conducta alimenticia de cladóceros y copépodos filtradores, los cladóceros no son selectivos como los copépodos calanoideos, los cuales presentan numerosos quimiorreceptores en las sedas de sus piezas bucales (Haney, 1985; González de Infante, 1988; Villalobos, 2002), sin embargo, tanto cladóceros como copépodos, poseen la misma alimentación, fitoplancton, además de las fuentes alternas de nutrición como: material detrítico y bacterias (Reinfelder & Fisher, 1991).

De acuerdo a los resultados en el presente estudio, la distribución de la concentración de los metales acumulados en las especies presenta el mismo patrón en el siguiente orden jerárquico:

$$\text{Fe} > \text{Cu} > \text{Ni} > \text{Mn}.$$

En este sentido, la captación del metal va en el mismo orden para las tres especies estudiadas, ya sea directamente de la dieta (principalmente algas), o directamente del agua.

En cuanto a las concentraciones de metales más altas encontradas en los individuos, corresponden al hierro, el cual se puede relacionar con las altas concentraciones de este tanto en el fitoplancton como en el agua. Debido a que el hierro, cumple una función en el proceso enzimático de síntesis de clorofila y proteínas, y en el metabolismo respiratorio de todo protoplasma viviente (Wetzel, 1981).

Por otra parte, el manganeso se encontró en menores concentraciones en los organismos, presentando una gran concentración en el agua, lo que estaría indicando que este elemento tiende a ser menos acumulado por el fitoplancton y en consecuencia por los animales, debido a que la asimilación y acumulación de los metales son principalmente asociados con las partículas de alimento, corroborando con ésto, que los animales poseen una misma alimentación, como se mencionó anteriormente.

Antecedentes emitidos por González de Infante (1988), afirma que las algas contienen una alta cantidad de hierro y otros elementos como Mg, Ca, Na, Mn, Cu, Zn, entre otros, siendo utilizados por los organismos para su funcionamiento como requerimientos biológicos, en cuanto a los no esenciales, son poco asimilados por parte del zooplancton (Fisher, 1985). Los metales esenciales, juegan un rol fundamental en el metabolismo de algunas especies como micronutrientes (cobre y zinc) (Murgel, 1984; Langston, 1990; Rainbow, 1997; García *et al.*, 2002); Con respecto a esto, existen animales que poseen mecanismos para acumular, al menos, pequeñas cantidades de ciertos metales. En el caso del zinc, es más abundante en especies que lo requieren normalmente en la actividad catalizadora de sus enzimas y en su requerimiento normal metabólico (Nelson, 1996; Martinci'c *et al.*, 1984). En el caso del cobre, cumple una función en el metabolismo de los organismos, por lo que la rápida acumulación de cobre disuelto, es asociada con tejidos internos o fuertemente encontrados a la superficie de los animales (Chang *et al.*, 2002).

Con respecto a la eliminación de los metales, algunos de estos tienen una fuerte tendencia a ser vinculados a las proteínas, como un requerimiento biológico y o una regulación esencial del metal. Siendo el intestino una importante vía de eliminación de los metales en organismos tales como crustáceos y moluscos; en el caso de *Mytilus edulis*, con respecto al hierro, estos acumulan altas concentraciones, pero el 30% es eliminado por medio de las fecas vía intestino (Brown, 1986). En consecuencia, el orden de las concentraciones de los metales que acumulan los animales, posiblemente se deben al tipo de alimentación, como también a las funciones que cumplen ciertos metales en tales organismos acuáticos.

Sin embargo, aunque las concentraciones de los metales en los organismos van en el mismo orden en las tres especies, los factores de bioacumulación determinados fueron más altos en las especies de cladóceros (*Ceriodaphnia* y *Bosmina*) los cuales tienen un tamaño y peso menor. Mientras que *Diatomus* que es la especie más grande, presentó los factores de bioacumulación más bajos con respecto a las otras 2 especies, con lo cual se podría sugerir, que el tamaño corporal es una variable que también influye en el nivel de acumulación de los metales pesados (Cossa *et al.*, 1980; Haney 1985; Nelson, 1996). Según Cossa *et al.*, (1980) los Mytilidos más pequeños contienen una mayor cantidad de metales, que los individuos' más grandes. A este respecto, estudios realizados por Nelson (1996), determinaron que en *Mytilus edulis*, las bajas concentraciones en los individuos de mayor tamaño, pueden estar asociada con una disminución en la ingestión de metales en la dieta o asociada como una dilución del tejido animal en crecimiento; como también, una disminución de las actividades fisiológicas (Chang *et al.*, 2000).

Por otra parte, algunos estudios determinan que la acumulación de ciertos metales, tales como Fe y Mn, presentan variaciones, atribuyéndolas a patrones reproductivos y a variaciones en la actividad metabólica de los animales (Cossa *et al.*, 1980; Howard & Brown, 1983). En este contexto, según Eisler (2000), las concentraciones de algunos metales en organismos acuáticos de agua dulce, disminuyen con el aumento de la edad y crecimiento, como también varían de acuerdo al sexo, tejido u órgano. Con respecto a estos últimos puntos, esto es coincidente con este estudio, debido a que se pudo observar que la mayoría de cladóceros específicamente *Bosmina* presentaba huevos.

Por otra parte, cuando se establece un análisis comparativo entre los resultados obtenidos por Woelfl *et al.*, (2003), respecto a la acumulación de metales pesados entre los microcrustáceos del lago Laja (*D.pulex*), y los resultados de obtenidos en el presente estudio en el embalse Rapel (*C.dubia* y *B.chilensis*), se determinó que existen diferencias significativas en las concentraciones de Mn (P-valor: 0.012), Fe (P-valor: 0.004), Ni (P-valor: 0.000), Cu (P-valor: 0.000), Zn (P-valor: 0.030) (Tabla 12). De acuerdo a las diferencias encontradas en los metales, las más predominantes son para el hierro, el cual se contiene hasta tres veces más en la especie *B.chilensis*, y para el níquel, el cual se contiene hasta dos veces en la especie *C.dubia*, ambos en el lago Rapel. La diferencia más importante, se determinó para el Cu, el cual se contenía hasta 8 veces más en los microcrustáceos del lago Rapel (P valor < 0.05) (Tabla 12).

Esto probablemente se debe a que el lago Rapel contiene 5 veces más cobre en sus aguas que el lago Laja. De esta manera, se evidenciaría que las especies que se encuentran sometidas a mayores concentraciones en este caso de Cobre, u otros metales, tienden a acumular mayores cantidades de metales en su organismo.

En consecuencia, de acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio se puede verificar la existencia de una relación directa entre las concentraciones de metales pesados cuantificados en el agua y el contenido de dichos metales en los animales. De esta manera se pone en evidencia que el agua de los relaves de cobre influyen directamente en la bioacumulación de este mineral en los organismos constituyentes del zooplancton.

CONCLUSIONES

De esta manera se puede concluir:

El agua del lago Rapel:

- Presenta concentraciones de metales pesados dentro de los límites Nacionales establecidos por la Norma Chilena de Uso de Aguas Para Riegos (NCh 1 333/1978) y para los Límites Máximos Permitidos para la descarga de Residuos Líquidos a cuerpos de agua lacustre, sin embargo, estas concentraciones son superiores si se comparan con otros lagos a nivel Nacional.
- Con respecto a las Normas Nacionales mencionadas anteriormente para determinar las concentraciones máximas permitidas para los metales pesados, se podrían considerar otros parámetros, como factores hidrológicos por ejemplo, caudal, tasa de renovación, etc.
- Los metales pesados que tuvieron mayores concentraciones fueron el Fe, Mn, Cu, y los que presentaron menores concentraciones fueron el Zn, Ni.
- Según la concentración promedio de metales, en el agua del lago se puede ver el siguiente orden jerárquico: Mn > Fe > Cu > Ni > Zn
- La interpretación y cuantificación de los metales pesados determinados directamente del agua, tiene algunas desventajas debido a que los metales se pueden encontrar en muy baja concentración, presentar una gran variabilidad; por lo tanto, muchas veces la presencia no esta relacionada con la disponibilidad para los organismos.

