

Efecto tóxico del DDT, clordano y agua de la presa Ignacio Ramírez (México), sobre *Daphnia magna* (Crustacea: Daphniidae)

¹Laura Martínez-Tabche, ¹Martha Romero Solís, ²Eugenia López López y ¹Marcela Galar Martínez

¹Laboratorios de Toxicología Acuática y de ²Limnología, ¹Depto de Toxicología y de ²Ecología de Graduados, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Plan de Ayala y Carpio s/N, Delegación Miguel Hidalgo, México, D. F. CP 11340. Fax: 52-5 3963503; Correo electrónico: ltabche@bios.encb.ipn.mx.

Recibido 26-X-1998. Corregido 5-VII-1999. Aceptado 6-VII-1999.

Abstract: Chlorodiphenylnitrichloroethane (DDT) and chlordane (CLO) are currently used in Mexico to control malaria and termites. From 1990 to 1996 a total of 27 ton of DDT and 508 of CLO were imported. We establish a methodology to determine their environmental impact in a Mexican dam (Ignacio Ramírez). The toxic effect of DDT and CLO were evaluated on the o-demethylase (OD) and acetylcholinesterase activities (AChA) of the cladoceran *Daphnia magna* exposed to different concentrations of the insecticides solved in water from three sites. Their effect on the AChA and OD activities, and so the CL50 were used as exposure bioindicators to determine the more polluted sites. The physicochemical characteristics of water and the biodiversity of the dam test sites were considered. The station near the floodgate has toxicity potential because enzymatic activities were modified. We suggest the use of AChA and OD activities measure in the cladoceran to evaluate the toxicity of a water body polluted by organochlorate insecticides.

Key words: *Daphnia magna*, pesticides, o-demethylase, acetylcholinesterase, toxicity, reservoir.

El sesenta por ciento del territorio mexicano desde el nivel del mar hasta los 1 800 m de altitud presenta condiciones favorables para la transmisión de la malaria. Esto incluye las vertientes del Océano Pacífico y del Golfo de México, la península de Yucatán y las cuencas interiores de la meseta superior, donde habitan alrededor de 45 millones de personas. En 1985 se registraron 133 700 casos de malaria en 14 000 localidades. De 1 985 a 1 989, el promedio anual fue de 117 000 casos. Actualmente el uso del DDT está autorizado solamente en las campañas de salud pública y sigue siendo una importante herramienta en la lucha contra la transmisión de la malaria. En México las importaciones, en el período de 1990 a 1996, de este compuesto fueron de 27 toneladas (Anónimo 1997).

Otro plaguicida organoclorado empleado para la eliminación de termitas en determina-

dos productos de madera es el CLO. México no fabrica el ingrediente activo, sin embargo, el compuesto es formulado por una sola empresa. Cinco estados (Nuevo León, Jalisco, Coahuila, el Estado de México y el Distrito Federal) son abastecidos con el insecticida en su presentación comercial. Existen nueve autorizaciones para el uso del CLO en la República Mexicana, incluyendo una para la preparación del producto técnico; las otras están limitadas al control de termitas. De 1990 a 1996, un total de 508 toneladas de producto técnico fueron importadas de Estados Unidos (Anónimo 1997).

Los compuestos organoclorados, en general, alteran la cinética de los iones Na⁺, K⁺ y Ca⁺⁺ de la membrana del axón. Se ha propuesto su participación en la producción de lipoperoxidación de las membranas biológicas, por la formación del anión superóxido. A causa de

esta toxodinamia estos xenobióticos, pueden producir efectos sobre el sistema nervioso y el de biotransformación de xenobióticos de los diferentes organismos que se exponen a estos contaminantes (Repetto *et al.* 1995).

Los cladóceros, organismos que se emplean para evaluar la toxicidad de un cuerpo de agua (Gray 1989), presentan un sistema nervioso, lo cual sugiere la presencia de la acetilcolina (ACh) (Atwood 1982). Este neurotransmisor normalmente es hidrolizado por la AChA, la cual es muy sensible a diferentes contaminantes, entre los que se pueden mencionar a los metales pesados, detergentes e hidrocarburos policíclicos (Martínez-Tabche *et al.* 1997).

En los crustáceos, la biotransformación de xenobióticos se lleva a cabo por la función mixta oxidasa (FMO) (Martínez-Tabche *et al.* 1994b), sistema que se encarga casi siempre de aumentar la hidrosolubilidad de los compuestos, sin embargo, este proceso puede ser modificado, por diferentes xenobióticos. Los compuestos organoclorados estimulan la FMO tanto en la fauna como en organismos de laboratorio, lo cual puede generar compuestos menos o más tóxicos (Ecobichon 1996).

El objetivo de este estudio fue evaluar la toxicidad del agua de la presa Ignacio Ramírez sembrada con DDT y CLO sobre la actividad de la AChA y la OD del cladóceros *Daphnia magna* Straus 1 820, y establecer una metodología sensible, económica y rápida para evaluar el impacto ambiental que pueden producir estos compuestos sobre un ecosistema acuático.

