



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias
Escuela de Ciencias

PROFESOR PATROCINANTE:

Dr. Sandor Mulsow Flores
Instituto de Geociencias
Universidad Austral de Chile

EFEECTO DE LA RADIACIÓN β EN EL COMPORTAMIENTO DEL ISÓPODO
TERRESTRE *Porcellio scaber* (Latreille, 1804)

Tesis de grado presentada como parte
de los requisitos para optar al grado de
Licenciado en Ciencias Biológicas.

PEDRO ALEJANDRO HERVÉ FERNÁNDEZ

VALDIVIA – CHILE
2007

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a los profesores de mi comisión Mario Pino, Carlos Jara y especialmente al profesor Sandor Mulsow. Gracias por su paciencia, ya que algunos días estoy seguro que si hubiese habido un palo, cerca me lo tira.

A mi padres, al Pele y Pelayito, por aguantarme y apoyarme en días difíciles, al Nico por ayudarme en el set up de los computadores y programas usados en este trabajo, aunque después haya usado otro programa.

A mi polola Inés Paula, por su constante apoyo y consejos, sobre todo en la redacción, que fueron varios.

A los profesores: Alejandro Bravo, por enseñarme a enseñar. Orlando Garrido, Eduardo silva, Gladys Ruiz, Hugo Ramírez, Antón Huber, Mauricio Soto, Robert Brümmer, Carlos Rojas y Carlos Oyarzún, por darse el tiempo de resolver, y responder mis más diversas preguntas.

A mis compañeros de trabajo Mario, Manuel, Boris, Carlos, Marcela, Loreto, Juan Pablo, Felipe, Andrea, Pancho, Tere, y a todos los presentes en el *Paleoteam*.

Por ultimo me gustaría agradecer a Elvis Zapata, Sandra Corvalán y en especial a Jorge Torres, por toda su ayuda y apoyo.

A mi Familia ...

ÍNDICE

RESÚMEN	1
ABSTRACT	2
1 INTRODUCCIÓN	3
2 MATERIALES Y MÉTODOS	8
2.1 Diseño Experimental	9
2.1.1 Experimentos con Radiación β	11
2.1.2 Experimentos con Humedad	12
2.2 Obtención de Datos	13
2.3 Análisis de Datos	15
3 RESULTADOS	17
3.1 Análisis de imágenes	17
3.2 Análisis de regresión	18
3.3 Áreas de preferencia, AP.	22
3.4 Distancia recorrida, DR.	24
3.5 Tiempo en el borde, TB.	26
3.6 Dimensión fractal, DF.	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la ubicación de los estímulos, áreas de preferencia y borde	9
Figura 2. Esquema del montaje de los experimentos con radiación β	11
Figura 3. Esquema del montaje de los experimentos con humedad	12
Figura 4. Esquema general del montaje de los experimentos	14
Figura 5. Ejemplos de patrones de movimiento	18
Figura 6. Regresión lineal, Tamaño corporal (g) v/s Dimensión fractal	19
Figura 7. Regresión lineal, Tamaño corporal (g) v/s Distancia recorrida (m)	20
Figura 8. Regresión lineal, Tamaño corporal (g) v/s Tiempo en el Borde (s)	21
Figura 9. Áreas de preferencia (Hembras)	22

Figura 10. Áreas de preferencia (Machos)	23
Figura 11. Distancia recorrida	25
Figura 12. Tiempo en el Borde	27
Figura 13. Dimensión fractal	28
Figura 14. Variación de la Dimensión fractal (Hembras)	29
Figura 15. Variación de la Dimensión fractal (Machos)	30
Figura 16. Variación de la Dimensión fractal entre los valores 14 y 45 de la Distancia recorrida ponderada	32
Figura 17. Fotografía de antena secundaria de <i>Porcellio scaber</i>	38
Figura 18. Fotografía de los detalles del flagelo	39

RESUMEN

Los organismos vivos dependen e interactúan con factores ambientales ya sean físicos, químicos o biológicos. Entre estos factores o estímulos se encuentran las radiaciones ionizantes, que han estado presentes en nuestro planeta desde su inicio.

Pocos experimentos se han realizado para conocer las respuestas de los animales expuestos a radiaciones ionizantes. En este estudio se observaron los patrones de movimiento, de isópodos terrestres de la especie *Porcellio scaber*, expuestos a bajos niveles de radiación β , R_B -6,44 Bq- y R_A -13,4-, y también a Humedad (H), más dos controles, Control (C) y Control Humedad (C_H). El tiempo de observación fue de 30 minutos, para todos los experimentos, y fueron hechos en una arena experimental (AE) de acrílico, de 45 cm de diámetro.

Los resultados obtenidos, indican que los machos presentan, un tactismo positivo al estímulo de humedad, no así, las hembras ($p < 0,05$). Ambos sexos presentaron una respuesta de cinesis negativa, en los tratamientos H, R_B y R_A , demostrado claramente por las variables: Distancia recorrida (DR), Dimensión fractal (Df), y la variación de la Df, en la escala de la distancia recorrida. Éste último indicó que los individuos alteraban su movimiento en el tratamiento R_B al 20% de la Distancia recorrida, a escala ($p < 0,001$). Se discute si estos individuos realmente presentan un tactismo o solamente sus patrones de desplazamiento son alterados

ABSTRACT

Living organisms, depend and interact, with environmental factors (physical, chemical and/or biological); among these factors or stimuli, are ionizing radiations, which are present in this planet since its beginning.

Few experiments have been conducted to understand the behavioural responses of animals exposed to ionizing radiations. We observed and described the movement's patterns of terrestrial isopods *Porcellio scaber*, exposed to low β radiation in two activities: "R_B" -6,44 Bq- and "R_A" -13,4 Bq-. Also they were studied for moist (H). Control for radiation and moisture were also assessed (C and C_H). Experimentation time was the same, 30 minutes, for all the experiments and controls and was carried out in the same experimental tray of 45 cm diameter.

The obtained results, indicated that male presents, a positive tactic response to moist, but not females ($p < 0,05$). Both sexes presented a negative kinetic response, in treatments H, R_B and R_A. This was clearly demonstrated with the variables travelled distance (m) and Fractal dimension, and it's variation in travel distance scale. The latter showed that both sexes were altered in treatment R_B at the 20% of the travel distance scale ($p < 0,001$). We discuss if the isopods show a tactic response to radiation that could be interpreted as neither movement towards nor outwards from a source of β radiation.

1. INTRODUCCIÓN.

Los seres vivos dependen e interactúan con el medio que los rodea, por medio de estímulos (físicos, químicos y/o biológicos) para su supervivencia. Estos estímulos, son percibidos por medio de receptores nerviosos especializados, que censan continuamente el ambiente donde se encuentra una gran variedad de estímulos. Si estos receptores, son excitados de alguna manera, los individuos se orientan (para acercarse o alejarse), o sufren una alteración en su comportamiento (Dethier, 1964; Atema, 1996; Bowdan, 1996; Gomez, 1996; Schmalfuss, 1998).

Entre estos factores o estímulos, presentes en el medioambiente, se encuentran las radiaciones ionizantes. Estas energías ionizantes han formado parte de nuestro entorno e inclusive de nosotros, los seres vivos (Jaworowski, 1998).

Estas radiaciones tienen su origen en átomos inestables llamados isótopos, los que se encuentran ampliamente distribuidos en la corteza terrestre. De manera general existen tres tipos de emisiones radioactivas: alpha (α), beta (β) y gamma (γ). La radiación α , posee el menor poder de penetración, debido a su tamaño equivalente a un átomo de Helio. Sin embargo, posee el mayor poder de ionización. Estas partículas pueden ser detenidas por una simple hoja de papel y no recorren una distancia mayor a 7 cm en el aire (Pentreath, 1980; Spiro, 2004). La radiación β , constituida por un electrón (partícula), es de mediana penetración, y puede ser detenida por una fina capa de aluminio (Whitten, 2002); y la radiación γ , que pese a tener un poder de ionización

similar a la radiación β , posee una energía mucho mayor, por lo que es capaz de atravesar los cuerpos, y solo puede ser detenida por materiales densos como el plomo. Esto es posible ya que es una radiación electromagnética y no está formada por partículas (Pentreath, 1980; Spiro, 2004).

Las radiaciones ionizantes, como su nombre lo indica, poseen la capacidad de ionizar la materia, alterando la carga de las moléculas que la conforman. Generando, así, radicales libres que afectan la composición de moléculas que constituyen al organismo, tales como proteínas (desorganiza la estructura secundaria) y ADN (pérdida de las bases nitrogenadas). Bajo una interacción prolongada con estas radiaciones, se puede derivar a un mal funcionamiento fisiológico e incluso la muerte celular (Bacq, 1961; Pentreath, 1980; Spiro, 2004).

A comienzos del siglo XX, científicos observaron efectos negativos en seres vivos, luego de una exposición a dosis mayores de $50 \mu\text{Gy/h}$, y efectos positivos, cuando el individuo era expuesto a bajas dosis de radiación (menores de $50 \mu\text{Gy/h}$) (Muckerheide, 2002).

Recientemente Tao (2002), encontró en la región de Yangjiang, en China, diferencias en dos poblaciones humanas en las mortalidades causadas por cáncer. Éstas fueron menores en la población con la dosis más alta de radiación γ ($0,73 \mu\text{Gy/h}$), en comparación con la población control, la cual estuvo sometida a una dosis menor ($0,274 \mu\text{Gy/h}$). Existen otros lugares como Yangjiang, con niveles de radiación más altos de lo

normal (mayores que 0,3 $\mu\text{Gy/h}$), como Minas Gerâis (4 $\mu\text{Gy/h}$) en Brasil, y Kerala en India (Tao, 2000). También se han descrito efectos benéficos similares, por Shieh (1999), Hattori (1999) y Muckerheide (2002) en otros países, Pusey (1911) y Planel et al. (1987) para otras especies animales y Gager (1908) en vegetales, siendo los mamíferos los más sensibles a los efectos de la radiación y organismos unicelulares los más resistentes, los (Bacq, 1961; Kira, 2001).

Por otra parte, estudios realizados por Rodríguez & Kimmeldorf (1976) demostraron que crustáceos dulceacuícolas poseen un ganglio abdominal que es estimulado por rayos X (radiación ionizante), igualando la respuesta a la luz. Kanao (2002), por otra parte demostró que isópodos terrestres (crustáceos), de la especie *Armadillum vulgare* presentan un tactismo positivo frente a una fuente de radiación β , y que el receptor para este estímulo se encuentra en el segmento distal o flagelo, de la antena del isópodo (Kanao, 2002). La fuente de radiación β tuvo una intensidad de 4,5 $\mu\text{Gy/h}$, pero cuando la intensidad fue aumentada a 9,0 $\mu\text{Gy/h}$ (30 veces el nivel de radiación β normal) el tactismo fue negativo. A su vez, estos individuos presentaron un tactismo positivo cuando la fuente de radiación β fue cambiada por una de radiación γ , con una intensidad de 10 $\mu\text{Gy/h}$. Esto indicaría que al menos *A. vulgare* es capaz de discriminar los niveles de radiación ambiental, o simplemente, de alterar sus patrones conductuales, principalmente la orientación (Kanao, 2002).