En organismos del lago Rapel:

- Las concentraciones encontradas más altas de metales fueron Fe y Mn, en cambio las concentraciones mas bajas fueron de Pb y Cr.

- Según el factor de bioacumulación, se puede ver el siguiente orden (en forma decreciente):
 $Fe > Cu > Ni > Mn$.
- Esta secuencia se puede deber a los hábitos alimenticios y requerimientos nutricionales de los animales, los cuales por absorción directa o por filtración retienen metales.
- En la mayoría de los metales, la especie que más acumulo fue *Ceriodaphnia dubia*, específicamente en el hierro, con un valor de 4485 $\mu\text{g/g}$. Y la especie que menos acumuló, fue *Diatomus diabolicus* con un valor más alto en el hierro de 564 $\mu\text{g/g}$.
- El tamaño corporal es una variable que también influye en el nivel de acumulación de los metales pesados, los organismos más pequeños (cladóceros) fueron los que acumularon más metales, posiblemente debido a que las concentraciones varían según la edad y crecimiento, como también del sexo, tejido u órgano.
- La bioacumulación de los microcrustáceos del Lago Rapel, en relación con la bioacumulación de los microcrustáceos del lago Laja, fue mucho mayor, en casi todos los metales, pero específicamente en el cobre, corroborando que la cantidad de metales presentes en el agua tienen una relación directa con los microcrustáceos.

Por lo tanto, el lago Rapel corresponde a un cuerpo de agua con alteraciones producto del impacto antropogénico, difusas y puntuales, las que se reflejan especialmente en los mayores contenidos de cobre tanto en el agua, como en los animales comparados con otros lagos de Chile. De acuerdo a los valores estudiados, se puede concluir que la hipótesis planteada en este trabajo es aceptada, ya que los microcrustáceos presentaron una acumulación de metales de acuerdo a las concentraciones existentes en el medio que los rodea, siendo mayor en el ecosistema del lago Rapel, el cual contiene una mayor concentración de metales.

VII. REFERENCIAS

- Adams, D; Vila, I; Pizarro J& Salazar, C. (2000):** Gases in sediments of txo eutrophic Chilean reservoirs: potencial sediment oxigen demand and sediment – water flux of CH₄ and CO₂ before and after an El Niño event. Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie 27: 13765-1381.
- Alarcón, S. (2003):** Determinación de elementos traza (Cd, Cu, Ni, Hg, y As) en agua de mar y sedimento de la bahía de Puerto Montt, año 2002. Tesis, Escuela de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.
- Arcos, D. (1998):** Minería del Cobre, Ecología y Ambiente Costero. Minería Escondida Ltda., 350-410 pp.
- America, L. & Molina, A. (2001);** Curso Basico de toxicología Ambiental. Centro Panamericano de Ecología humana y Salud. Organización Panamericana de la salud Organización mundial de la salud. Editorial Limusa, S.A. México. 7 pp.
- Bahamonde, N. & Cabrera S. (1984):** Embalses Fotosíntesis y Productividad Primaria. Programa sobre el Hombre y la Biosfera, UNESCO. Universidad de Chile.-Impresores: Alfabet 236 pp.

Bahamonde, N. y R. Ruiz (2003): Distribución Estacional de Cladóceros y Copépodos en el Lago Rapel, Chile Central. Revista Chilena de Historia Natural, Santiago Chile. Publicación Ocasional N° 58: 8; 33-37.

Becker A., Klöck W., Friese K., Schreck P., Trutler H., Spettel B & Duff M. (2001): Lake Süßer See as a natural sink for heavy metals from copper mining. Journal of Geochemical Exploration 74, 205- 217.

Brown, S. (1986): Feces of intertidal benthic invertebrates: influence of particle selection in feeding on trace element concentration. Marine Ecology-Progress Series. Vol. 28: 210-231.

Cabrera S., V. Montecino, I. Vila. N. Bahamonde, I. Bahamondes, I. Barends, R. Rodríguez, R. Ruiz y D. Soto. (1977): Características limnológicas del embalse Rapel, Chile Central.

Castillo G., Vila I. & Neild E. (2000): Ecotoxicity Assessment of Metal and wastewater using Multitrophic Assays. Environmental Toxicology 15 : 370-375.

Ceccaldi H. (1997): Crustacean Nutrition. Advances in world Aquaculture. United States of America. 57 pp.

Chang S. & Reinfelder J (2002): Relative importance of dissolved versus trophic bioaccumulation of copper in marine copepods. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 231: 179 -186.

Chen C., R. Stemberger, B. Klaue, J. Blum, P. Pickhardt & Folt C. (2000): Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. *Limnology and Oceanography*. 45 (7), 1525-1536.

Comisión Nacional del Medio Ambiente (1996): Metodologías para la caracterización de la calidad ambiental. Santiago, Chile. 235 pp.

Cossa, D., E. Bourget, D. Pouliot, J. Piuze & J. Chanut (1980) : Geographical and Seasonal Variations in the Relationship Between Trace Metal Content and Body Weight in *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 58, 7-14.

De los Ríos, P. & Soto, D. (2002): Efecto de la disponibilidad de recursos energéticos, estructurales y de protección sobre la abundancia de copépodos y cladóceros zooplanctónicos lacustres Chilenos. Libro de Resúmenes, XI Taller Nacional de Limnología. Universidad Católica de Temuco, Chile. 55 pp.

De Mott, W. (1982): Feeding selectivities and relative ingestion rates of *Daphnia* and *Bosmina*. *Limnology and Oceanography*, 27 (3), 518-527.

Departamento de Normalización y Control (1992): Norma Técnica Relativa a descargas de residuos industriales líquidos (RIL). Norma provisoria de Superintendencia de Servicios Sanitarios 02/10/92.

Dobson, C. & Gilpin, G. (1999): Watersheds A Practical Handbook for Healthy Water. A Firefly Book. Canadian Cataloguing in Publication Data. 74-92 pp.

Dorador, C., Vila I., & G. Castillo (2002): Composición fitoplanctónica e incorporación de sulfatos en cubeta Alhue, Embalse Rapel. Libro de Resúmenes, XI Taller Nacional de Limnología. Universidad Católica de Temuco, Chile. 60 pp.

Dussart, B. (1984): Embalses Fotosíntesis y Productividad Primaria. Curso-Taller realizado por la Universidad de Chile, enero de 1983. Santiago, Chile. pp 20.

Eisler, R. (2000): Handbook of Chemical Risk assessment. Health, Hazard to Humans, Plants and Animals. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, 650 pp.

FAO. Instituto Geológico y Minero de España (1981): Contaminación de las aguas subterráneas: Tecnología, economía y gestión. 42 pp.

Fisher, N. (1985): Accumulation of metals by marine picoplankton. Marine Biology 87, 137-142.

Fleming C. & Trevors J. (1989): Cooper toxicity and chemistry in the environment. Water, Air, Soil Pollut 44:143-158.

Folchi, M. (2003): El beneficio del cobre por 'vía húmeda' y su impacto en el medio ambiente: Chile, 1904-1990. Simposio de Historia Ambiental Americana-Santiago, Chile. Universidad de Chile y Universidad Autónoma de Barcelona. 2-3 pp.