MATERIALES Y MÉTODOS

Trabajo de campo: El presente estudio se realizó en la Presa Ignacio Ramírez (PIR), río La Gavia (19° 50' y 99°46' N 99°50' y 99°46' W). La presa recibe la afluencia de los ríos El Salitre, El Muerto, Las Cebollas, San Pedro, El Guajolota, El Almoloya principalmente. El área de la cuenca es de 505 Km² y la capacidad total de almacenamiento 20.5 millones de m³ (usado: 93.30 millones de m³ al año). La población económicamente activa (agricultura,

ganadería, caza y pesca) ocupa 219 744.380 ha. El clima es templado subhúmedo (pluviosidad 822.5 mm anuales). La erosión es importante (De la Vega *et al.* 1997).

El muestreo se hizo en septiembre de 1997 (estación de lluvia) en tres sitios según su toxicidad (De la Vega *et al.* 1997). Se tomaron muestras de la columna de agua superficial (hasta 50 cm). En el campo se determinaron por triplicado la temperatura y el pH. Las determinaciones químicas, de sólidos suspendidos y turbiedad con un espectrofotómetro Hach DRL-2000 y conductividad con un conductímetro Hanna instruments HI 8733. Oxígeno disuelto según el método Winkler). También se tomaron muestras de plancton.

Cultivo del organismo de prueba: La *D. magna* fue cultivada en el laboratorio por partenogénesis en agua reconstituida, cuyas características fisicoquímicas son: dureza (como CaCO₃)=30 a 35 mg/l, pH=7.2 a 7.6, oxígeno disuelto=6.5 a 7.5 mg/l, con un fotoperíodo natural y fue mantenida a una temperatura de 20±2°C, con una dieta de alga verde *Ankistrodesmus falcatus*, cuya densidad celular se ajustó a 5 X10⁶ células/ml.

Determinación de la toxicidad aguda de la PIR: A 18 lotes constituidos por 15 neonatos cada uno (un día de nacidos) se expusieron al agua de cada uno de los sitios de estudio de la PIR a concentraciones de 0, 6.25, 12.5, 25, 50 y 100 %. El volumen final de cada uno de los lotes fue de 100 ml, el cual se alcanzó con agua reconstituida. Durante el período de exposición (48 hr) los crustáceos no se alimentaron. La falta de movimiento de los organismos se utilizó como indicador de mortalidad.

Determinación de la toxicidad aguda del DDT y CLO: La evaluación de la toxicidad aguda del DDT y CLO, (insecticidas grado técnico al 100 y 93%, Tekem, México respectivamente) se realizó en *D. magna*. A 40 lotes de 15 cladóceros de un día de nacidos se distribuyeron en un lote testigo, que se preparó únicamente con agua reconstituida, un control al cual se le adicionó el disolvente del DDT y

del CLO (un ml de acetato de etilo disuelto en 100 ml de agua de cada sitio de estudio de la PIR) y 36 que se intoxicaron con las siguientes concentraciones de cada uno de los plaguicidas: 0.01, 0.03, 0.05, 0.7, 0.9 y 1.0 mg/l (cada una de estas soluciones se disolvieron con el agua de cada uno de los sitios en estudio de la PIR). Estas se prepararon a partir de una solución patrón de 100 mg/l (1 ml de acetato de etilo/l de agua de PIR). Después de 48 h de intoxicación se determinó el número total de organismos inmóviles. Cada experimento se llevó a cabo por triplicado.

Determinación de la toxicidad subletal del agua de la PIR y de los plaguicidas: 500 mg de cladóceros (21 días de nacidos) (peso húmedo) fueron expuestos al agua de la presa con y sin plaguicidas. Después de 48 h todos los organismos se homogeneizaron con 10 ml de amortiguador de fosfatos (Merck), pH 7.4 y centrifugado a 14 500 rpm durante 20 min a 14°C. En el sobrenadante se determinó la actividad de la AChA y OD, ya que éste se utilizó como fuente de enzimas.

Efecto sobre OD: La presencia de la actividad enzimática de la FMO en *D. magna* fue estudiada a través de la biotransformación del para nitro anisol (PNA) a para nitrofenol (PNF), reacción que se lleva a cabo por OD. La actividad de esta enzima sobre el PNA fue medida por el método modificado de McMahon *et al.* (1963). A 14 tubos con 1.0 ml del sobrenadante (obtenido en el ensayo de toxicidad subletal) se le adicionó 1.0 ml de amortiguador de fosfatos 0.25 M (pH 7.4), 2.9 ml de agua destilada y 7.51 mmol de PNA. El volumen total fue de 5.0 ml. Se incubaron a 37 °C. Después de 60 min, la reacción se detuvo al adicionarle 1.0 ml de ácido tricloroacético (TCA) (30%). Las mezclas fueron centrifugadas a 15 000 rpm durante 10 min a 4°C, al sobrenadante se mezcló con 2.0 ml de NaOH 2.0 N. La concentración de PNF fue determinada a 400 nm de absorbancia en un espectrofotómetro Varian DMS 90 por comparación con un estándar.