La orientación es la cualidad que poseen los organismos para ubicar el origen de un estímulo por medio de sus órganos sensoriales (Dethier, 1964; Schöne, 1981). Estos

órganos están en contacto continuo con el medio en el cual se encuentran, de esta manera los individuos censan constantemente para distinguir y orientarse hacia lugares más favorables (Eibl, 1974). Estas respuestas pueden variar entre los sexos, ya que machos y hembras poseen equilibrios y/o requerimientos fisiológicos diferenciados y no siempre poseen los mismos órganos sensitivos.

La orientación puede ser clasificada como: Tactismo o movimiento con dirección. El movimiento puede ser para acercarse al estímulo -tactismo positivo- o para alejarse -tactismo negativo- (Dethier, 1964; Tinbergen, 1951); Cinesis, (orientación indirecta) se refiere a la velocidad del movimiento, del individuo, en función de la intensidad del estímulo (Wallof, 1941; Schöne, 1981). Ésta última respuesta, puede (o no), tener como finalidad un tactismo.

Con los antecedentes presentados anteriormente, la hipótesis propuesta es:

- “Los isópodos terrestres *Porcellio scaber* (Latreille, 1804), presentarán cambios en su comportamiento, al igual que *A. vulgare*, frente a dos actividades de radiación β ”.

Objetivo general:

- Evaluar si la exposición de los isópodos a radiación β , provoca algún tipo de alteración del comportamiento.

Objetivos específicos:

- Evaluar si el isópodo terrestre *Porcellio scaber* presenta algún tipo de cambio en su comportamiento frente a los tratamientos de radiación β , determinado por su orientación y/o movilidad.
- Determinar si existen efectos diferenciales en el movimiento de los individuos en función del sexo y de los distintos tratamientos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

Los experimentos fueron realizados con isópodos terrestres de la especie *Porcellio scaber* (Latreille, 1804). Estos artrópodos pertenecen al subfilum *Crustacea*; al grupo *Oniscoidea* (un suborden de *Isopoda*) y la familia *Porcellionidae*. Los individuos adultos de esta especie miden de 4 mm hasta 1,5 cm. Se les puede encontrar en cualquier ambiente húmedo y de baja luminosidad (Schmalfuss, 1998). Su alimentación, es básicamente herbívora y consta de raíces y materia vegetal en descomposición (troncos y hojarasca). Para este experimento todos los animales fueron alimentados *ad libitum* con trozos de papa (*Solanum tuberosum*) (Galstoff, 1937).

Los individuos fueron colectados en un ambiente urbano en la ciudad de Valdivia, y almacenados en condiciones constantes de humedad y temperatura (70% \pm 10% de humedad relativa y 20 \pm 3 °C), en una cámara de cultivo (LAB-line V.I.P. CO₂ incubator 417-2), el fotoperíodo fue fijado en 12 horas día y 12 horas noche (Anexo 1). Luego, fueron agrupados por sexo (Brusca, 1990), en cajas de acrílico de 9,6 x 9,6 x 1,4 cm. de alto, (cada caja con 25 habitáculos independientes de 1,4 cm³). La base de los habitáculos fue cubierta con una capa de yeso (de 2 a 3 mm de espesor aprox.), humedecida continuamente para mantener las condiciones requeridas por los isópodos.

El tiempo de observación para los experimentos fue de 30 minutos, y solo fueron utilizados individuos adultos de ambos sexos con todos sus apéndices (antenas y patas). En el caso de las hembras, se utilizaron solamente individuos en estado de

ingravidez (sin ovas), para esto, se mantuvo a las hembras en observación por 60 días, asegurándose que no existiera desarrollo de ovas (huevos) en el marsupio.

2.1 Diseño experimental:

Los animales fueron expuestos a los diferentes estímulos (de humedad o radiación β), en una arena experimental (AE) circular de acrílico de 45 cm de diámetro, con un borde de 5 cm de alto. Ésta se pintó de blanco en su envés, como medio de contraste para los isópodos. Los estímulos fueron ubicados en lugares predeterminados de la AE (Figura 1). Para una mejor descripción de la elección de los estímulos, por parte de los isópodos, la AE fue separada virtualmente en cuatro áreas (áreas 1, 2, 3 y 4) (Figura 1).

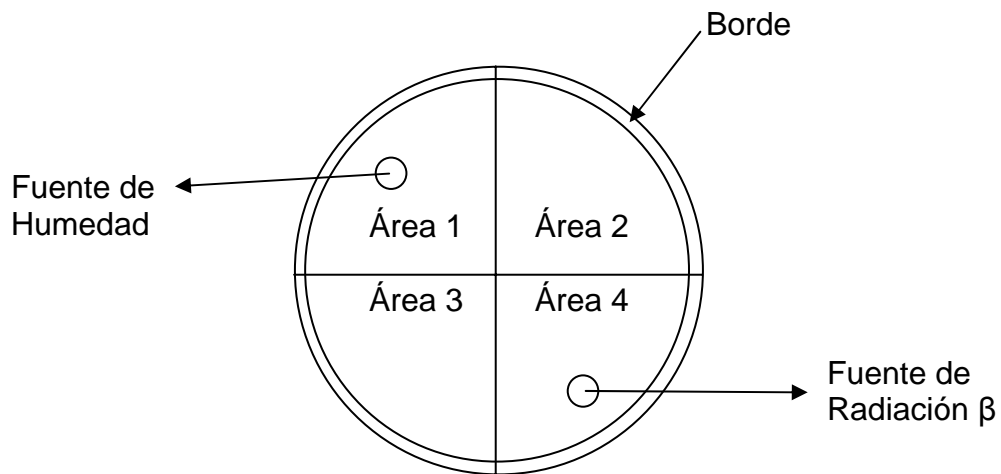


Figura 1. Esquema de la arena experimental (AE) separada en cuatro áreas virtuales (áreas 1, 2, 3 y 4), para una mejor descripción del movimiento de los isópodos. El área de la periferia de la arena experimental fue definida como Borde.

Las variables medidas fueron:

- Áreas de preferencia, AP: se refiere a las áreas previamente fijadas en la arena experimental (Figura 1), donde los individuos estuvieron un tiempo determinado. Ésta variable fue medida en segundos.

- Distancia recorrida, DR: distancia recorrida en metros, que el individuo recorrió en la arena experimental.

- Tiempo en el borde, TB: tiempo, en segundos, en el cual el individuo estuvo en el área de Borde, comprendida entre el borde físico de la AE, hasta 5 milímetros de éste (Figura 1).

- Dimensión fractal, Df: fue utilizada para determinar la complejidad del movimiento de los individuos. Si el desplazamiento del isópodo es muy complejo, el valor de Df será más cercano a dos, por el contrario, si este desplazamiento es simple y tiende a ser lineal, el valor de Df será más cercano a uno. Si el animal, no se desplaza en absoluto el valor será igual a cero (Nams, 1996; Nams, 2004). Los valores de esta variable no poseen unidad.

2.1.1 Experimentos con radiación β

Los isópodos fueron puestos individualmente en el centro de la AE. Bajo ésta se colocó un colimador cilíndrico de plomo (Mulsow, 2002) de 3,4 cm de ancho, con una abertura central de 0,64 cm, con la menor actividad posible (Figura 2), donde luego se colocó el emisor de radiación β , en este caso Estroncio-90 (^{90}Sr) (0,196 MeV) disuelto en una solución de HNO_3 1M (Figura 3), dentro de un tubo “ependorf” de 2 ml de capacidad, sellado.

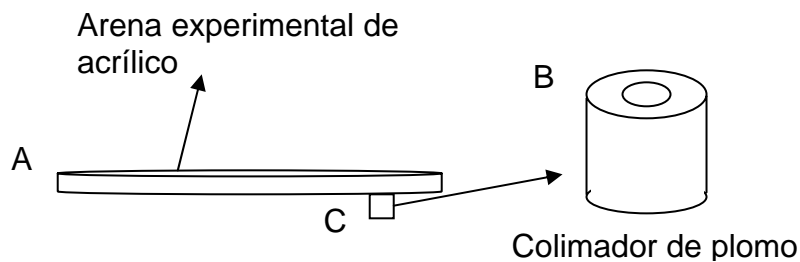


Figura 2. Esquema de los experimentos con radiación (C, R_B y R_A), A: la arena experimental (AE) de acrílico, de 45 cm de diámetro; B: Colimador de plomo; y C: posición del colimador de plomo bajo la AE.

Se utilizaron tres actividades distintas o tres tratamientos de radiación β : un Control “C” (la actividad ambiental más lo que podría aportar el colimador de plomo); una actividad baja, o tratamiento R_B , de 6,44 Bq (15 veces sobre lo normal); y una alta, de 13,4 Bq, o tratamiento R_A . El valor ambiental para la radiación β emitida por ^{90}Sr (0,43 Bq), fue obtenido a partir de mediciones realizadas en el mar chileno a la misma latitud (Bourlat, 1996).

2.1.2 Experimento con humedad

Este experimento se realizó con el fin de observar y medir, las respuestas de los individuos de *P. scaber*, a un estímulo cuya respuesta es bien conocida (Wallof, 1941; Dethier, 1964; Schöne, 1981), de esta manera poder comparar las variables obtenidas en este experimento con los experimentos con radiación β .

La fuente de humedad fue una hoja de papel higiénico (previamente cortada) saturada de agua destilada, dentro de un pequeño domo de acrílico de 2,4 cm de diámetro y 1,5 cm de altura con 8 entradas de 4 mm aprox. (Figura 3), el que fue utilizado para crear un foco de humedad ubicado en un lugar predeterminado de la AE (Figura 1). Se realizó un Control “C_H”, con el domo de acrílico puesto sobre la AE; y un tratamiento Humedad “H”, con una hoja de papel higiénico saturada de agua destilada, bajo el domo de acrílico.

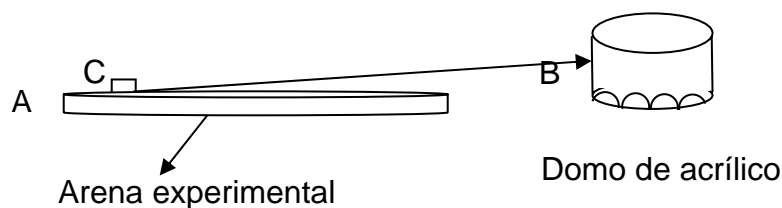


Figura 3. Esquema del montaje de los experimentos de Control de Humedad y Humedad, realizados con el domo de acrílico. A: la arena experimental (AE), de 45 cm de diámetro; B: Domo de acrílico; y C: posición del domo de acrílico, en la superficie de la AE.

Antes de introducir un nuevo animal a la AE, ésta fue limpiada con alcohol desnaturalizado al 95%, de esta manera evitar que los individuos siguieran el posible rastro o residuo químico del individuo anterior. Se esperó por 1 minuto aprox. (para que el alcohol se evaporara), para volver a colocar un nuevo individuo.