Gagnetten, A. (2000): Efectos del Cu y del PH sobre la adecuación biológica de *Ceriodaphnia dubia* (Richard 1894) (Crustacea, Cladóceras) en experimentos de Microcosmos. Tesis Universidad de Chile.

Gagnetten, A. & Vila, I. (2001): Effects of Cu^{+2} on the Fitness of *Ceriodaphnia dubia* (Richard 1894) (Crustacea, Cladóceras) in Microcosm Experiments. Environmental Toxicology 16, 428-438.

García, E., Rodríguez, J., Fernández, J. (2002): La ingeniería Ambiental entre el reto y la oportunidad. Rodríguez, J. (editor). Editorial Síntesis. España, 47-89 pp.

González de Infante A. (1988): El plancton de las aguas continentales. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington. 25-65 pp.

Gordillo, D. (1995): Ecología y Contaminación Ambiental. Mexico Interamericana. McGraw-Hill. 94 pp.

Haney, J. (1985): Regulation of cladoceran filtering rates in nature by body size, food concentration, and diel feeding patterns. *Limnology and Oceanography*. 30 (2): 397-411.

Howard, L. & Brown, B. (1983): Natural variations in tissue concentration of copper, zinc and iron in the polychaete *Nereis diversicolor*, *Marine Biology*., 78: 87-95.

Instituto Nacional de Normalización (1978): Norma 1 333 del año 1978 modificada en el año 1987. Valores normados para uso de agua para riego. Instituto Nacional de Normalización. Santiago Chile. 4 pp.

Langston, W. J. (1990). Toxic Effects of Metal and the Incidence of Metal Pollution in Marine Ecosystems. In: R. W. Furnes & P. S. Rainbow (Edc.), *Heavy Metals in the Marine Environment*. 256pp.

López P., Ainzúa S. Y Zolezzi C. (2003): La Minería y su Pasivo Ambiental. Análisis de Políticas públicas. Serie APP- número 24. Fundaciones Terram, Chile. Pp 1-3.

Mages, M. S. Woelfl & W.v. Tuempling (2001). A method for trace element determination of single *Daphnia* specimen using total X-ray fluorescence spectrometry- *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* Vol 56/11, 2209-2217 pp.

Mages, M., S. Woelfl & M. Óvári. (2003). The use of a portable Total Reflection X-ray Fluorescence Spectrometer (TXRF) in field experiments in Chile. *Acta Spectrochimica Part B: Atomic Spectroscopy*.

Mann, E. N. Ahlgren & S.Chisholm (2002): Copper toxicity and cyanobacteria ecology in the Sargasso Sea. *Limnology and Oceanography*.47 (4). 2002. 976-988.

Martincin'c D., H. Nurnberg, M. Stoepler & M. Branica (1984): Bioaccumulation of heavy metals by bivalves from Lim Fjord (North Adriatic Sea). *Marine Biology* 81, 177-188.

Martínez, G. (2000). Conducta alimentaria de *Daphnia ambigua* Scourfield 1947, *Moina micrura* Kurz 1974 y *Ceriodaphnia dubia* Richard 1895 (Cladóceras) frente a un gradiente de concentración de alimento. *Revista Chilena de Historia Natural* 73: 47-54.

Murgel, S. (1984): Limnología sanitaria, Estudio de la polución de aguas continentales. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos Programa regional de Desarrollo Científico y Tecnológico monografía N° 28. Washington. 9-79 pp.

Nelson, P. (1996): Concentración de metales pesados en invertebrados, halófilos y sedimentos en el complejo estuarial Valdiviano. Tesis Escuela de Biología Marina, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Ongley, E. (1997): Lucha contra la contaminación agrícola de los recursos hídricos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 4 pp.

Paredes, M. (1998): Determinación de metales pesados en 2 especies de bivalvos en el estuario de Valdivia y la bahía de Corral (X región) mediante análisis electrotermico. Tesis Escuela de Biología Marina, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Porter K., Feig Y & Vetter f. (1983): Morphology, flow regimes, and filtering rates of *Daphnia*, *Ceriodaphnia*, and *Bosmina* fed natural bacteria. *Oecología* (Berlin) 58: 156-163.

Rainbow, P (1997): Ecophysiology of Trace Metal Uptake in Crustaceans. *Estuarine, Coastal and Shelf. SCIENCE.* 44, 169-175.

República De Chile. DECRETO N°90, Santiago, 30 de mayo del 2000: Establece Norma de emisión para la regulación de contaminates asociados a las descargas de residuos líquidos a cuerpos de aguas lacustres.

Reinfelder J. & Fisher N. (1991): The Assimilation of Elements Ingested by Marine Copepods. *SCIENCE.* 251: 794-796.

Roa, P. (2001). Análisis de impactos ambientales en la calidad de las aguas del lago Rapel y sus potenciales efectos en la mortandad de los peces. Tesis Escuela de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Sánchez, L. (1995). Control de la contaminación de las aguas. Departamento de Engenharia de Minas. Escola Politécnica da Universidad de São Paulo. Aspectos Geológicos de Protección Ambiental, Volumen I, UNESCO. 265 pp.

Schnoor, J. (1996): Environmental modeling: fate and transport of pollutants in water, air, and soil. New York: John Wiley, 3-491pp.

Schwab, G., Fangmeier, D. & Elliot, W. (1996): Soil and Water management Systems. 4TH Edition. John Wiley & Sons, I. New York Chichester Brisbane Toronto Singapore. 162-162pp.

Tejeda R., Domínguez P. & Zazopulos, M. (2002): Bioensayos de toxicidad aguda con *Daphnia magna* Strauss (Crustácea; Cladóceras) con sedimentos del curso superior del río Aconcagua. Libro de Resúmenes, XI Taller Nacional de Limnología. Universidad Católica de Temuco, Chile. 48 pp.

Vila I., Barends I. & Montecinos V. (1987): Abundancia y Distribución temporal del fitoplancton en el embalse Rapel, Chile Central. Revista Chilena de Historia Natural: 37-55.

- Vila, I., Contreras, M. & Pizarro, J. (1997):** Eutrophication and phytoplakton selective responses in a temperate reservoir. *Verhandlungen Internationale Vereinung für Teorethische und Angewandte Limnologie* 26: 798-802.
- Vila I., Contreras, M., Montecinos, V., Pizarro, J. & Adams, D. (2000):** Rapel: A 30 years temperate reservoir. Eutrofication or contamination? *Arch. Hydrobiology. Spec. Sigues Advances Limnology* 55: 31-44.
- Villalobos, L. (2002):** Zooplankton, Apuntes de limnología práctica Zool 331. Universidad Austral de Chile. 12 - 26 pp.
- Villalobos, S. (1997):** Distribución espacial y temporal de metales traza en los sedimentos el sistema estuarial Valdivia. Tesis Escuela de Biología Marina, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.
- Wang, X & Yu, R. (2002):** Trace metals assimilation and release budget in *Daphnia magna*. *Limnology and Oceanography*. 47 (2). 495-504.
- Wetzel, R. (1981):** Limnología. Ediciones Omega, S. A.- Casanova, Barcelona- 36. 222-241 pp.
- Wetzel, R. & Likens, G. (2000):** Limnological Analyces. 3Th. Edition. New York Berlín. 241 pp.

Woelfl, S., Mages, M. & F. Encina. 2003. Cold plasma ashing improves the trace element detection of single *Daphnia* specimens by Total Reflection X-ray Fluorescence Spectrometry. - *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 58B: 2157-2168

Wolterbeek, H & Verburg, T. (2001): Predicting metal toxicity revisited: general properties vs. Specific effects. *The Science of the Total Environment* 279(2001) 87-115.