Efecto sobre la AChA: La actividad de la AChA fue evaluada a través de la determinación de la ACh no hidrolizada por el sobrenadante del cladóceros, el cual contiene esta enzima. La concentración de ACh remanente reacciona con la hidroxilamina para formar un complejo colorido (método de Hestrin 1949). A 1.0 ml del sobrenadante (obtenido en el ensayo de toxicidad subletal) se le adicionó 1.0 ml 0.8 µM de ACh y 3 ml de amortiguador de trifosfatos (pH=7) y posteriormente se incubó a 37°C. Después de 30 min, la reacción fue suspendida al adicionarle 2.0 ml de hidroxilamina 2.0 M y 1.0 ml de ácido clorhídrico 4 N y 1.0 ml de cloruro férrico 0.39 M disuelto en ácido clorhídrico 0.1N. El color desarrollado fue medido a 540 nm en un espectrofotómetro Varian Mod 980. La concentración de ACh no hidrolizada fue comparada con un estándar. La concentración de proteínas se determinó en el sobrenadante por el método de Bradford (Bradford 1976). A 25 µl del sobrenadante se le adicionaron 75 µl de agua destilada y 2.5 ml de reactivo de Bradford (100 mg de azul de commassie se disolvieron en 50 ml de etanol al 95 % con 100 ml de ácido fosfórico, el volumen final de este reactivo fue de 1000 ml, el cual se alcanzó con agua destilada). Después de 5 min, la absorbancia del complejo colorido se midió a una longitud de onda de 595 nm. Estos datos se interpolaron en una curva tipo de albúmina (100 mg de albúmina sérica bovina en 100 ml de agua destilada). La actividad enzimática fue expresada en µmol de ACh hidrolizada/ mg proteína/ min.

RESULTADOS

La temperatura del agua de la PIR manifestó un pequeño gradiente entre superficie y fondo; el oxígeno disuelto alcanzó concentraciones muy bajas desde la superficie hasta el fondo. Los valores de pH fueron cercanos a la neutralidad en toda la columna de agua. En esta misma los valores de sólidos suspendidos así como la de los sulfatos fueron elevados, alcanzando una transparencia de 8 cm (Cuadro 1).

CUADRO 1

Propiedades fisicoquímicas de la presa Ignacio Ramírez

Parámetros	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Calcio (mg/l)	36±1.2	36±1.7	30±1.4
NH ₃ (mg/l)	1.7±0.021	1.5±0.03	1.9±0.02
NO ₂ (mg/l)	0.125±0.001	0.148±0.003	0.124±0.001
NO ₃ (mg/l)	1.9±0.010	1.8±0.02	3.8±0.02
PO ₄ (mg/l)	1±0.050	0.5±0.01	1±0.001
SO ₄ (mg/l)	100±13	84±12	98±17
Turbidez (UTF)	280±27	310±23	375±57
Sólidos suspendidos (mg/l)	15±2	70±7	103±15
Color (mg Pt/l)	950±38	1150±42	1003±447
pH	6.7±0.02	6.6±0.4	6.6±0.9
Conductividad (μS/cm)	260±15	285±25	285±0.9
Oxígeno disuelto (mg/l)	6.4±0.005	6.1±0.003	6.0±0.006
Temperatura (°C)	17±0.91	17.4±0.81	16.8±0.88

Cada valor representa el promedio de 3 cuantificaciones ±desviación estandar

CUADRO 2

Composición del fitoplancton de la presa Ignacio Ramírez

Especies	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Ankistrodesmus combolustus	0.13±0.052	0	0
Chlorella ellipsoidea	0	0	0.8±0.0066
Franceia droescheri	0.22±0.085	0	1.7±0.044
Oocystis ellipsoidea	6.71±0.92	0	4.45±0.87
Ulothrix subtilissima	8.44±0.99	17.57±3.25	24.31±1.56
Cyclotella glomerata	0	0	34.31±1.56
Denticula tenuis	0	0	8.57±1.12
Fragilaria pinnata	0.14±0.0025	0	0
Melosira italica	0.79±0.0047	2.26±0.52	1.71±0.098
Navicula dicephala	0.08±0.0065	10.48±2.33	0
Stephanodiscus astraee	10.55±1.002	15.61±1.77	1.71±0.098
Chroococcus minimus	0	0	01.71±0.004
Chroococcus minor	64.23±12.3	14.55±0.91	0
Dactylococopsis acicularis	0.2±0.058	12.29±0.57	0
Marsoniella elegans	0.23±0.21	0	0
Nostoc caerolum	0.46±0.098	0	0.24±0.0008
Oscillatoria articulata	0.43±0.025	8.44±0.25	3.95±0.054
Oscillatoria limnetica	0	10.93±9.11	8.06±0.078
Oscillatoria limosa	0	0	3.17±0.0022
Spirulina laxa	4.563±1.23	0	0
Synechococcus aeruginosa	0.723±0.68	0	0
Lepocynclis sphagnophia	1.953±0.057	0	1.9±0.0033

Cada valor representa el promedio de 3 cuantificaciones ± desviación estandar

La comunidad fitoplanctónica estuvo dominada por diez especies de las cuales las bacilariofíceas *Stephanodiscus astraee* y *Melosira italica* fueron los componentes importantes de este grupo; entre las clorofíceas se encontraron *Ulothrix subtilissima* y *Oocystis ellipsoidea*,

mientras que la cianofíceas de mayor importancia fue *Chroococcus minor* (Cuadro 2).