Todos los experimentos, fueron realizados de noche, entre las 23 y 11 horas. La arena experimental, fue iluminada con luces rojas; esto fue con el fin de poder distinguir al isopodo de la AE y no alterar el comportamiento nocturno de estos crustaceos. La temperatura durante todas las observaciones fue de 22 ± 2 °C.

2.2 Obtención de Datos.

El registro del movimiento de los isópodos en la arena experimental, fue por medio de una cámara de video o CCD (SONY Hi8) ubicada sobre la AE, conectada a un computador (Figura 4). Las imágenes fueron capturadas a una velocidad de un cuadro por segundo, para evitar la pérdida y la obtención indiscriminada de información (Turchin, 1996; Jeanson, 2003).

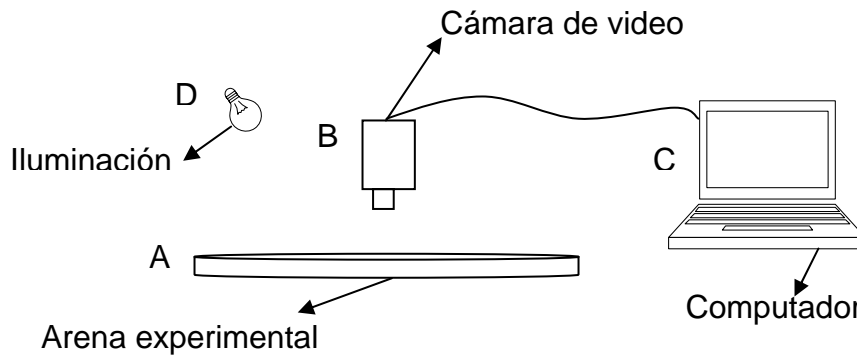


Figura 4. Esquema del montaje general de todos los experimentos para la obtención de las imágenes y su posterior análisis. A: arena experimental de acrílico (AE), de 45 cm de diámetro; B: Cámara de video (SONY Hi-8), la cual estuvo montada sobre la arena con un trípode; C: Computador en donde las imágenes fueron guardadas y analizadas; D: Iluminación, que fue obtenida de 3 ampollitas rojas de 50 watts.

Los registros fueron de 30 minutos, para un total de 1800 imágenes por individuo, las que fueron obtenidas por medio del programa computacional Vintasoft™ Webcam 3.8.

Se evaluó el efecto de la radiación β en el comportamiento de *Porcellio scaber*, observando el movimiento de cada individuo. Luego se determinó si éste correspondía a un tactismo (Sorenson & Bell. 1986) y/o a una cinesis. Para la evaluación del comportamiento de tactismo (positivo o negativo), las variables utilizadas fueron: Áreas de preferencia (en segundos), AP; Tiempo en el borde (en segundos), TB (Figura 2).

Para la cinesis, se utilizaron las variables: Distancia recorrida (en metros), DR; Tiempo en el borde (en segundos), TB; y Dimensión fractal, Df.

Todas las imágenes fueron analizadas por medio de un procesador de libre distribución (ImageJ 1.34s, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>), con el cual también se dibujaron los patrones de movimiento. La Df fue obtenida para todos los experimentos utilizando el estimador FractalMean del programa computacional Fractal 4.00TM (Nams & Burgeois, 2004).

Por medio de este programa, también se identificó la presencia de zonas de dominio, de los individuos. Estas zonas, se caracterizan por tener movimientos que poseen una alta correlación entre sus ángulos de giro sucesivos (giran un mayor número de veces), y se hacen notar por tener un aumento de la Df, en la Distancia recorrida del individuo; y zonas de transición, que se caracterizan por una disminución en la Df, en la Distancia recorrida del individuo, ya que poseen una baja correlación entre sus ángulos de giro sucesivos (son movimientos casi rectos). Lo anterior fue obtenido por medio del estimador Vfractal, del programa computacional Fractal 4.00TM (Nams, 1996)

2.3 Análisis de Datos.

Se evaluó el efecto de la masa corporal (en gramos), por medio de una balanza analítica (Scaltec, modelo SBA 31) sobre las siguientes variables de respuesta: Df, DR y TB. Para ello se utilizó el análisis de regresión lineal, y dado que al menos una de las variables estuvo relacionada con el tamaño corporal, éste fue considerado como una covariable.

La variable Dimensión fractal, no cumplió con el supuesto de homocedasticidad, por lo que tuvo que ser transformada con $\text{Log}(Df - 1)$ (Nams, 1996). Junto con esto, debido a que los individuos no recorrieron la misma Distancia (DR), ésta variable fue estandarizada. El recorrido total de cada isópodo fue el 100%, de esta manera se pudo observar cambios más detallados de sus movimientos.

Para el análisis de las variables fue utilizado el análisis de ANCOVA o análisis de covarianza, estandarizado por el tamaño corporal. Todos los análisis estadísticos fueron realizados por medio del programa estadístico STATISTICA 6.0.

3. RESULTADOS

Las cajas de acrílico utilizadas para mantener a los isópodos, presentaron problemas debido a que las cajas no cerraban completamente, dejando espacios en la parte superior de las cajas, lo que permitía a los individuos pasar las antenas al habitáculo de otro individuo, lo cual afectó a ciertos individuos que perdieron su(s) antena(s), o el flagelo de ésta (lugar donde se encuentran los receptores).

Después de las observaciones (todos los experimentos), los individuos fueron puestos nuevamente en las cajas de acrílico donde no vivían más de una semana, debido posiblemente, al gran desgaste por parte del individuo hecho en las pruebas (pérdida de humedad).

3.1. Análisis de imágenes

El programa computacional ImageJ, resultó ser una excelente herramienta de trabajo en la manipulación de las imágenes obtenidas. El programa nos permitió trazar el recorrido hecho por los isópodos, con lo cual se obtuvo además las coordenadas cartesianas del movimiento de los isópodos. Estos datos fueron utilizados para el cálculo de la D_f , del movimiento del animal (Figura 5).

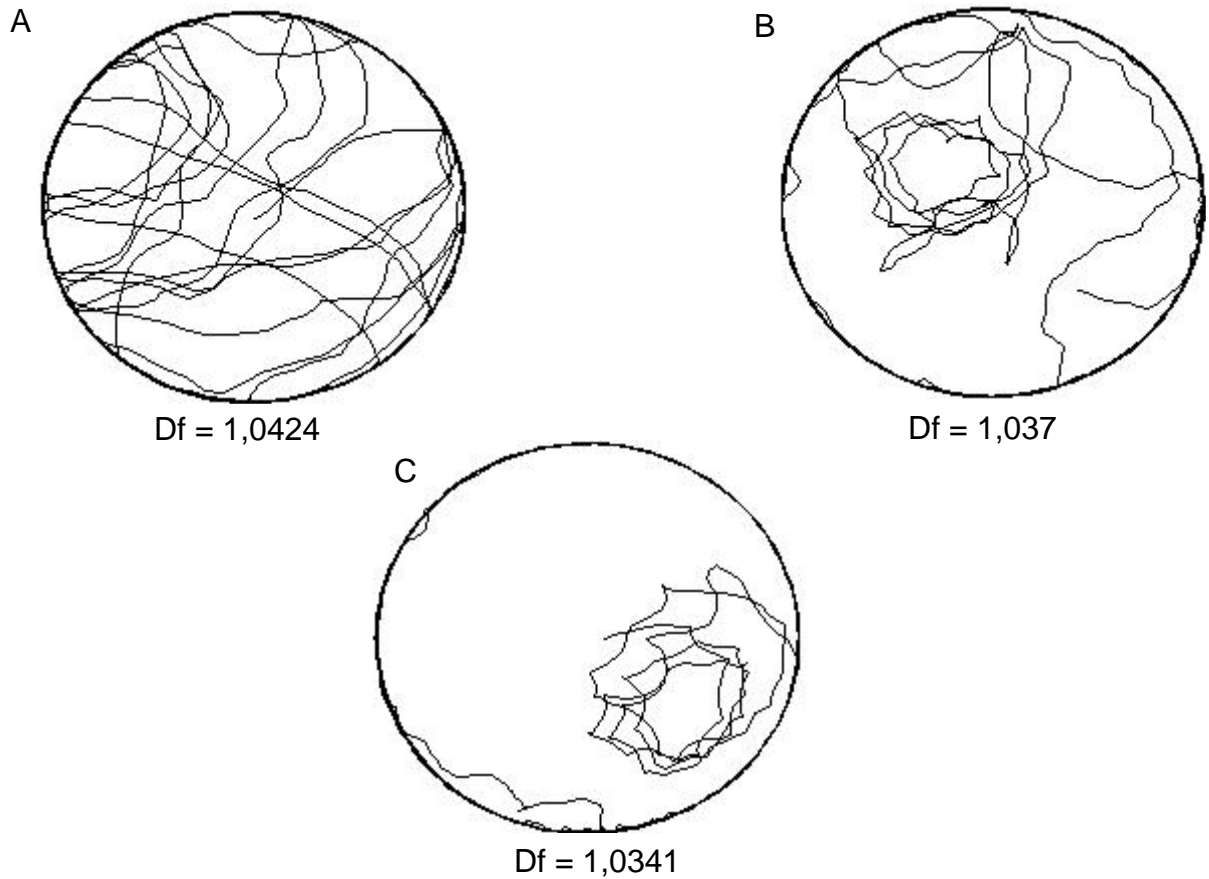


Figura 5. Patrones de movimiento, obtenidos en el Control (A, con una Df de 1,0424) y en los tratamientos de: Humedad (B, con una Df de 1,037); y R_B (C, con una Df de 1,0341).

3.2 Análisis de regresión

Los análisis de regresión lineal realizados entre el tamaño corporal (en gramos) y las variables: Df (Figura 6), DR (Figura 7), y TB (Figura 8) son mostrados a continuación:

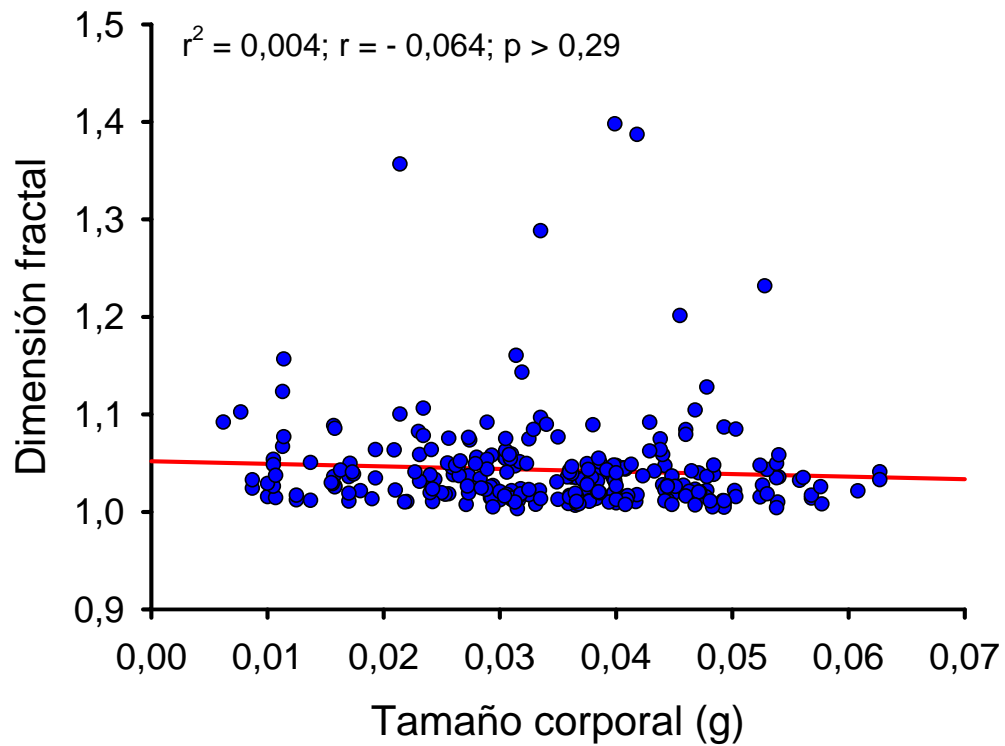


Figura 6. En la relación entre la variable Dimensión fractal y el tamaño corporal, se observa una leve tendencia negativa ($r = -0,06$), la cual no es significativa ($p > 0,298$). Por lo que se puede decir que la Dimensión fractal, no esta relacionada con el tamaño corporal.