Yasuno, M. & Whitton, B. (1986): Biological monitoring of the state of the environmental bioindicators. Editorial Salanki. Paris, Francia. Pp 58.

Ying W. Ahsanullah M. & Batley G (1993): Accumulation and regulation of heavy metals by the intertidal snail *Polonices sordidus*. *Marine Biology* 116, 417 – 422.

Zúñiga, L. R. & J. Araya (1982): Estructura y Distribución, durante un periodo otoñal, del zooplancton en el Embalse Rapel. *Revista Chilena Historia Natural*. Valparaíso. Chile. Vol 15, 45-57.

ANEXO I

FIGURAS

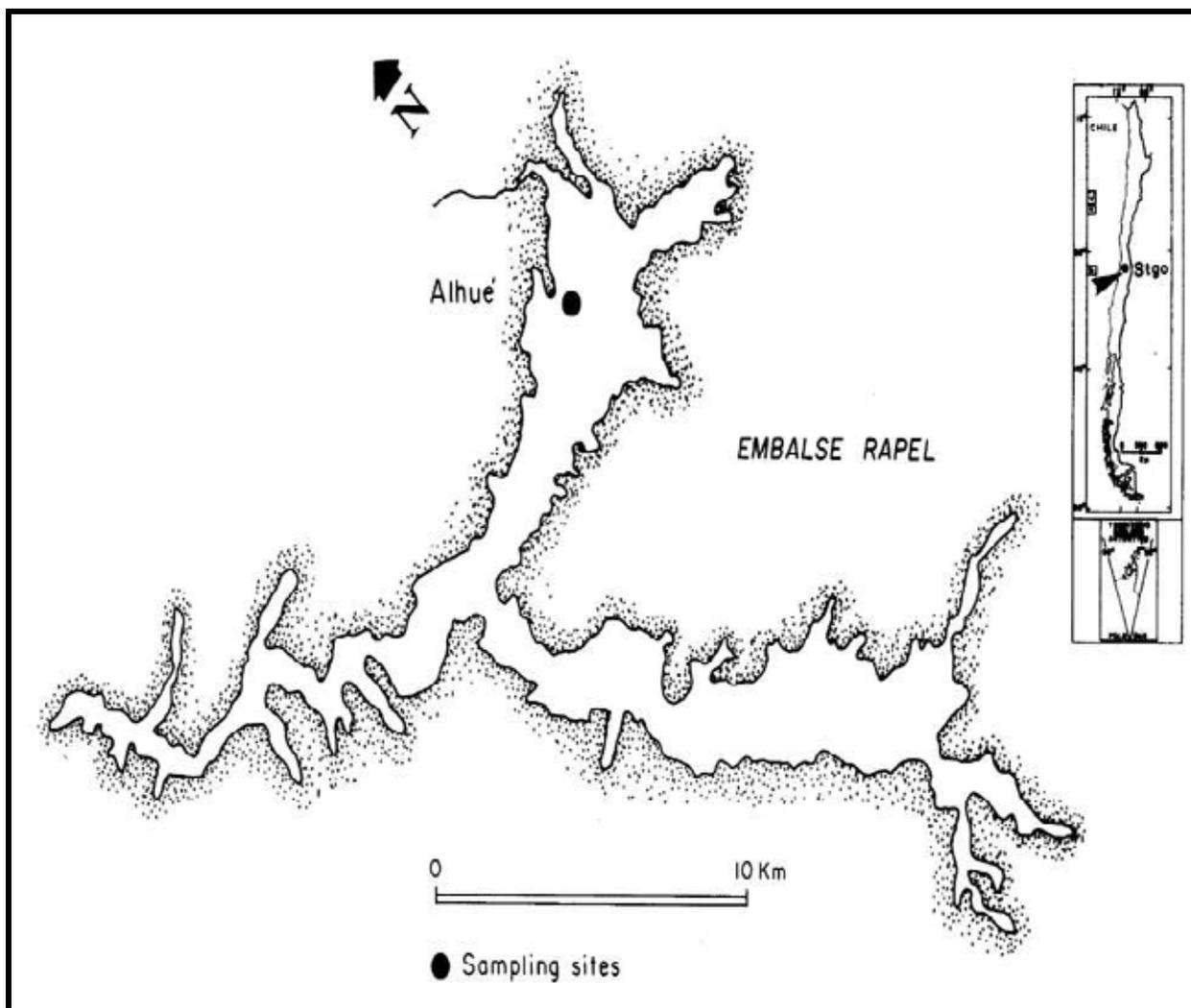


Fig. 1. Localización geográfica del área de estudio, ubicado en la sexta región, Embalse Rapel, Chile.

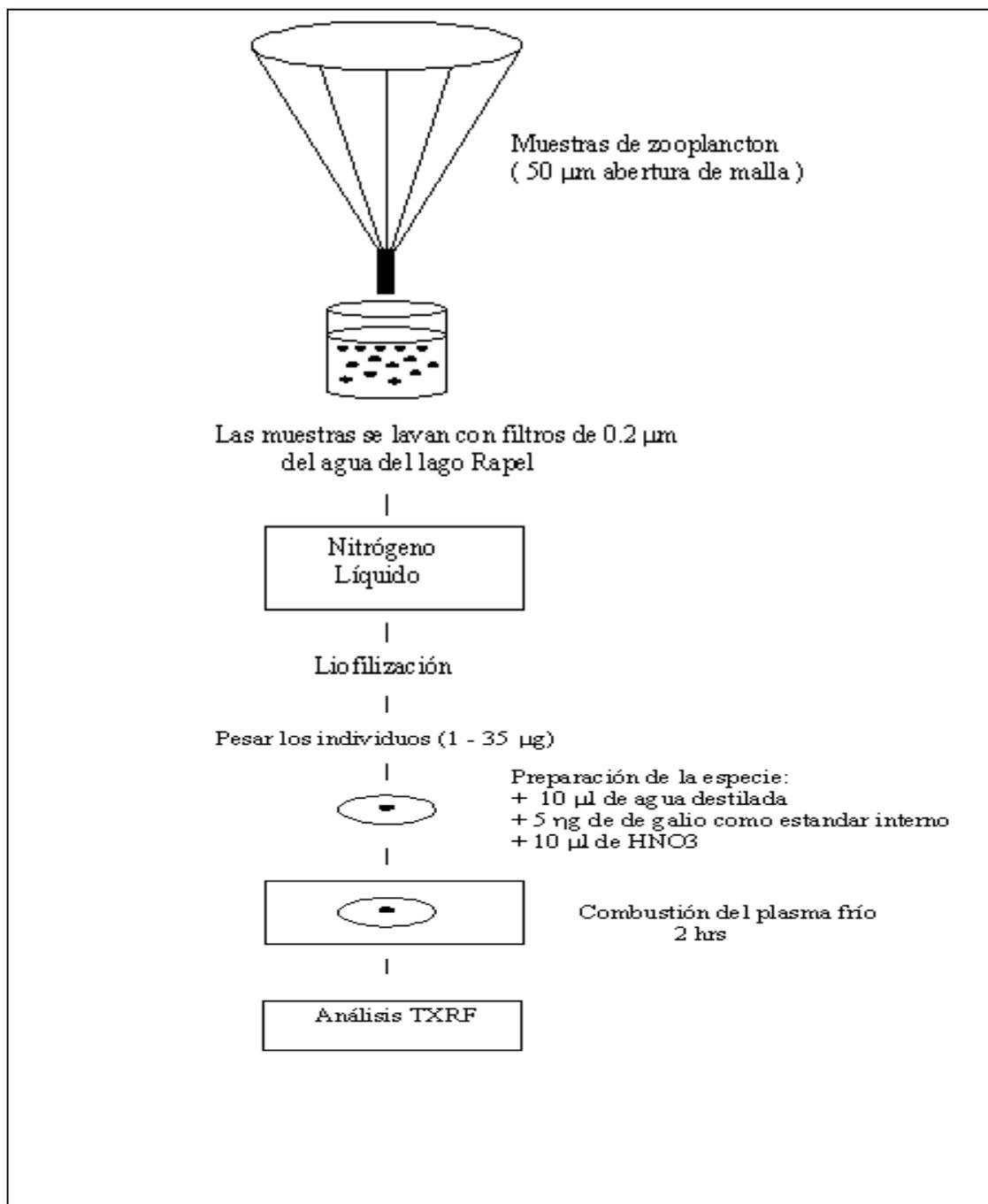


Fig. 2. Resumen Esquemático sobre el procedimiento y medición de los metales en los microcrustáceos, según método TXRF (Mages et al., 2001; Woelfl et al., 2003).