Con respecto al zooplancton se observó un predominio de especies de cladóceros sobre los copépodos y una escasa representación de los rotíferos. Entre los cladóceros *Bosmina*

CUADRO 3

Comunidad del zooplankton en la presa Ignacio Ramírez

Sitio 1 (%)	Sitio 2 (%)	Sitio 3 (%)	
Nauplios	4.22±1.2	13.79±2.1	19.96±2.5
Rotíferos	0.39±0.07	0.22±0.03	1.66±0.07
Copépodos	37.06±1.2	15.57±2.1	14.44±2.1
Cladóceros	58.32±3.5	70.42±4.5	63.94±7.2

Cada valor representa el promedio de 3 cuantificaciones ± desviación estandar.

longirostris fue la especie que contribuyó con las mayores densidades, mientras que entre los copépodos fue *Diatomus montezumae* el de mayor densidad (Cuadro 3).

La comunidad íctica del sistema cuenta con una especie de charal endémica de la cuenca, *Chirosoma riojai* y un godeido nativo *Gyrardinichthys multiradiatus*. Además se han introducido especies de carpas *Cyprinus carpio* y *Carrassius auratus* que en conjunto con el charal son sometidas a pesca y consumo local.

En este estudio se determinó la letalidad del agua de diferentes lugares de la PIR sobre el cladóceros. Los 3 sitios presentan actividad tóxica, sin embargo el sitio 2 es el más contaminado, ya que el valor de la CL_{50} fue menor que en los otros puntos de muestreo (Cuadro 4).

El valor de la CL_{50} 24 h del DDT y del CLO (disueltos en agua reconstituida) en *D. magna*, muestran que este último compuesto es 4.6 veces más tóxico que el primero (Cuadro 4).

El efecto letal producido por los plaguicidas organoclorados se observó modificado cuando éstos fueron adicionados al agua de la presa. La toxicidad del DDT disminuyó en

169, 70.28 y 11.45 % en los sitios 1, 2 y 3 respectivamente (Duncan $p < 0.05$) (Cuadro 4). Así mismo la letalidad de estas muestras de agua pero con el CLO, se observó un decremento de 11.36, 7.27 y 4.36 veces respectivamente con respecto al control (Duncan $p < 0.05$) (Cuadro 4).

En los organismos expuestos a las diferentes muestras de agua de los sitios seleccionados de la PIR, se incrementó la actividad de la AchA hasta un 13.43 % (sitio 1) (Duncan $p < 0.05$) (Fig. 1 A), sin embargo, en los cladóceros intoxicados únicamente con DDT o CLO, la actividad de esta enzima fue inhibida en 13.1 y 18.03% respectivamente (Duncan, $p < 0.05$). El efecto del agua de los diferentes sitios de la presa contaminada con los insecticidas sobre la AchA, no fue significativo con respecto al control (agua reconstituida con el plaguicida), pero al compararlo con el agua de la PIR sin insecticidas si tuvo significancia ($p < 0.05$) (Fig. 1 A).

La producción de PNF aumento en 11.78 y 8.5% (Duncan $p < 0.05$) (Fig. 1B), cuando el PNA fue incubado con el homogeneizado de cladóceros expuesto a los sitios 2 y 3, sin embargo, este metabolito disminuyó 14.28% (Duncan $p < 0.05$) (Fig. 1B) en los cladóceros expuestos al agua del sitio 1 de la presa (Fig. 1 B).

El homogeneizado de los organismos intoxicados únicamente con el DDT o el CLO incrementaron en un 57.14% y 12.76% la biotransformación del PNA (Duncan $p < 0.01$) (Fig. 1 B). Este mismo efecto se observó en los organismos expuestos al DDT disuelto en el agua de los sitios 1,2, y 3 de la PIR, el aumento fue de

CUADRO 4

Toxicidad aguda (CL_{50} a 24 hr) del DDT y clordano sobre *Daphnia magna*, expuesta al agua de la presa Ignacio Ramírez sembrada con los insecticidas

Sitio de muestreo	DDT (mg/l)	Clordano (mg/l)	Agua de la PIR sin xenobiótico (%)
Agua de cultivo	0.01013±0.009	0.0022±0.0005	0
1	0.02727±0.0015	0.02503±0.007	83.78±3.5
2	0.01725±0.0009	0.01621±0.006	74.13±4.1
3	0.01129±0.0008	0.0096±0.0008	80.53±2.8

Cada valor representa el promedio de 3 cuantificaciones ± desviación estandar.