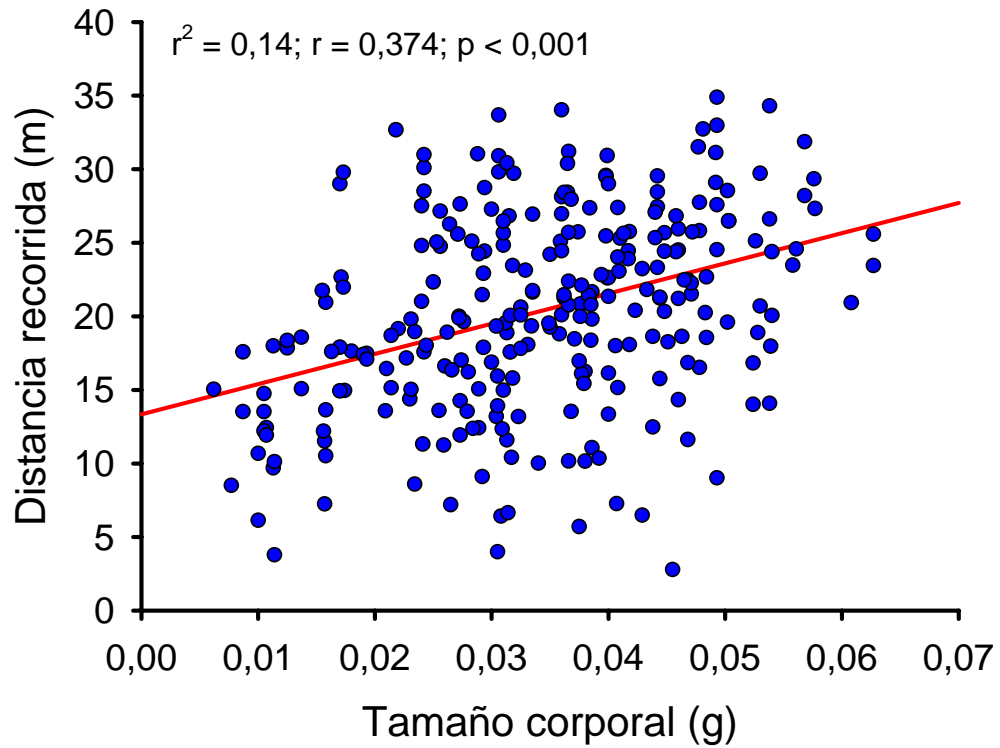


Figura 7. La relación entre DR y el Tamaño corporal, pese a tener un valor de p significativo ($p < 0,001$), el bajo ajuste valor de r^2 , nos indica que los puntos se encuentran muy alejados de la recta.

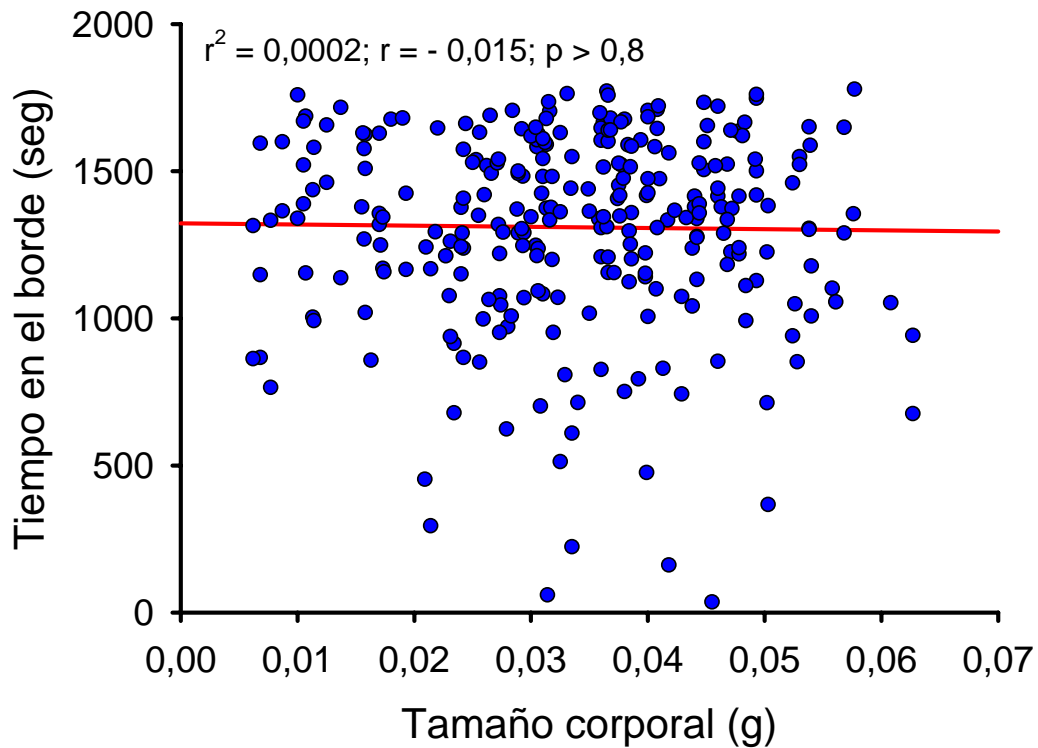


Figura 8. La relación entre la variable Tiempo en el borde y el tamaño corporal, tuvieron un bajo nivel de significación ($p > 0,8$), y el pobre ajuste de los puntos a la recta ($r^2 < 0,001$), nos indican que estos datos no están relacionados.

Los análisis de regresión realizados, entre el tamaño corporal y las variables de: Dimensión fractal y Tiempo en el borde, indicaron que no se encuentran relacionadas con el tamaño corporal, no así la Distancia recorrida ($p < 0,001$). Por esta razón el tamaño corporal fue utilizado como una covariable (Sokal & Rohlf, 1979).

3.3 Áreas de preferencia, AP.

Los resultados obtenidos con la separación virtual de la AE en 4 áreas (Figura 1), mostró diferencias significativas, por tratamiento ($p < 0,05$). Se observa claramente que el tratamiento H en los Machos, fue el que marcó esta diferencia (Figuras 9 y 10).

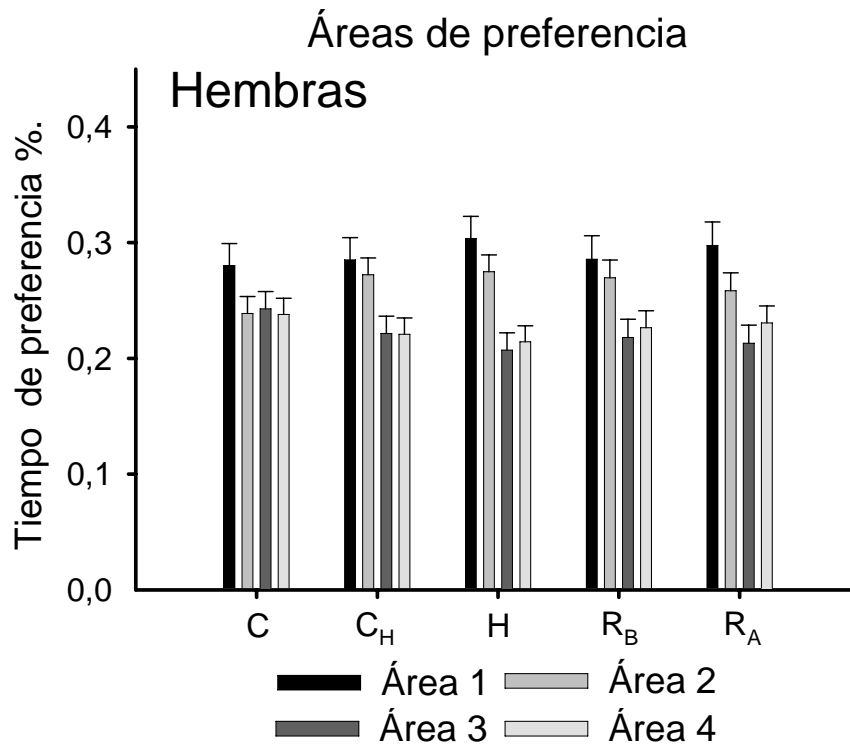


Figura 9. Las barras representan el porcentaje promedio de tiempo (en segundos), con ± 1 error estándar, para las Hembras que permanecieron en cada una de las áreas. En la abcisa se muestra: C (Control); C_H (Control Humedad); H (Humedad); R_B (Baja actividad de radiación β , de 6,44 Bq) y R_A (Alta actividad de radiación β , de 13,4 Bq). El numero de individuos para: C, C_H, H fue de 28 hembras; R_B y R_A el n fue de 25 hembras.

Se observa que en este caso, las hembras tienen un comportamiento muy homogéneo en todos los tratamientos, de los que solo se diferencian las áreas 1 y 2, de las áreas 3 y 4 (Figura 1).