Fig. 3. Las muestras de zooplancton se colectaron con una red con apertura de malla entre 50 y 90 μm de diámetro.

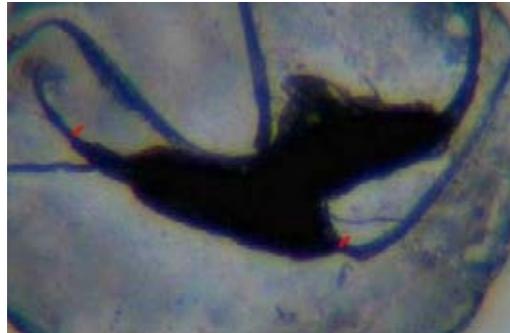


Fig. 4. Ejemplo de la medición de longitud de *Diaptomus diabolicus* después de ser liofilizado.

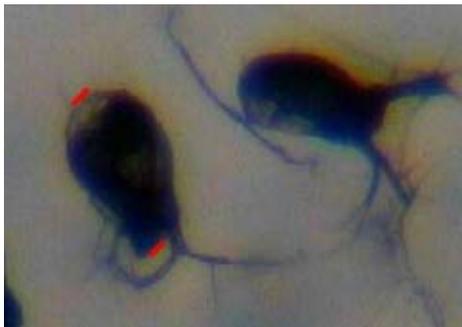


Fig. 5. Ejemplo de la medición de longitud de *Ceriodaphnia dubia* después de ser liofilizado.

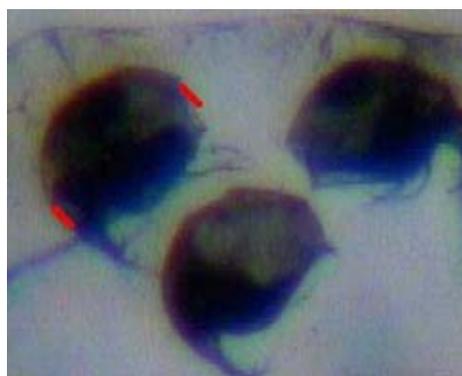


Fig. 6. Ejemplo de la medición de longitud de *Bosmina chilensis* después de ser liofilizado.

ANEXO II

GRAFICOS

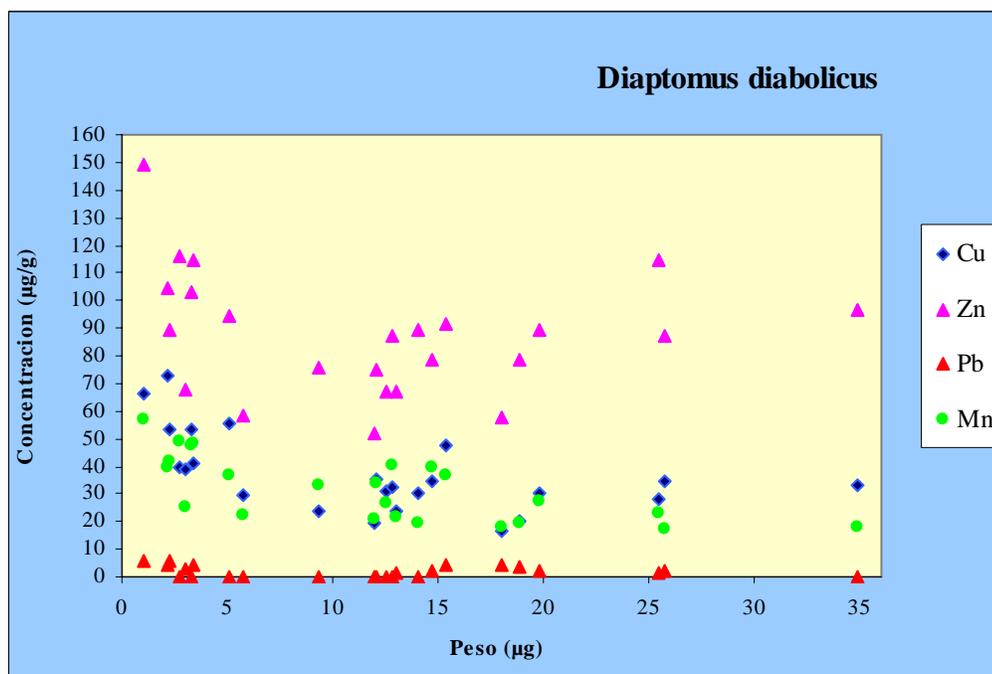


Gráfico N°1: Concentraciones de Zn, Mn, Pb y Cu ($\mu\text{g/g}$) versus Peso seco (μg) en el lago Rapel en *Diaptomus diabolicus*.

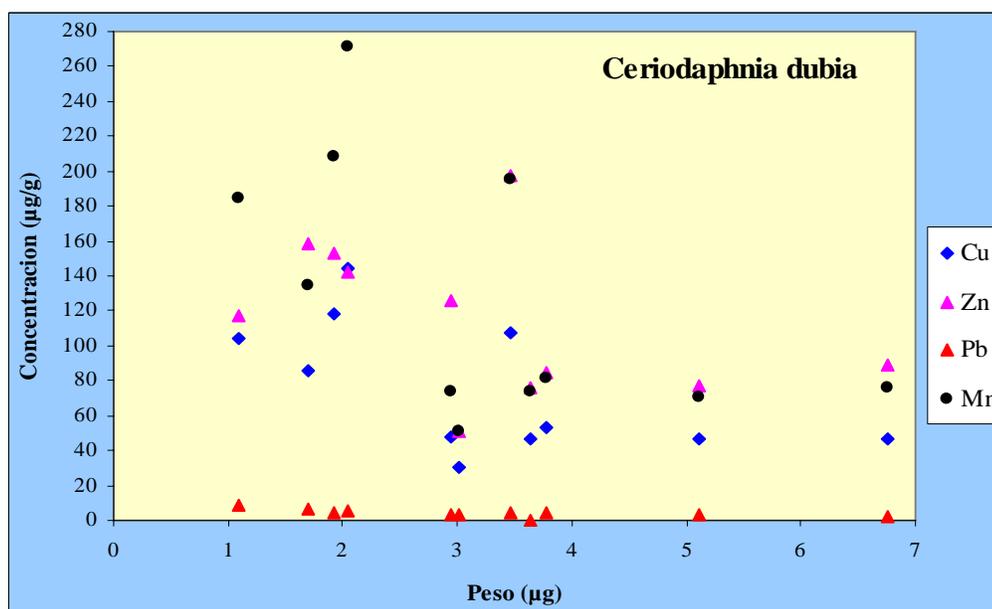


Gráfico N°2: Concentraciones de Zn, Mn, Pb y Cu ($\mu\text{g/g}$) versus Peso seco (μg) en el lago Rapel en *Ceriodaphnia dubia*.