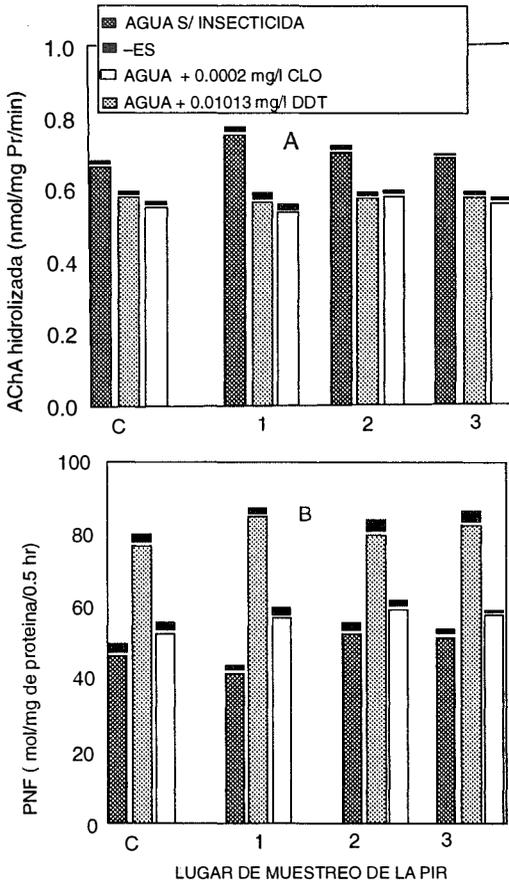


Fig. 1. Efecto tóxico del DDT y clordano sobre la actividad de la acetilcolinesterasa (A) y Odesmetilasa (B) de *Daphnia magna* expuesta al agua de la presa Ignacio Ramírez contaminada con los insecticidas.

5.19, 4, y 6.49% respectivamente (Duncan $p < 0.05$). Así mismo, en los cladóceros expuestos al CLO disuelto en el agua de cada uno de los sitios en estudio el incremento en la formación de PNF osciló entre 7.23 a 10.98% (Duncan $p < 0.05$) (Fig. 1 B).

DISCUSIÓN

De acuerdo con los registros de temperatura, la PIR es un cuerpo de agua sin estratificación térmica, no presenta una térmoclima, aún cuando se manifestó un pequeño gradiente entre superficie y fondo, lo cual demuestra un

intenso proceso de degradación de materia orgánica con una alta demanda bioquímica (Cuadro 1). El embalse posee aguas muy turbias, debido a la presencia de arcillas coloidales, que le confieren alta opacidad a la columna de agua. Los valores de carbonato sugieren que se trata de un sistema con aguas moderadamente duras (Reid y Wood 1976), probablemente por la disponibilidad de carbonatos de calcio, esto permite un buen amortiguamiento de los iones hidrógeno en aguas duras y moderadamente duras (Wetzel 1975). Debido a que este cuerpo de agua recibe desechos industriales de una papelería, la concentración de sulfatos en la columna de agua sobrepasan a los establecidos como permitidos para la vida acuática. Además es necesario considerar que la cuenca de captación del embalse se encuentra desforestada, lo cual contribuye a que la PIR reciba cantidades importantes de terrígenos en la temporada de lluvia por lo que se estima que la PIR posee una zona eufótica muy reducida (Cuadro 1). En los Cuadros 2 y 3, se muestra que en los tres lugares de la PIR (1, 2 y 3) existen asociaciones de especies tanto del zooplanton como del fitoplanton que permiten considerar que la PIR es un cuerpo de agua con alto grado de eutroficación.

La especie *D. magna*, es usada en los ensayos de letalidad para determinar las concentraciones permisibles de contaminantes y establecer el criterio de la calidad del efluente eliminado al sistema acuático (Buikema *et al.* 1982). En este estudio, aún cuando el valor de la CL_{50} fue mayor para los sitios 1 y 3, no se puede concluir que estos lugares son inocuos para los hidrobiontes, debido a que la CL_0 del sitio 1 es igual a 0.0984 ml [calculada de la ecuación $Y = 1.71881 + (1.70614 * X)$], es decir que se requerirá diluir el agua de cada sitio en una relación de 1:10,000 (v/v), para que ningún cladóceros que habitan estos lugares muera. Estos resultados sugieren la presencia de xenobióticos disueltos en la columna de agua de la PIR, probablemente detergentes y plaguicidas. En los sitios de estudio confluyen diversos ríos, El Alomoloya, El Guajolata y el San Pedro mismos que residen en la cercanía de la zona industrial de Toluca, lo cual puede

contribuir a contaminar este embalse; así mismo alrededor de la presa habitan aproximadamente 2 000 campesinos que emplean agroquímicos para el cultivo del maíz y haba, y liberan desechos urbanos (Anónimo 1997).