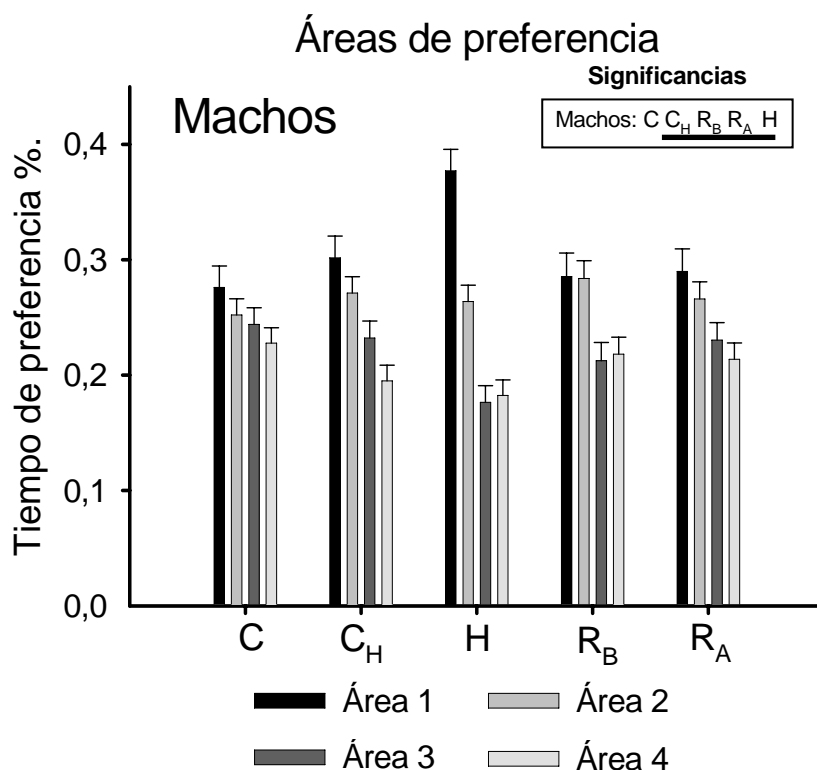


Figura 10. Las barras representan el porcentaje promedio de tiempo (en segundos), con ± 1 error estándar, para los Machos que permanecieron en cada una de las áreas. El cuadro titulado Significancias, marca los tratamientos con diferencias significativas ($p < 0,05$). Los tratamientos sin diferencias se encuentran subrayados. En la abcisa se muestra: C (Control); C_H (Control Humedad); H (Humedad); R_B (Baja actividad de radiación β , de 6,44 Bq) y R_A (Alta actividad de radiación β , de 13,4 Bq). El numero de individuos utilizados en

los análisis para: C, C_H, H fue de 30 machos; R_B el n fue de 25 y para R_A fue de 27 machos.

En general se observa una preferencia por el área 1 para el tratamiento H, en los Machos, ya que fue en este lugar donde se ubicó el estímulo. Por el contrario se puede observar que el área 4 (opuesto al área 1) (Figura 1) posee el menor tiempo de residencia en ambos sexos.

Finalmente, el área 1 tuvo la mayor preferencia en todos los tratamientos. Por el contrario el área 4, obtuvo el menor tiempo de preferencia para la gran mayoría de tratamientos. Para los tratamientos de R_B y R_A, no se observaron diferencias significativas por el área 4 (lugar donde se encontraba el estímulo), o por su opuesto, el área 1, en ambos sexos.

3.4 Distancia recorrida, DR.

El análisis de ANCOVA, por tratamiento, señaló diferencias significativas ($F_{4; 280} = 2,9231; p < 0,05$), entre los tratamientos. Luego, de una prueba *a posteriori* de Tukey, se diferencio a C_H de los otros tratamientos.

Una comparación por tratamientos y sexos, por medio de una prueba *a posteriori* de Tukey, dió como resultado que sólo el Control se encontraba diferenciado estadísticamente, entre los sexos ($p < 0,001$) (Figura 11). También, señaló diferencias significativas entre el tratamiento C y todos los tratamientos de los Machos ($p < 0,05$).

En el caso de las Hembras, sólo se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos C y C_H ($p < 0,001$).

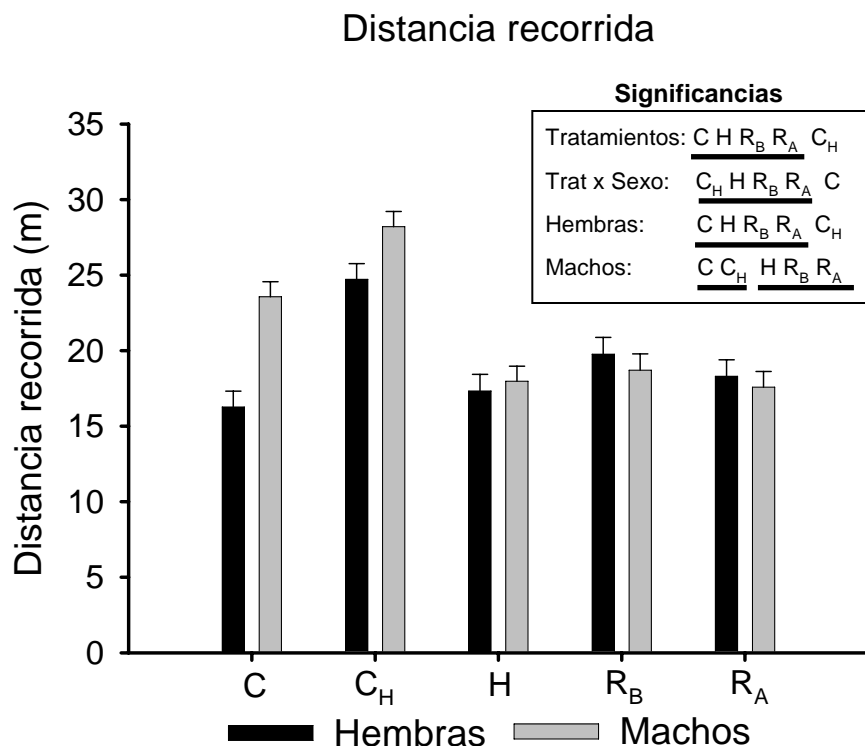


Figura 11. Las barras representan el promedio de la DR (en metros), con ± 1 error estándar, por tratamientos y sexos. El cuadro titulado Significancias, marca los tratamientos con diferencias ($p < 0,05$), los tratamientos sin diferencias se encuentran subrayados. En la abcisa se muestra: C (Control); C_H (Control Humedad); H (Humedad); R_B (Baja actividad de radiación β , de 6,44 Bq) y R_A (Alta actividad de radiación β , de 13,4 Bq). La muestra para este análisis para: C, fue de 30 machos y 27 hembras; C_H, 29 machos y 28 hembras; H, 30 machos y 25 hembras; R_B, 25 machos y 24 hembras; y R_A, 27 machos y 25 hembras.

Las diferencias encontradas en los Machos, entre el Control, y los tratamientos R_B y R_A , fueron significativas ($p < 0,05$, para ambos tratamientos); en el caso de las Hembras, en los mismos tratamientos no se observaron diferencias significativas ($p \geq 0,4$, para ambos tratamientos).

3.5 Tiempo en el Borde, TB.

En esta variable, se encontraron diferencias, entre los tratamientos ($F_{4, 261} = 2,2843$; $p = 0,06$). Después de un análisis *a posteriori* de Tukey, se encontraron diferencias entre el Control y el tratamiento H ($p = 0,053$). Ésta diferencia fue significativa en Machos, pero no en Hembras ($p < 0,05$ y $p = 0,77$, respectivamente) (Figura 12). Se puede distinguir una disminución del TB, en los Machos para el tratamiento H, que se diferencia de las Hembras; sin embargo esta diferencia no fue significativa ($p = 0,746$). La comparación por tratamientos, tampoco mostró diferencias significativas.

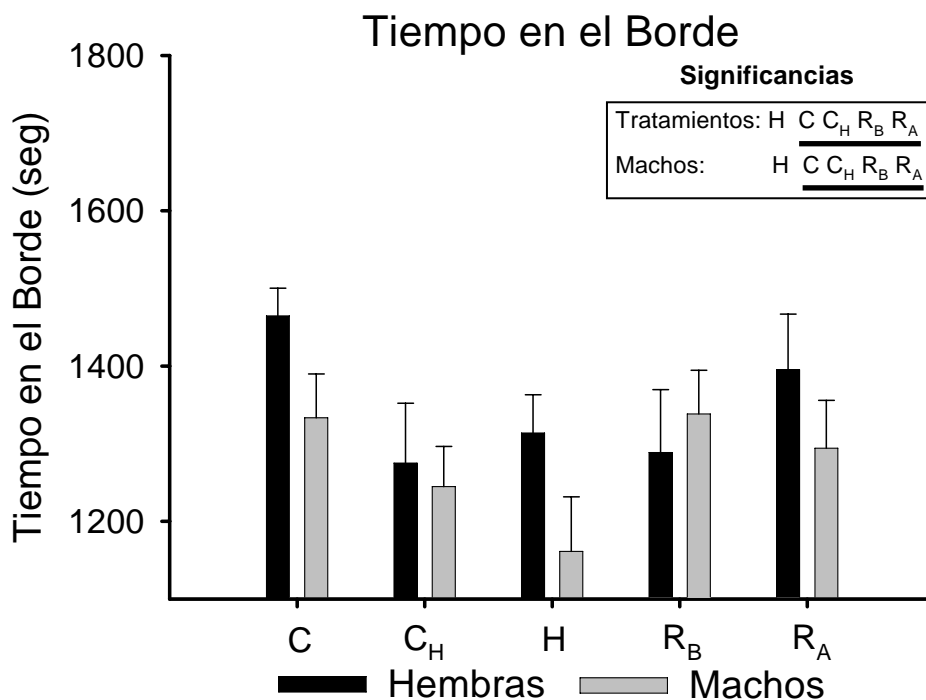


Figura 12. Las barras muestran los promedios del Tiempo en el borde (en segundos), con ± 1 error estándar, por tratamientos y sexos. El cuadro titulado Significancias, marca los tratamientos con diferencias ($p < 0,05$), los tratamientos sin diferencias se encuentran subrayados. En la abcisa se muestra: C (Control); C_H (Control Humedad); H (Humedad); R_B (Baja actividad de radiación β , de 6,44 Bq) y R_A (Alta actividad de radiación β , de 13,4 Bq). La muestra para este análisis para: C, fue de 30 machos y 28 hembras; C_H, 26 machos y 28 hembras; H, 30 machos y 28 hembras; R_B, 25 machos y hembras; y R_A, 30 machos y 28 hembras.

En general se puede observar que los isópodos permanecen más del 50% del tiempo total (1800 segundos) de observación en el borde de la AE.

3.6 Dimensión fractal, Df.

El análisis para la Dimensión fractal, mostró diferencias entre los tratamientos ($F_{4, 254} = 4,4477$; $p < 0,01$), pero no entre los sexos ($F_{4,254} = 1,2899$; $p = 0,274$). Sólo se encontraron diferencias para Control Humedad y los otros tratamientos (a excepción del Control), por medio de un análisis *a posteriori* de Tukey ($p < 0,01$) (Figura 9).