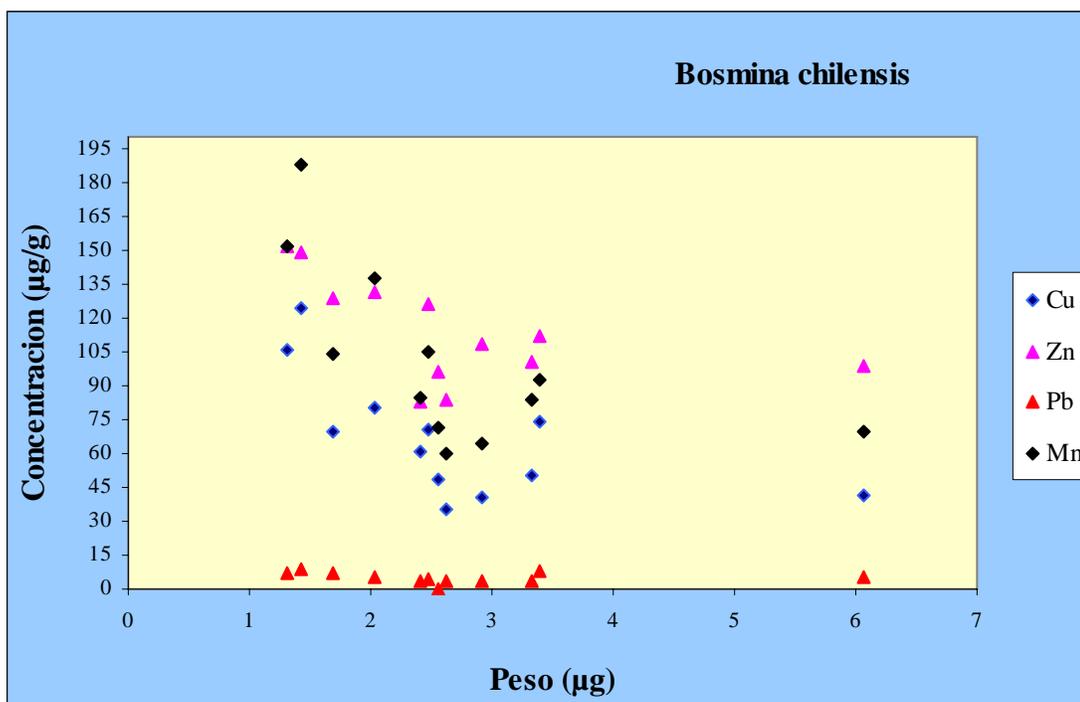


Gráfico N°3: Concentraciones de Zn, Mn, Pb y Cu (µg/g) versus Peso seco (µg) en el lago Rapel en *Bosmina chilensis*.

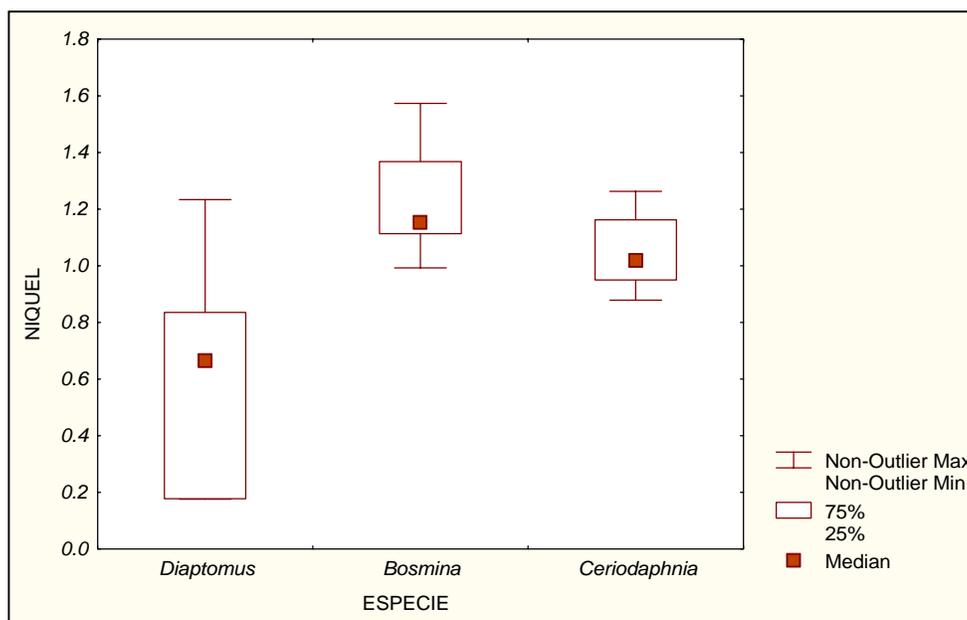


Gráfico N°4: Comparación de las concentraciones de Ni (µg/g) versus Especie

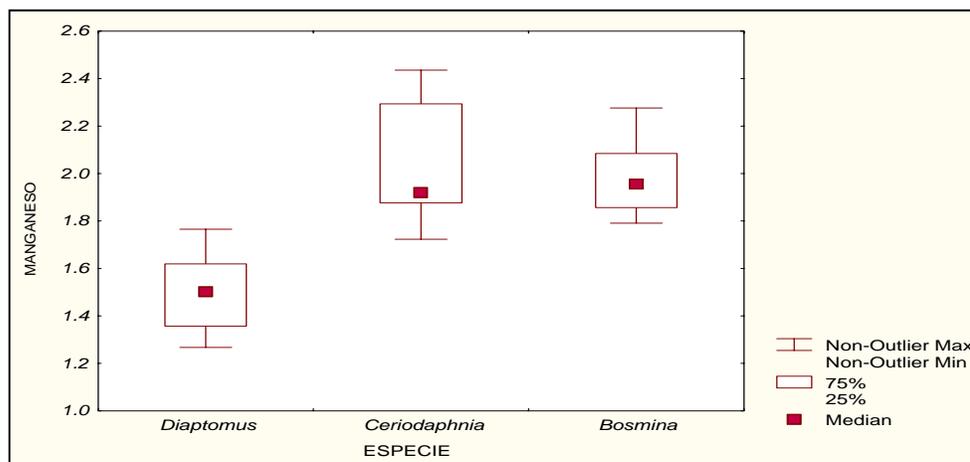


Gráfico N°5: Comparación de las concentraciones de Mn ($\mu\text{g/g}$) versus Especie.

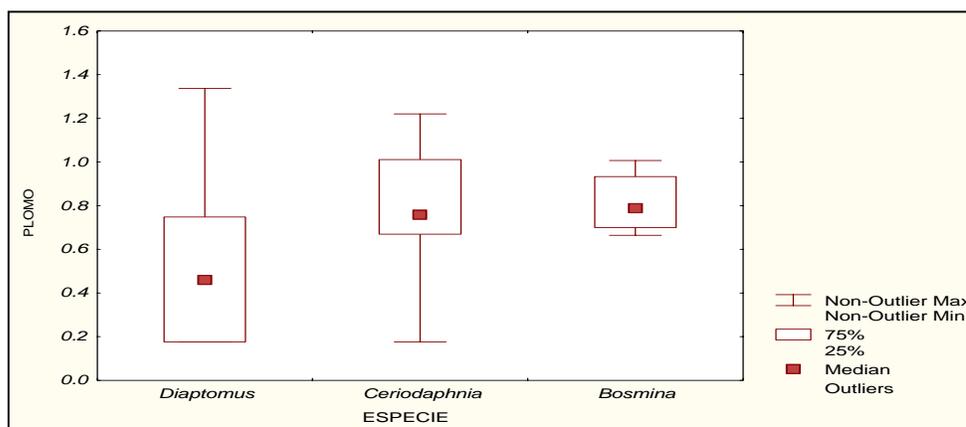


Gráfico N°6: Comparación de las concentraciones de Pb ($\mu\text{g/g}$) versus Especie.