La toxicidad aguda del DDT y CLO, representada por la CL_{50} muestra que ambos plaguicidas son extremadamente tóxicos para los organismos acuáticos según la clasificación de Metevlev *et al.* (1983). Sin embargo este efecto se observó disminuido cuando éstos fueron adicionados al agua de la presa. Probablemente la presencia de otros xenobióticos disueltos en el agua de la PIR antagonizaron al efecto tóxico de los insecticidas, o también puede atribuirse a las propiedades fisicoquímicas del embalse, ya que éstas pueden influir en la biodisponibilidad de estas sustancias. Estudios realizados por Murphy (1970) demostraron que el contenido de sales puede cambiar la absorción del DDT, probablemente la cantidad de iones, sea el factor determinante, ya que el contenido de nitratos y turbiedad es grande en la estación 3 (Cuadro 1).

Otra explicación a este efecto, sería que la PIR contiene metil-paratión (De la Vega *et al.*, 1997), xenobiótico que puede reducir los efectos del CLO. Estudios realizados por Williams *et al.* (1967) demuestran que los compuestos organoclorados puede antagonizar los daños producidos por los plaguicidas carbámicos y organofosforados.

Son diferentes los biomarcadores del daño que se han empleado para evaluar la toxicidad del agua contaminada por xenobióticos (Martínez-Tabche *et al.* 1991, 1992, 1993, 1994a y b, 1995). En este estudio se evaluó la toxicidad del agua de los diferentes sitios de la PIR (1, 2 y 3) a través de la actividad de la AchA y el de la OD. Con respecto a la AchA, los resultados mostraron que en los organismos expuestos únicamente al agua de la presa se incrementó la actividad de esta enzima (Fig 1 A), probablemente por efecto del para-nitrofenol, (metabolito del metil-paratión), compuesto que se encontró en concentraciones de 1.8 mg/l en el embalse (De la Vega *et al.* 1997). Estudios realizados por Assem *et al.* (1989) demostraron

que las truchas expuestas a 33 µg/l de fenoles la actividad de la AchA se elevó en forma importante. Otra causa sería por la presencia de Bo, Cd y Cu en la PIR, ya que se informa que estos metales pueden aumentar la actividad de esta enzima en diferentes organismos expuestos a estos contaminantes (Hoffman *et al.* 1990, Gill *et al.* 1991, Kufcsak *et al.* 1994).

Estudios realizados por Olson y Christensen (1980) muestran que los compuestos organoclorados como el aldrín y dieldrín reducen hasta el 50 % la actividad AchA del músculo del pez *Pimephales promela*. En este estudio se observó que el DDT y CLO inhibieron la actividad de esta enzima. Este efecto probablemente se deba al enlace de los compuestos aromáticos a los ligandos cuaternarios del sitio activo de la AchA (Harel *et al.* 1993). Sin embargo, el efecto del agua de los diferentes sitios de la presa contaminada con los insecticidas, no fue significativo con respecto al control (agua reconstituida con el plaguicida), lo cual sugiere que las sustancias disueltas en el agua están antagonizando el efecto que producen los insecticidas sobre la enzima (Fig 1 A). Estos resultados muestran nuevamente como las propiedades fisicoquímicas del agua pueden modificar la respuesta tóxica de los xenobióticos.

La activación e inducción de las enzimas que biotransforman a los xenobióticos es un efecto inmediato que puede ser ocasionado por diferentes sustancias (Hodgson 1994). En este estudio se observó un incremento en la producción de PNF, cuando el PNA fue incubado con el homogeneizado del cladóceros expuesto a los sitios 2 y 3, probablemente porque en estos sitios están presentes sustancias como etilcianatos 2,2, biperidinas, hidrocarburos policíclicos que pueden estimular el metabolismo de xenobióticos (Hodgson 1994). En el homogeneizado de los cladóceros expuestos al agua del sitio 1 se observó una disminución de en la actividad de o-desmetilasa. El efecto de inhibición sobre la actividad metabólica de microsomas hepáticos subsecuentemente al exponer organismos a diferentes xenobióticos ha sido reportado, entre los que se pueden mencionar al cloruro de vinilo, isopropilacetamida. Estos

xenobióticos destruyen las enzimas con pérdida del citocromo P₄₅₀ (Hodgson 1994). Probablemente en este sitio de la PIR se encuentren estas sustancias disueltas en el agua.

A nivel ultraestructural el retículo endoplasmico tanto el rugoso como el liso prolifera al exponer a los organismos a bifenilos policlorados y DDT, efecto que está asociado con la inducción de la actividad enzimática que biotransforma los xenobióticos. En este estudio se demostró que concentraciones subletales de DDT incrementaron la biotransformación del PNA (Fig 1 B). En estudios realizados en larvas de *Chironomus riparius* expuestas al DDT se incrementó la actividad de la glutathion-transferasa y de la FMO (Hoffman and Fisher 1994).