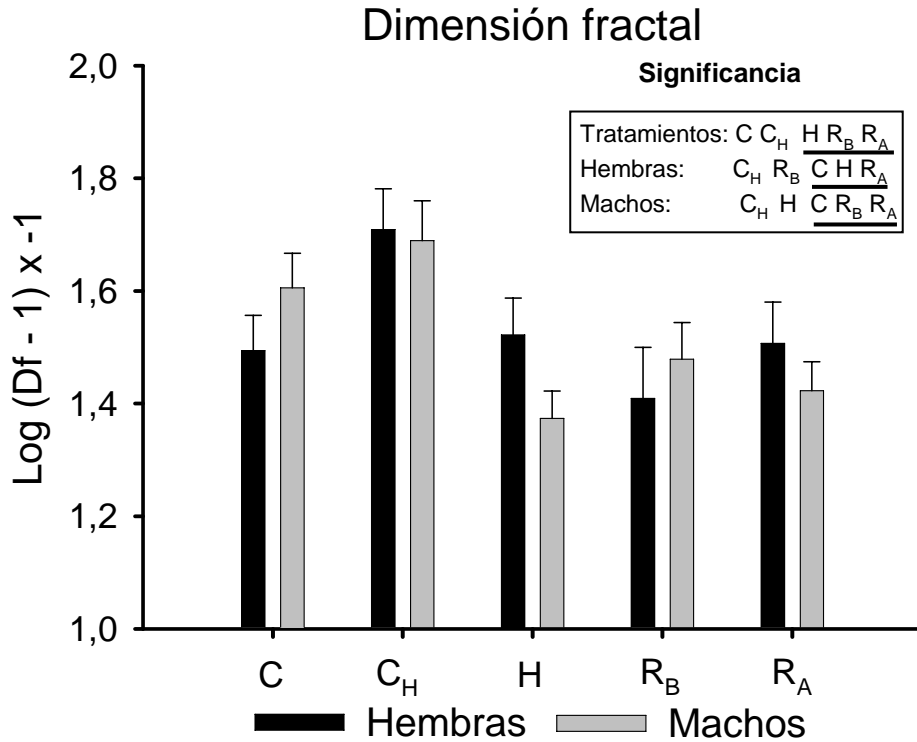


Figura 13. Las barras representan los promedios de la Df con ± 1 error estándar, por tratamientos y sexos. El cuadro titulado Significancias, marca los tratamientos con diferencias ($p < 0,05$), los tratamientos sin diferencias se encuentran subrayados. En la abcisa se muestra: C (Control); C_H (Control Humedad); H (Humedad); R_B (Baja actividad de radiación β , de 6,44 Bq) y R_A (Alta actividad de radiación β , de 13,4 Bq). La muestra para este análisis para: C,

fue de 30 machos y 27 hembras; C_H, 25 machos y 27 hembras; H, 30 machos y 25 hembras; R_B, 24 machos y 25 hembras; y R_A, 27 machos y 25 hembras.

Se observaron, también las Variaciones de la Df (VDf) en el recorrido, esto fue para detectar la presencia de zonas de dominio y/o transición (Nams, 2005); para cada uno de los tratamientos y sexos (Figuras 14 y 15). Para esto se estandarizo la DR de los individuos al 100%, de esta manera también se pudo establecer la DR estandarizada, mínima para poder observar un cambio.

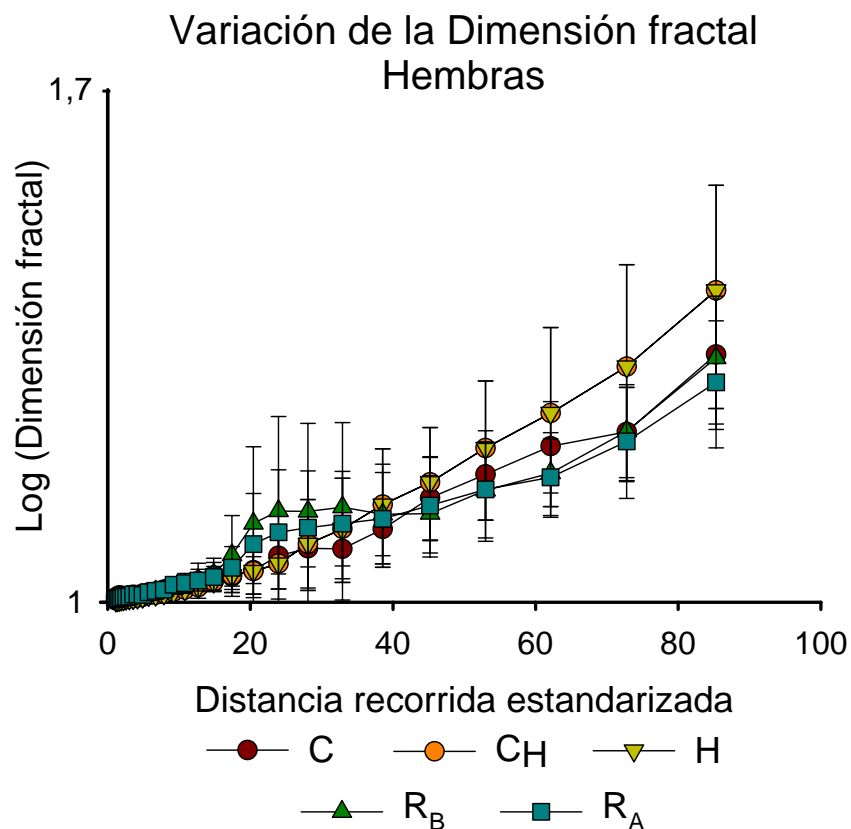


Figura 14. Distancia recorrida estandarizada, con sus cambios en la Dimensión fractal, para las Hembras. Los puntos representan los promedios, con la

desviación estándar. En la leyenda se muestran: C (Control); C_H (Control Humedad); H (Humedad); R_B (Baja actividad de radiación β , de 6,44 Bq) y R_A (Alta actividad de radiación β , de 13,4 Bq). La muestra para este análisis, para: C fue de 30 individuos; C_H, H y R_B con 29 animales c/u; y R_A fue de 28 Hembras.

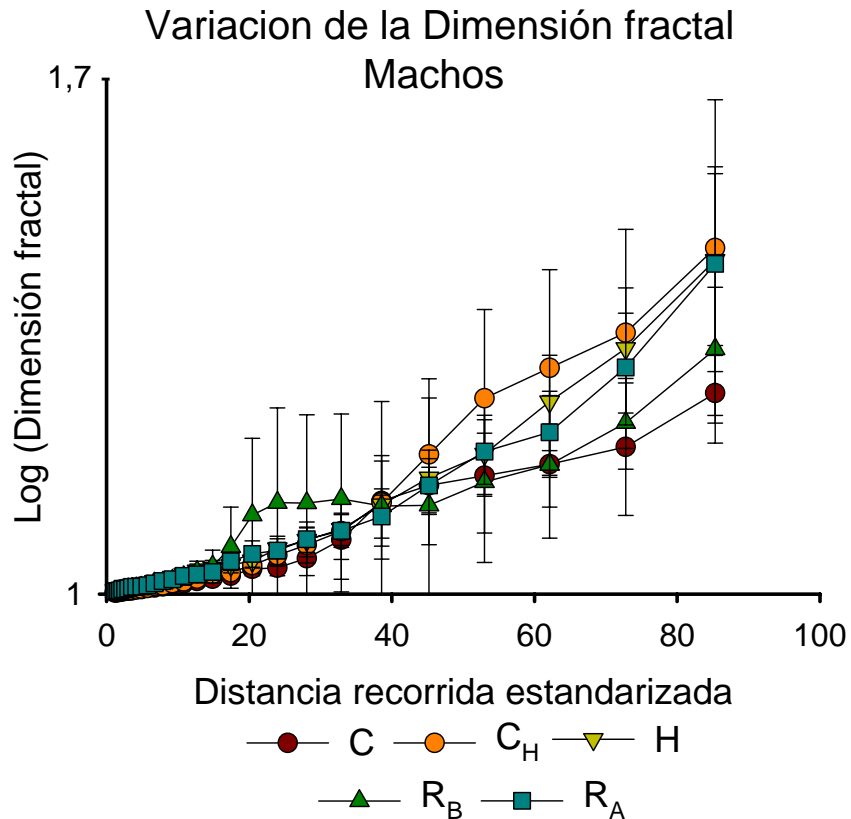


Figura 15. Distancia recorrida estandarizada, con sus cambios en la Dimensión fractal, para los Machos. Los puntos representan los promedios, y las barras muestran la desviación estándar. En la leyenda se muestran: C (Control); C_H (Control Humedad); H (Humedad); R_B (Baja actividad de radiación β , de 6,44 Bq) y R_A (Alta actividad de radiación β , de 13,4 Bq). El n de la muestra para este análisis, para: C, H, R_B, R_A fue de 30 individuos para cada tratamiento; y C_H fue de 25 Machos.

Se observa, en ambos sexos, un aumento de Df en la DR estandarizada, para el tratamiento de R_B, aproximadamente en el 15%, o 4,5 minutos de iniciada la prueba (Figuras 14 y 15). Este aumento en la VDf, indica que los individuos tienen una zona de dominio. En el tratamiento R_A, solo las Hembras presentaron una zona de dominio al mismo nivel de DR estandarizada, pero ésta variación fue menos marcada, que en el tratamiento R_B.

Se analizó también, la VDf de todos los controles y tratamientos (Figura 16) ($F_{28, 2232} = 5,1558$; $p < 0,001$), y se observó que entre los tratamientos, R_B, fue el que tuvo la mayor Variación de Dimensión fractal ($p < 0,001$).

No se encontraron diferencias estadísticas significativas, entre los sexos a pesar de que los valores de Dimensión fractal de las Hembras comenzaron a diferenciarse en el valor 14 de la Distancia recorrida estandarizada, mientras que los Machos en el valor 28. Éstos valores de Distancia recorrida estandarizada, se encuentran aproximadamente a los 6 minutos de comenzada la observación del isópodo.

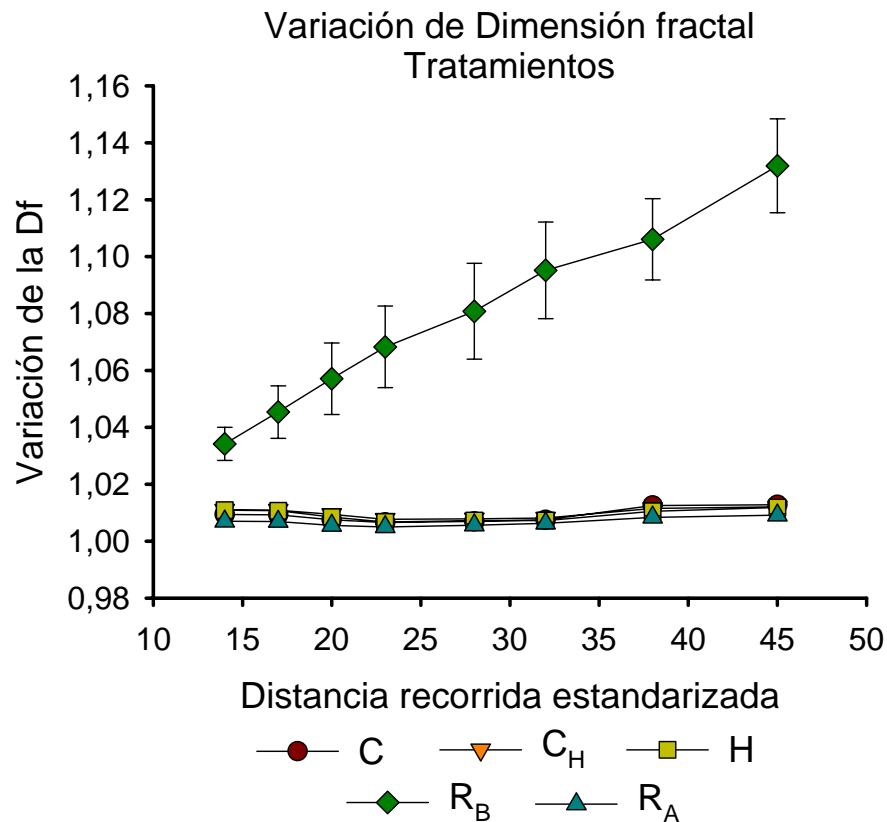


Figura 16. Variación de la Dimensión fractal, por tratamientos. Los puntos indican el promedio, y las barras indican ± 1 error estándar. Se observa, que el tratamiento R_B, se diferencia de los otros tratamientos. En la leyenda se muestran: C (Control); C_H (Control Humedad); H (Humedad); R_B (Baja actividad de radiación β , de 6,44 Bq.) y R_A (Alta actividad de radiación β , de 13,4 Bq.). La muestra para este análisis, para: C, fue de 60 individuos; H y R_B fue de 59 animales; C_H fue de 54 individuos; y R_A de 58 isópodos, de ambos sexos.