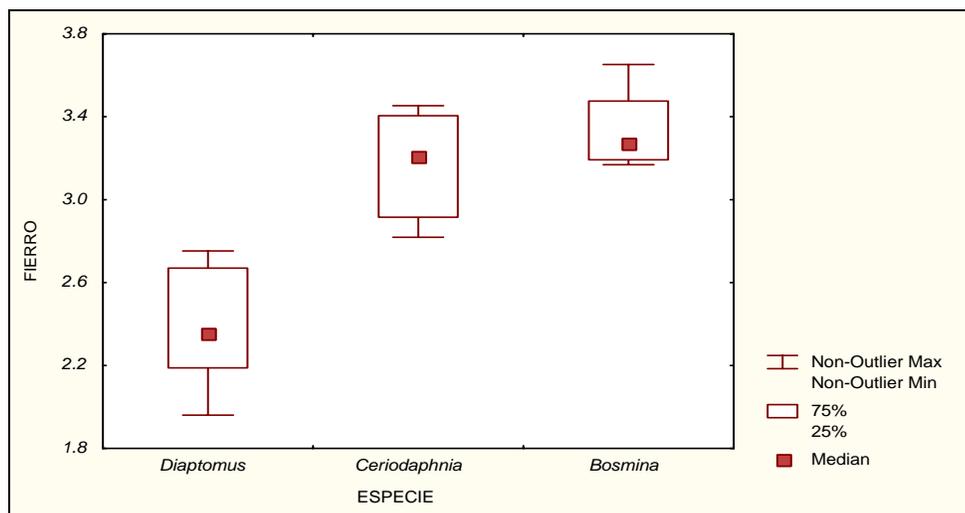


Gráfico N°7: Comparación de las concentraciones de Fe (µg/g) versus Especie.

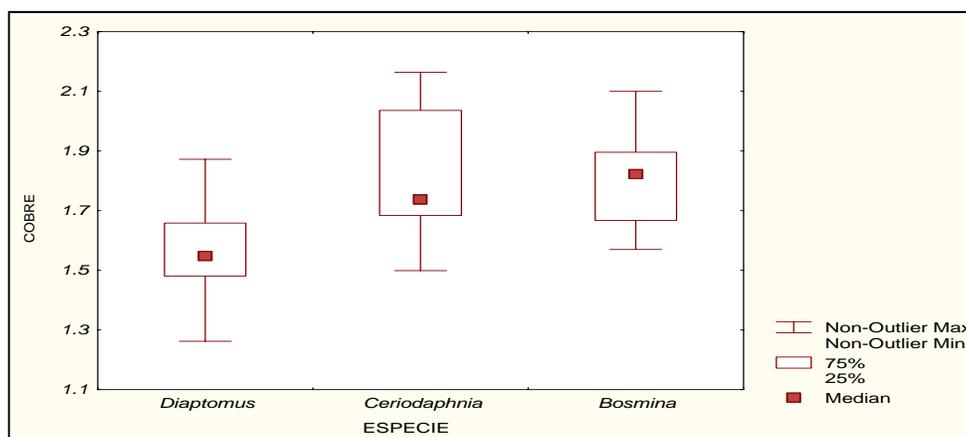


Gráfico N°8: Comparación de las concentraciones de Cu (µg/g) versus Especie.

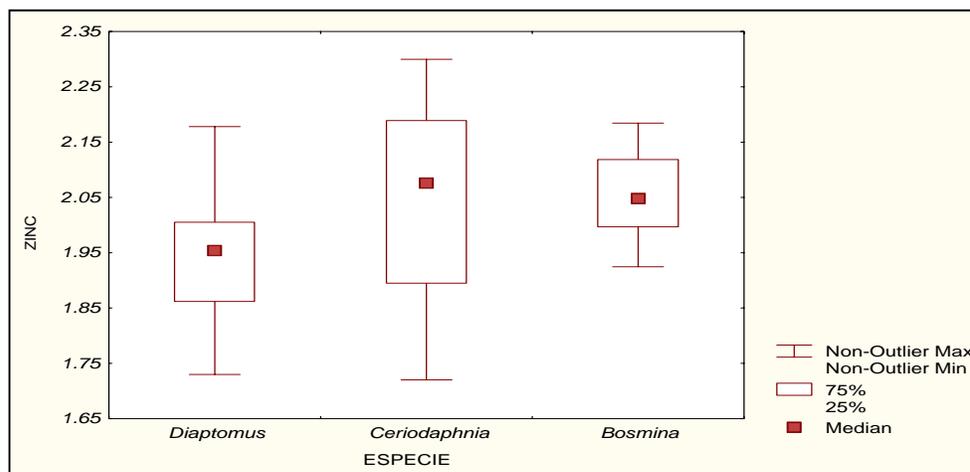


Gráfico N°9: Comparación de las concentraciones de Zn ($\mu\text{g/g}$) versus Especie.

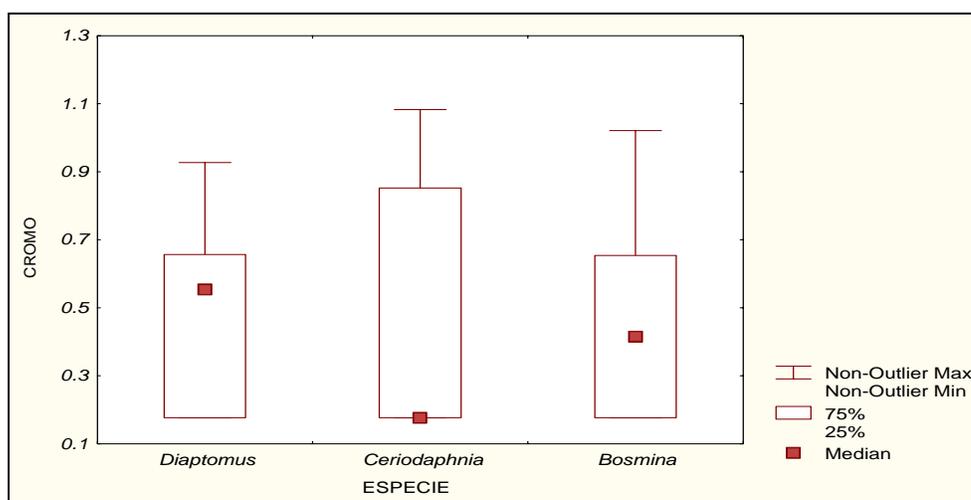


Gráfico N°10: Comparación de las concentraciones de Cr ($\mu\text{g/g}$) versus Especie.

ANEXO III**TABLAS**

Tabla 1: Características físicas del lago Rapel en el muestreo.

Parámetro	Valor
Temperatura (°C)	(0 m) 19.6
	(12 m) 18.8
Profundidad máxima	12 m
pH	(0 m) 7.8

Tabla 2: Análisis físico químico de las aguas del embalse Rapel 03/23/03.