Para los estudios con el CLO, el incremento en la actividad de la enzima fue menor que el observado con el DDT (Fig 1 B), probablemente porque ambos insecticidas actúan en forma diferente sobre la enzima. Hart *et al.* (1963) y Hart and Fouts (1965) reportan que el CLO induce no específicamente la actividad enzimática de la fracción microsomal del hígado de rata, posiblemente por el mismo mecanismo de acción que la induce el fenobarbital.

La biotransformación del PNA en el homogeneizado de los organismos expuestos al DDT o CLO disueltos en el agua de los sitios de muestreo de la PIR se incrementó con respecto a los controles de cada uno de los insecticidas. Estos resultados muestran que aún cuando el homogeneizado del cladóceros expuesto al agua de la presa en presencia de ambos insecticidas no aumentó en forma espectacular la producción del metabolito (PNF), sí evidenciaban el efecto de los xenobióticos disueltos en pequeñas cantidades en el agua del embalse sobre la actividad de la o-desmetilasa.

Estos resultados demuestran que la PIR, específicamente el sitio 1 (ya que la actividad de la AChA y OD se incrementó y disminuyó respectivamente en este lugar), es un cuerpo de agua impactado por la contaminación, por lo que es necesario establecer medidas de protección para la fauna y flora del mismo, así como para el usuario del recurso. En este trabajo también se demostró la interacción de las pro-

iedades fisicoquímicas del agua y de los xenobióticos disueltos en ella con el efecto tóxico producido por los insecticidas, lo cual sugiere la necesidad de reconsiderar la existencia de un efecto sinérgico o antagónico entre ellos para establecer una metodología apropiada para estimar el riesgo del empleo de estos plaguicidas.

RESUMEN

Actualmente en México son empleados los plaguicidas diclorodifeniltricloroetano (DDT) y clordano (CLO) para combatir la malaria y termitas. De 1990 a 1996 un total de 27 ton de DDT y 508 de CLO, en forma de productos técnicos, fueron importados. El objetivo de este estudio fue establecer una metodología para determinar el impacto ambiental que pueden producir estos compuestos sobre un embalse. El efecto tóxico del DDT y CLO fue evaluado sobre la actividad de la o-desmetilasa (OD) y del acetilcolinesterasa (AChA) del cladóceros *Daphnia magna* al exponerla a diferentes concentraciones de los insecticidas disueltos en el agua de tres sitios de la presa Ignacio Ramírez (PIR). El efecto del agua contaminada con los insecticidas sobre la actividad de la AChA y OD, así como la CL50, fueron utilizadas como indicadores de exposición para determinar los lugares más contaminados de la PIR. Las características fisicoquímicas del agua así como la biodiversidad de los sitios en estudio de la presa fueron considerados. Los resultados obtenidos demuestran que la estación cercana a la compuerta exhibe un potencial de toxicidad, ya que las actividades enzimáticas fueron modificadas. Se sugiere utilizar las actividades de AChA y OD del cladóceros para evaluar la toxicidad de un cuerpo de agua contaminado por insecticidas organoclorados.

REFERENCIAS

- Anónimo. 1997. Catalogo oficial de plaguicidas. Comisión Nacional Ecología México, D.F
- Assem, H., A. Khalifa & H.R. Bodawi. 1989. Brain of the teost *Clarias lazera* as indicator of water contamination by phenol or methanol. Bull. Nat. Inst. Oceanogr. Fish Egypt. 15:119-128.
- Atwood, H.L. 1982. Synapses and neurotransmitter, p. 45-59. In D.E., Bliss (ed.) The biology of crustacea, Neurobiology, Vol 3, Academic, Nueva York.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of dye-binding. Anal. Biochem. 72:248-254.