4. DISCUSIÓN

En este trabajo hemos presentado evidencias que isópodos terrestres de la especie *Porcellio scaber* (Latreille, 1804), alteran su movilidad o sus patrones de movimiento frente a 2 actividades de radiación β (tratamientos R_B y R_A). Se ha descrito que crustáceos dulceacuícolas (Rodríguez & Kimmeldorf, 1976), y terrestres (Kanao, 2002) son capaces de percibir radiaciones ionizantes, siendo esto evidenciado por un tactismo positivo. En nuestro caso, pese a que no se encontró ésta respuesta, frente a las dos actividades de radiación β utilizadas, si se observó un cambio en la Vdf, en la DR estandarizada, en ambos sexos para el tratamiento R_B , no siendo así R_A donde solo en las Hembras fue visto un comportamiento similar, pero en una menor escala. Lo anterior sugiere que las Hembras estarían siendo más perceptivas o afectadas por ambas actividades de radiación β , a comparación con los Machos, que sólo presentaron cambios en su comportamiento en R_B .

Las variables DR, y Df, muestran, que los individuos presentan el comportamiento de cinesis negativa, ya que hubo una disminución de ambas variables en los tratamientos de H, R_B y R_A , en comparación con los tratamientos C y C_H . El efecto de la humedad sobre los isópodos terrestres, específicamente de *P. scaber*, ha sido descrito anteriormente (Waloff, 1941; Dethier, 1964; Schöne, 1981; Bliss, 1982; y Ridley, 1995). Según estos autores éstos organismos presentan una respuesta de cinesis negativa frente a un estímulo de humedad (se mueven lentamente cuando están en presencia de humedad, y rápido en ausencia de ésta). Por otra parte, Waloff (1941) indicó también

que los animales aumentaban la frecuencia de los giros, en áreas de mayor humedad, permaneciendo por más tiempo en ese lugar.

La variable DR, para los Machos tuvo diferencias significativas para el tratamiento C versus los tratamientos de R_B y R_A . Por lo que la cinesis negativa fue más clara (el sexo machos, tuvo una menor DR, en presencia de los estímulos utilizados); no habiendo una clara diferencia entre las actividades de radiación β utilizadas. Las Hembras, en cambio, tuvieron un comportamiento más homogéneo en los tratamientos con radiación β , comparado con el Control.

La variable TB, solo presentó diferencias estadísticas entre el Control y el tratamiento Humedad. Esta variable, nos indica que los organismos se encuentran explorando el medio que los rodea. La presencia de los estímulos de humedad o radiación β , más la variable TB, señala que los isópodos están en búsqueda del estímulo, ya sea para acercarse o alejarse de éste. Un claro ejemplo de este comportamiento fue observado en el tratamiento H, en el cual los Machos permanecieron menos tiempo en el borde de la AE; esto sumado a un mayor tiempo en el área 1 (Figuras 1 y 10). No obstante, el borde de la AE resultó ser un gran foco de atracción, ya que los animales mantuvieron el contacto o se movilizaron, dentro del área considerada como borde (Figuras 1 y 12). Lo anterior, es evidencia del tigmotactismo (atracción por estar en contacto con un objeto), que poseen estos individuos, atribuido según Wallof (1941), a la conducta de agregación de estos crustáceos, de esta manera, los isópodos estarían evitando la pérdida de agua, debido a la evaporación.

Los resultados de la Df, mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, pero no entre los sexos. La complejidad de movimiento o Df, fue mayor en los tratamientos H, R_B y R_A, que en los controles (C y C_H). Sin embargo los valores de Df obtenidos, para los experimentos, indican que, los movimientos de los isópodos, son mas simples, que los encontrados en la literatura para otros artrópodos (Nams, 1996). Éste puede ser uno de los efectos de haber realizado las observaciones en una AE delimitada, ya que los animales no pueden desplazarse libremente, como en la naturaleza.

Los resultados de Df más los resultados obtenidos de las AP, señalan que estos organismos son afectados por los estímulos utilizados en los tratamientos, pero fueron incapaces de encontrar el foco u origen del estímulo de radiación, no así el estímulo de humedad, al cabo de 30 minutos de observación.

Los valores obtenidos de la VDf, en presencia de estímulos o en áreas de interés para los organismos, ha sido descrito por Nams (2004, 2005) y With (1994), ya que los animales que interactúan con el medio tendrán un aumento en la Df (zonas de dominio), no así los animales que solamente van de tránsito por el lugar (zonas de transición). Un análisis más detallado de la VDf en la DR estandarizada, dio como resultado, que el tratamiento de R_B afectó a ambos sexos por igual, no así el tratamiento de R_A, en el cual solo las Hembras fueron afectadas (Figuras 14 y 15).

Sin embargo, la VDf indica que los isópodos sí presentan un cambio, por consiguiente alteran su comportamiento en presencia de radiación β . Las distintas respuestas en el

tratamiento de R_A , para los sexos sería una consecuencia de la saturación del receptor, (los Machos poseen un umbral mas bajo, que las Hembras) o simplemente, la radiación β tiene un efecto de “confusión” en los receptores de los individuos.

Por otra parte, se ha descrito que bajas dosis de radiación afectan positivamente la respuesta inmune de los seres vivos, así como también su crecimiento (Gager, 1908; Pusey, 1911; Planel, 1987; Shieh, 1999; Hattori, 1999 y Tao, 2000), mejorando su calidad de vida o adecuación biológica. Por lo que los experimentos de Rodríguez & Kimmeldorf (1976); Kanao (2002); más los resultados mostrados en esta tesis, demuestran, que al menos algunos crustáceos, alteran sus patrones de comportamiento, en particular la orientación y/o el movimiento. Por lo que se discute si estos animales se estarían acercando a la radiación, con el objetivo de obtener algún beneficio (estaría tomando ventajas de su entorno) o simplemente, se aproximan por una alteración fisiológica aún desconocida.

En nuestros experimentos los resultados de las variables DR, TB y la VDf son claros indicadores de que *P. scaber* altera su movilidad. Ésta es la evidencia más clara de que el comportamiento exhibido por los isópodos es una cinesis negativa. Pero ¿es la cinesis una respuesta de orientación hacia un estímulo; o simplemente un efecto de la radiación sobre la fisiología del individuo? (Edney, 1968). Según Dethier (1964), Schöne (1981), Bliss (1982) y otros, éste tipo de comportamiento es una orientación indirecta. Una respuesta de éste tipo no indica un tactismo por parte del individuo. Sin embargo la

suma de respuestas, por parte del individuo, dan cuenta de una orientación en relación al estímulo y que su finalidad es la de acercar al individuo a éste (Schöne, 1981).

Este estudio no rechaza lo descrito por Kanao (2002), ya que ni la especie, ni el tiempo de medición fue el mismo (120 minutos), pero demuestra que *Porcellio scaber* presenta un comportamiento de cinesis negativa, y no de tactismo frente a las distintas actividades de radiación β , al cabo de 30 minutos de observación. Junto con esto la VDF que presentaron los isópodos para el tratamiento R_B , nos muestra que los isópodos, en efecto alteran su comportamiento en presencia de radiación β , por lo que nuestra hipótesis es aceptada.

Finalmente, de este trabajo se abre un gran número de preguntas, entre otras ¿Son los isópodos, realmente capaces de censar o sentir la radiación β , o es solo el efecto de la confusión de los sensores del animal?, ¿Realmente se aprovechan de la radiación ambiental?.

Schmalfuss (1998) describe los receptores que poseen los isópodos terrestres en sus antenas. Según este autor en el flagelo (Figura 17) de estos organismos se encuentran unos sensores laterales (Figura 18), los cuales aún no se les conoce una función definida. Lo anterior, más lo descrito por Kanao (2002) nos podría indicar que al menos, los isópodos terrestres poseen un radiocensor ubicado en el flagelo de la segunda antena.

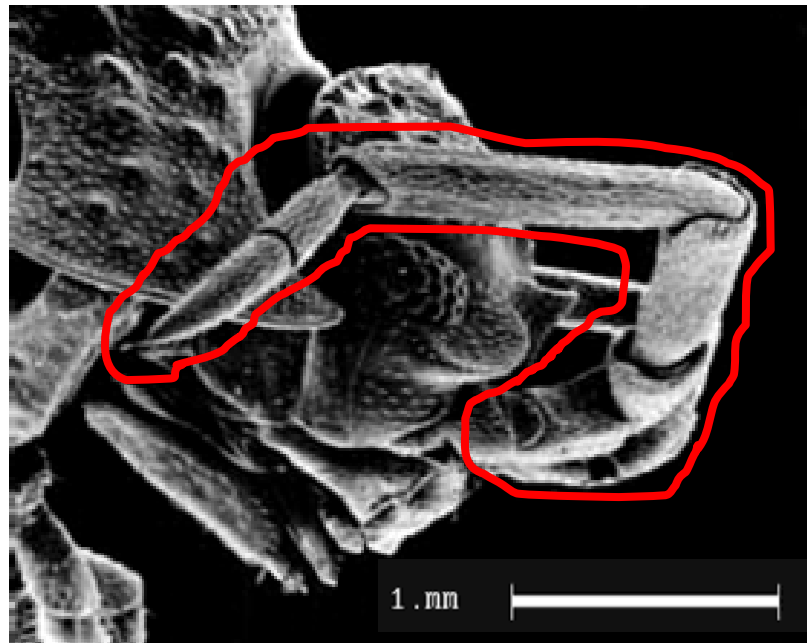


Figura 17. Fotografía de microscopía electrónica de barrido (MEB). Segunda antena de un isópodo (destacada en rojo), en la parte distal de la antena, se encuentra el flagelo.