Parámetro	Unid.	valor
pH		7.75
Conductividad	μS/cm	385
Solidos Totales Disueltos	mg/L	385
Alcalinidad	meq/L	1.4
Dureza Alemana	d°H	8.5
Dureza Total	mval/L	3.03
Color	Unid.Pt-Co	62
Turbidez	mg/L	3
P _{total}	μg/L	177.6
PO ₄ -P	μg/L	20
N _{org.}	μg/L	159.64
NO ₂ -N	μg/L	20.82
NO ₃ -N	μg/L	690.5
NH ₃ -N	μg/L	37.6
DQO	mg/L	13.6
Clorofila "a"	μg/L	29
Feopigmentos	μg/L	6.1
Clor. sin feopigmentos	μg/L	22.9
Seston Total	mg/L	30.0
Seston orgánico	mg/L	19.4
Seston inorgánico	mg/L	10.6

Tabla N°3: Comparación de las concentraciones de algunos metales del agua del lago Rapel con las concentraciones de otros dos lagos Chilenos (Mages et al., 2003). Concentraciones máximas permitidas por la Norma Ch 1 333/78 modificada en 1987. Límites máximos permitidos para la descarga de residuos líquidos a cuerpos de agua lacustre D. S. N 90 de 2000.

Elementos	Lago Rapel	Lago Panguipulli	Lago Llanquihue	Límites máximos para la descarga de residuos líquidos a cuerpos de agua lacustre	Concentraciones máximas de elementos en agua para riego
	Promedio (µg/L)	Promedio (µg/L)	Promedio (µg/L)	Límite Máximo (µg/L)	Límite Máximo (µg/L)
Mn	26	<1.4	<1.4	500	5000
Fe	16.4	7.7	6.3	2000	5000
Ni	2.1	<0.8	<0.8	500	200
Cu	8.9	0.8	3.3	100	200
Zn	< 2.0	1	13	5000	2000
Pb	< 1.5	0.8	1.1	200	5000

Tabla 4: Rango (mínimo-máximo) de concentraciones (en $\mu\text{g/g}$) de metales pesados en las tres especies zooplanctónicas estudiadas.

Metal	Rango($\mu\text{g/g}$)		
	<i>Diaptomus</i>	<i>Bosmina</i>	<i>Ceriodaphnia</i>
	Rango Peso: 1.01-34.87 μg	Rango Peso: 1.08-6.77 μg	Rango Peso: 1.31- 6.07 μg
Cr	0.0 -7	0.0-9	0.0 -10.6
Mn	17-57	60-187	51-271
Fe	90-564	1473-4485	658-2841
Ni	0.0 -16	6-16.8	8 -36
Cu	17-73	36-124	47-144
Zn	58-149	83-151	51-198
Pb	0.0 -20	0.0 -8.7	3-15

Tabla N°5: Análisis de Varianza para el Cromo, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.

TABLA ANOVA (1 VÍA , 3 NIVELES)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Valor F	Valor P
Entre grupos	0.00394	2	0.0019702	0.02	0.9803
Dentro de grupos	4.35001	44	0.0988639		
Total	4.35395	46			

Tabla N°6: Análisis de Varianza para el Manganeso, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.

TABLA ANOVA (1 VÍA , 3 NIVELES)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Valor F	Valor P
Entre grupos	3.23101	2	1.6155	51.22	0.0000
Dentro de grupos	1.3878	44	0.031541		
Total	4.61881	46			

Tabla N°7: Análisis de Varianza para el Hierro, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.

TABLA ANOVA (1 VÍA , 3 NIVELES)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Valor F	Valor P
Entre grupos	8.71978	2	4.35989	73.99	0.0000
Dentro de grupos	2.59283	44	0.0589279		
Total	11.3126	46			

Tabla N°8: Análisis de Varianza para el Níquel, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.

TABLA ANOVA (1 VÍA , 3 NIVELES)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Valor F	Valor P
Entre grupos	4.17334	2	2.08667	26.05	0.0000
Dentro de grupos	3.52504	44	0.0801146		
Total	7.69838	46			

Tabla N°9: Análisis de Varianza para el Cobre, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.

TABLA ANOVA (1 VÍA , 3 NIVELES)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Valor F	Valor P
Entre grupos	0.804059	2	0.40203	13.25	0.0000
Dentro de grupos	1.33468	44	0.030333		
Total	2.13874	46			

Tabla N°10: Análisis de Varianza para el Zinc, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.

TABLA ANOVA (1 VÍA , 3 NIVELES)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Valor F	Valor P
Entre grupos	0.143091	2	0.071556	4.85	0.0125
Dentro de grupos	0.649182	44	0.0147541		
Total	0.792273	46			

Tabla N°11: Análisis de Varianza para el Plomo, Tabla Anova a 1 vía 3 niveles.

TABLA ANOVA (1 VÍA , 3 NIVELES)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Valor F	Valor P
Entre grupos	1.08236	2	0.54118	6.32	0.0039
Dentro de grupos	3.76884	44	0.0856554		
Total	0.792273	46			

Tabla 12: Factor de Bioacumulación, según la concentración de metales en los organismos ($\mu\text{g/g}$ DW) de acuerdo al peso de cada individuo y la concentración de metal en el agua ($\mu\text{g/ml}$). n.c = no calculado.

Elementos ($\mu\text{g/g}$)	Rango de Bioacumulación		
	<i>Bosmina</i>	<i>Ceriodaphnia</i>	<i>Diaptomus</i>
Mn	2667-7206	2828-10432	654-2183
Fe	90599 -273462	47830-173245	5480-34401
Ni	2984-8012	4737-16617	0-7440
Cu	4659-13973	5228-16224	1887-8207
Zn	n.c	n.c	n.c

Tabla 13. Comparación entre los resultados obtenidos por el análisis TXRF de metales pesados en microcrustáceos del L. Laja (*D. pulex*) y del embalse Rapel (*C. dubia*, *B. chilensis*). Promedio, Desviación estándar del promedio (SE) y Mediana. Todas las concentraciones son dadas en $\mu\text{g g}^{-1}$. Las diferencias entre los promedios de los metales entre las tres especies fueron aplicando el test-t Student. Diferencias significativas $P < 0.05$.

Elemento	<i>D. pulex</i> (n = 70) Promedio \pm SE Mediana	<i>C. dubia</i> (n = 14) Promedio \pm SE Mediana	<i>B. chilensis</i> (n = 12) Promedio \pm SE Mediana	Diferencia Significativa entre Las especies	P-value
Mn	67.8 \pm 2.4 66.5	111 \pm 21 75.0	102 \pm 11 94.0	<i>D.pulex</i> – <i>C.dubia</i> <i>D.pulex</i> – <i>B.chilensis</i>	0.028 0.012
Fe	679 \pm 31 654	1240 \pm 210 882	2420 \pm 320 1990	<i>D.pulex</i> – <i>B.chilensis</i> <i>D.pulex</i> – <i>C.dubia</i> <i>C.dubia</i> – <i>B.chilensis</i>	0.000 0.020 0.004
Ni	7.99 \pm 0.52 6.45	16.8 \pm 2.2 12.6	10.3 \pm 1.1 8.9	<i>D.pulex</i> – <i>B.chilensis</i> <i>D.pulex</i> – <i>C.dubia</i> <i>C.dubia</i> – <i>B.chilensis</i>	0.000 0.000 0.019
Cu	8.09 \pm 0.14 7.87	62.7 \pm 9.4 47.2	67.4 \pm 7.8 69.0	<i>D.pulex</i> – <i>C.dubia</i> <i>D.pulex</i> – <i>B.chilensis</i>	0.000 0.000
Zn	90.3 \pm 1.1 90.6	102 \pm 11 86.8	115 \pm 6 110	<i>D.pulex</i> – <i>B.chilensis</i>	0.030