- Buikema, A.L. Jr., B.R. Niederlehner & J. Cairns Jr. 1982. Biological monitoring Part IV-toxicity testing. *Water Res.* 16:239-262.
- De la Vega S. M., L. Martínez-Tabche & C.G. Macías 1997. Bioaccumulation of methyl parathion and its toxicology in several species of freshwater community in Ignacio Ramírez dam in México. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 38:53-62.
- Ecobichon, D.J. 1996. Toxic effect of pesticides. p. 649. *In C.D. Klassen (ed.). Casarett & Doull's Toxicology. The basic science of poisons.* 5th ed. McGraw-Hill. Nueva York.
- Gill, T.S., H. Tewari, J. Pande. 1991. *In vivo* and *in vitro* effects of cadmium on selected enzymes in different organs of the fish *Barbus conchoniensis ham* (rosy barb). *Com. Biochem. Physiol.* 100:501-505.
- Gray, J.S. 1989. Do bioassays adequately predict ecological effects of pollutants? P. 397-406. *In*. M. Munawar., G. Dixon, C.I. Mayfield, T. (ed.). *Environmental Bioassay Techniques and their Application.* Kluwer, Londres.
- Harel, M., L. Ischalk, F. Ehret-Sabatier, C. Bouet, M. Goeldner, C. Hirth, H. Axelsen, I. Silman, & J.L. Sussman. 1993. Quaternary ligand to aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90:9031-9035.
- Hart, L.G. R.W. Shultice, & J.R. Fouts. 1963. Stimulatory effects of chlordane on hepatic microsomal drug metabolism in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 5:371-386.
- Hart, L.G. & J.R. Fouts 1965. Studies of the possible mechanisms by which chlordane stimulates hepatic microsomal drug metabolism in the rat. *Biochem. Pharmacol.* 14:263-272.
- Hestrin, S. 1949. Reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with hydroxylamine and its analytical application. *J. Biol. Chem.* 180:249-261.
- Hodgson, E. 1994. Chemical and environmental factors affecting metabolism of xenobiotics. P. 153-175. *In* Hodgson E. & E.P. Levi (eds) *Introduction to biochemical toxicology.* Appleton & Lange. East Norwalk, Connecticut.
- Hoffman, D.J., M.B. Mamardere, L.J. Lepcaptain & G.W. Pendleton. 1990. Effects of boron on growth and physiology in mallard duckling. *Environ. Toxicol. Chem.* 9:335-346.
- Hoffman, E.R., S.W. Fisher. 1994. Comparison of a field and laboratory-derived population of *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae): Biochemical and fitness evidence for population divergence. *J. Econ. Entomol.* 87:318-325.
- Kufcsak, O., T. Szegletes, G. Lang, K. Halasy, Y. Benedeczy & J. Nemcsok. 1994. Investigation of effects of pesticides on molecular forms of AChE in alimentary canals of carp. *Pestic. Biochem. Physiol.* 49:155-163.
- Martínez-Tabche, L., R. Alfaro, E. Sánchez-Hidalgo and C. I. Galar. 1991. Toxic effect of parathion on *Moina macrocopa* metabolisms. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 47: 51-56.
- Martínez-Tabche L., E. B. Martínez and C. I. Galar. 1992. Parathion and Salinity effects on gills and mesonephros carbonic anhydrase activity of the fish *Oreochromis hornorum*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 49:929-934.
- Martínez-Tabche, L., I. Galar-Castelan, B. Ramírez-Mora y A. Gonzalez Chavarria. 1993. Efecto tóxico del lindano sobre el metabolismo de la *Moina macrocopa*. *Rev. Toxicol.* 10:47-49.
- Martínez-Tabche, L., I. Galar, M.B. Ramírez, R.A. Morales, F. C. German. 1994a. Parathion effect on acetylcholinesterase from fish through an artificial trophic chain: *Ankistrodesmus falcatus-Moina macrocopa-Oreochromis hornorum*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 52:360-366.
- Martínez-Tabche, L., N.E. Morales, M. Ramírez, C.I. Galar & G.H. Cardona. 1994b. Effect of lead on the reaction of o-demethylase in p-nitro anisole in the cladoceran *Moina macrocopa*. *J. Aquat. Ecosys. Health.* 3:255-258.
- Martínez-Tabche, L. C. Germán-Faz, B. Ramírez-Mora, & I. Galar. 1995. Efecto tóxico del Carbaryl en *Moina macrocopa* y *Oncorhynchus mykiss*. *Rev. Toxicol.* 12:119-123.
- Martínez-Tabche L., M. Ramírez, F. German, C. Galar, M. Madrigal, Ulloa G.V., & F.Orozco. 1997. Toxic effect of sodium dodecylbencensulfonate, lead, petroleum, and their mixtures on the activity of acetylcholinesterase of *Moina macrocopa* in vitro. *Environ. Toxicol. Water. Qual.* 12:211-215.
- McMahon, R.E., H. W. Culp, J. Millis & F.J. Marshall. 1963. Microsomal p-nitroanisole o-demethylase. *J. Med. Chem.* 6:343-349.
- Metelev, V.V., A.L. Kanaev, N.G. Dzasokhova. 1983. *Water toxicology.* p 63. Amerind Publishing. Nueva Delhi.
- Murphy, P.G. 1970. Effects of salinity on uptake of DDT, DDE and DDD by fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 5:404-407.

- Olson, D.L., & G.M. Christensen. 1980. Effects of water pollutants and other chemicals on fish acetylcholinesterase. *Environ. Res.* 21:327-335.
- Reid, G.K. & R.D. Wood. 1976. Ecology of inland waters and estuaries. p. 485. D. Van Nostrand, Nueva York.
- Repetto, M., Martínez, D., & P. Sanz. 1995. Actualización de la toxicología de los plaguicidas. p. 557-601. *In* M. Repetto. (ed.). Toxicología avanzada. Díaz de Santos. Madrid.
- Wetzel, R. 1975. *Limnology*. p. 741. Daunders College, Filadelfia, Pensilvania.
- Williams, C.H., J.L. Carsterline & K.H. Jacobson. 1967. Studies of toxicity and enzyme activity from interaction between chlorinated hydrocarbon and carbamate insecticide. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 11:302-307.