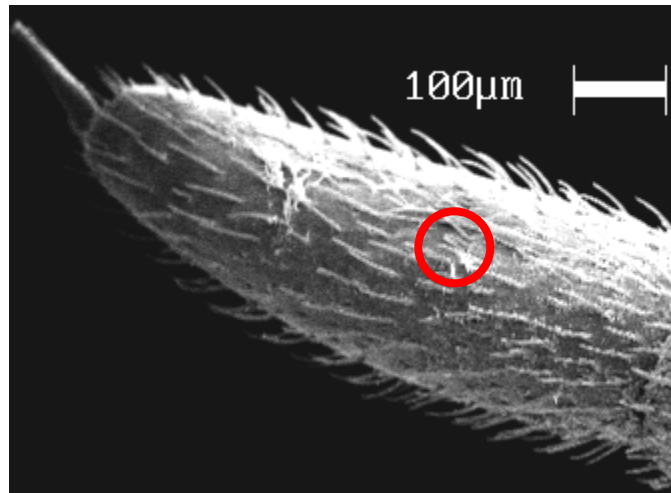


Figura 18. Fotografía en microscopía electrónica de barrido (MEB) del flagelo de la segunda antena. Se indica uno de los receptores laterales (círculo rojo), posible receptor que causa el comportamiento observado en este trabajo.

Finalmente, un experimento a futuro puede ser realizar estudios de excitación neuronal del posible radiosensor, para conocer si el sensor propuesto es efectivamente el encargado de recibir la señal.

5. BIBLIOGRAFÍA

Atema, J. (1996). Eddy chemotaxis and odor landscapes: Exploration of nature with animal sensors. *The Biological Bulletin*, 191: 129–138.

Bacq, Z.M. and P. Alexander. (1961). *Fundamentals of Radiobiology*. Second edition. Pergamonn Press. 562 pp.

Bliss, D.E. (1982). *The biology of Crustacea*. Vol. 7 Behavior and Ecology. Academic Press. 338 pp.

Boulat, Y; J.-C. Milliès-Lacroix, G. Le Petit and J. Bourguignon. (1996). ^{90}Sr , ^{137}Cs and $^{239+240}\text{Pu}$ in World Ocean Water Samples Collected from 1992 to 1994. *Radionuclides in the Oceans, inputs and inventories*. Editors: Pierre Guéguénat, Pierre Germain and Henri Métivier. Institut de protection et de surete nucleaire. Les editions de physique. 231 pp.

Bowdan, E., (1996). Sensory Ecology. *The Biological Bulletin*, 191: 122- 123.

Brusca R. C. and G. J. Brusca. (1990). *Invertebrates*. Sinauer Associates, inc. Sunderland, Massachusetts. 922 pp.

Dethier, V.G. and E. Stellar. (1964). *Animal Behavior*. Second edition. Englewood Cliffs, N.J. 117 pp.

Edney, E. (1968). Transition from water to land in isopods crustaceans. *American Zoology*, 8: 309 - 326.

Eibl-Eibesfeldt. (1974). *Etología: introducción al estudio comparado del comportamiento*. Segunda edición. Ediciones Omega, S.A. Barcelona. 643 pp.

Gager, C.S. (1908). Effects of the Rays of Radium on Plants. *Mem. N.Y. Bot. Garden*, IV.

Galtstoff P.S., F.E. Lutz, P.S. Welch, and J.G. Needham. (Editors.) 1937. *Culture methods of invertebrate animals*. Dover Publishing, Inc. New York, 590 pp.

Gomez, G. & J. Atema, (1996). Temporal Resolution in olfaction: stimulus integration time of lobster chemoreceptor cells. *The Journal of Experimental Biology*, 199, 1771–1779.

Hattori, S. (1999). The study of biological effects on low doses radiation (hormesis) in Taiwan. *Energy Future in the Asia/Pacific Region 4th Nuclear Energy Symposium*. 58-59.

Jaworowski, Z. (1998). A Realistic Assessment of Chernobyl's Health Effects. 21st Century Science & Technology. Summer. pp. 14-25.

Kanao, T., Y. Miyachi and Yamada, T. (2002). Terrestrial isopods congregate under a low-level β -emitter source. *Journal of Environmental Radioactivity*, 63(2): 199-205.

Kira, S., Makarova, L. Aravind, Yuri I. Wolf, Roman L. Tatusov, Kenneth W. Minton, Eugene V. Koonin and Michael J. Daly. (2001). Genome of the Extremely Radiation-Resistant Bacterium *Deinococcus radiodurans*, Viewed from the Perspective of Comparative Genomics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(1): 44 – 79.

Muckerheide, J. (2002). There has never been a time that the beneficial effects of low-dose ionizing radiation were not known. American Nuclear Society, 12th Biennial RPSD Topical Meeting, Santa Fe NM, April 14-16.

Mulsow, S., Landrum, P.F., Robbins, J.A. (2002). Biological mixing responses to sublethal concentrations of DDT in sediments by *Heteromastus filiformis* using a Cs-137 marker layer technique. *Marine Ecology Progress Series*, 239: 181-191.

Nams, V.O. (1996). The VFractal: a new estimator for fractal dimension of animal movement paths. *Landscape Ecology*, 11: 289 - 297.

Nams, V.O. & M. Bourgeois. (2004). Fractal dimension measures habitat use at different spatial scales: an example with marten. *Canadian Journal of Zoology*, 82: 1738 - 1747.

Nams, V.O. (2005). Using animal movement paths to measure response to spatial scale. *Oecologia*, 143: 179 - 188.

Pentreath, R.J. (1980). Nuclear power, Man and the Environment. The Wickenham Science Series. 225 pp.

Planel, H.; Soleilhavoup, J. P.; Tixador, R.; Richoilley, G.; Conter, A.; Croute, F.; Caratero, C.; Gaubin, Y. (1987). Influence on Cell Proliferation of Background Radiation or Exposure to Very Low, Chronic Gamma Radiation. *Health Physics*, 52(5): 571 - 578.

Pusey, A. (1911). The biological effects of radium. *Science*, 33: 1001 - 1005.

Ridley, M. (1995). Animal behavior. An introduction to behavioural mechanisms, development, and ecology. Second edition. Blackwell Science, Inc. 288 pp.

Rodriguez, A. & D.J. Kimeldorf. (1976). Behavioral and electrophysiological studies of radiation detection in a freshwater crustacean. *Radiation research*, 66(1): 134 - 46.

Schmalzfuss, H. (1998). Evolutionary strategies of the antennae in terrestrial Crustaceans. *Journal of Crustacean Biology*. 18(1): 10-24.

Schöne, H. (1984). *Spatial Orientation: The Spatial Control of Behavior in Animals and Man*. Princeton University Press, Princeton. 324 pp.

Shieh, M.C., Y.C Su. and Wu, M.F. (1999) The study of biological effects on low doses radiation (hormesis) in Taiwan. *Energy Future in the Asia/Pacific Region 4th Nuclear Energy Symposium*. 60-65.

Sokal, R. y F. Rohlf . (1979). *Biometría, principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. Primera edición. Heroes S.A. 832 pp.

Southam, CM., Erlich J., (1943). Effects of extracts of western red-cedar heartwood on certain wood-decaying fungi in culture. *Phytopathology*, 33: 517 - 524.

Spiro, T.G. y W.M. Stigliani. (2004). *Química Medioambiental*. Segunda edición. Prentice Hall. 504 pp.

Tao, Z., y Y. Zha, et al. (2000). "Cancer mortality in the high background radiation areas of Yangjiang, China during the period between 1979 and 1995." *Journal of Radiation Research (Tokyo)*, 41: 31 - 41.

Waloff, N. (1941). The Mechanisms of Humidity Reactions of Terrestrial Isopods. *Journal of Experimental Biology*, 18: 115 - 135.

With, K.A. (1994). Using Fractal analysis to assess how species perceive landscape structure. *Landscape Ecology*, 9: 25 - 36.

Whitten, K.W., K.D. Gailey y R.E. Davis. (1992). *Química General*. Tercera Edición. McGraw-Hill. 926 pp.

6. ANEXOS

6.1 Anexo 1: Mantenimiento de los especímenes.



En la fotografía se muestran, el incubador de tejido (LAB-line V.I.P. CO₂ incubator 417-2), utilizado para la mantención de los isópodos terrestres, y a la derecha del incubador, la lámpara utilizada para la regulación del fotoperiodo.

6.2 Anexo 2: Tabla con supuestos de Normalidad y de Homocedasticidad.

Variables	Homocedasticidad (Test de Levene)		Normalidad (Test de Lilliefors)
	Valores F	Valores p	Valores p
Áreas de Preferencia (áreas 1/ 2/ 3/ 4)	2,567/ 2,082/ 1,778/ 0,6228	0,007/ 0,001/ 0,072/ 0,777	0,01 ^{*1}
Distancia recorrida (m)	1,14722	0,329434	0,08549
Tiempo en el borde	1,257431	0,260069	0,1
Dimensión Fractal ^{*2}	1,054448	0,397057	0,2

En la tabla se ilustran los valores p obtenidos para los supuestos de homocedasticidad (test de Levene) y normalidad (Test de Lilliefors) de los datos.

^{*1} = Mismo valor obtenido para todas las áreas.

^{*2} = Esta variable fue transformada, utilizando Log (Dimensión fractal – 1).

6.3 Anexo 3: Tablas de ANCOVA

A continuación se muestran las tablas de resumen de los análisis de covarianza realizados para las distintas variables, donde G.L.: Grados de libertad; F: valor del estadístico F; p: Valor de p.

- Distancia recorrida (m):

	G.L.	F	p
Tratamientos	4	18,2125	< 0,001
Sexo	1	7,6570	< 0,01
Tratamientos X Sexo	4	2,9231	< 0,05
Error	259		

- Tiempo en el Borde (s):

	G.L.	F	p
Tratamientos	4	2,2843	0,061
Sexo	1	3,4916	0,063
Tratamientos X Sexo	4	0,8929	0,469
Error	261		

- Dimensión fractal:

	G.L.	F	p
Tratamientos	4	4,4477	< 0,01
Sexo	1	0,1355	0,713
Tratamientos X Sexo	4	1,2899	0,274
Error	254		

- Variación de Df:

	G.L.	F	p
Tratamientos	4	190	< 0,001
Sexo	1	6	< 0,02
Escala	7	6	< 0,001
Tratamiento X Sexo	4	3	< 0,03
Tratamiento X Escala	28	5	< 0,001
Sexo X Escala	7	0	0,997
Tratamiento X Sexo X Escala	28	0	0,999
Error	2232		

- Áreas de preferencia (s):

Área 1	G.L.	F	p
Tratamientos	4	3,1542	< 0,05
Sexo	1	1,6633	0,198
Tratamientos X Sexo	4	1,5918	0,177
Error	264		

Área 2	G.L.	F	p
Tratamientos	4	1,4242	0,226
Sexo	1	0,2714	0,603
Tratamientos X Sexo	4	0,2564	0,906
Error	264		

Área 3	G.L.	F	p
Tratamientos	4	2,9794	< 0,05
Sexo	1	0,0535	0,817
Tratamientos X Sexo	4	0,9577	0,431
Error	264		

Área 4	G.L.	F	p
Tratamientos	4	1,9452	0,103
Sexo	1	4,3219	< 0,05
Tratamientos X Sexo	4	0,2546	0,907
Error	264		