

257565



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**UNIDAD ACADEMICA DE LOS CICLOS PROFESIONALES Y DE
POSGRADO DEL CCH
INSTITUTO DE ECOLOGIA**

**EFFECTO ECOTOXICOLOGICO DEL INSECTICIDA
METIL PARATION SOBRE LOS ORGANISMOS
BENTICOS DE LA PRESA IGNACIO RAMIREZ**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN ECOLOGIA

P R E S E N T A :

MARINA YOLANDA DE LA VEGA SALAZAR

MEXICO, D. F.

1997



**BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA**

257565



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

HONORABLE JURADO

Presidente.

Dr. Rodolfo Dirzo Minjarez.

Secretario.

Dra. Laura Martínez Tabche.

Vocal

M. en C. Liliana Favari Perozzi.

Suplente

Dr. Francisco Espinosa García.

Suplente

Dr. Constantino Macías García.

Dedicada a la memoria de mi amado padre
M. V. Z. AGEO DE LA VEGA MARTÍNEZ
por el gran ejemplo de superación y
tenacidad que siempre nos dio.

A mi madre Sra. Genny Salazar S.
A mis hermanos: Ageo, Claudia
Isabel, Leticia, Roberto y Sandra.
A mis sobrinas: Paulina, Leslie,
Genny y Tamara.

Por su invaluable apoyo y cariño.

AGRADECIMIENTOS

Sin el apoyo extraordinario de muchas personas no habría sido posible elaborar este trabajo, por ello deseo dar las gracias a todos los que contribuyeron a este esfuerzo.

Agradezco a la Dra. Laura Martínez Tabche por haber hecho posible la realización de este trabajo, al Dr. Constantino Macías García por su acertada dirección en el desarrollo del mismo así como al Dr. Jorge Carranza Fraser y M. en C. Francisco Rojo por haber sido parte del Comité Tutorial. A la M. en C. Liliana Favari Perozzi por su colaboración y las facilidades prestadas para la realización de los ensayos de enzimas, al Dr. Edmundo Díaz Pardo por facilitar el equipo de muestreo, y al Dr. Francisco Espinosa García por sus comentarios.

Especialmente deseo agradecer al Dr. Rodolfo Dirzo Minjarez por su generoso apoyo y los acertados comentarios para mejorar este trabajo, así como al Lic. Ageo de la Vega Salazar por su valiosa ayuda con el equipo de computación, y a todas las persona que me alentaron para culminar esta meta.

INDICE

Abreviaturas	
Resumen	1

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

Introducción	3
Contaminación de cuerpos de agua	4
Plaguicidas	6
Descripción del área de estudio	8
Hipótesis	10
Bibliografía	12

CAPÍTULO II FACTORES FISICOQUÍMICOS QUE DETERMINAN LA ACUMULACION DEL METIL PARATIÓN EN EL AGUA Y SEDIMENTO DE LA PRESA IGNACIO RAMÍREZ

Introducción al capítulo	15
Estratificación térmica	16
Diagenesis química	19
Eutroficación	20
Objetivos	21
Resumen del artículo	23
Introducción del artículo	24
Descripción del área de estudio	26
Metodo	27
Resultados	31
Tablas	39
Figuras	43
Discusión	34
Conclusión	38
Referencias	49

CAPÍTULO III
**EFFECTO ECOTOXICOLÓGICO DE LA EXPOSICIÓN PROLONGADA AL METIL
PARATIÓN SOBRE LOS ORGANISMOS ACUÁTICOS DE LA PRESA IGNACIO
RAMÍREZ**

Introducción al capítulo	54
Organismos Bénticos	54
Ecotoxicología	56
Efecto tóxico del Metil Paratión	58
Objetivo	60
Resumen del artículo	63
Introducción del artículo	64
Descripción del área de estudio	66
Metodo	67
Resultados	71
Tablas	85
Figuras	89
Discusión	74
Conclusión	84
Referencias	96
Discusión General	101

ABREVIATURAS

Acetilcolina	ACh
Acetilcolinesterasa	AChE
Fosforotionatos	PT
Gamma Glutamil Transpeptidasa	GGT
Glutación s-Transferasa	GST
Metil Paratión	MP
Metil Paraoxon	MPoxon
4-Nitrofenol	4-NF (4-NP)
Organofosforados	OP
Presa Ignacio Ramírez	PIR (IRD)
Sólidos Suspendidos Totales	SST

RESUMEN.

Los ecosistemas acuáticos han sido tradicionalmente usados como depósito de desechos que generan problemas de contaminación. La contaminación con plaguicidas, incluyendo la presencia de residuos químicos en organismos acuáticos, representa un potencial riesgo ecológico. El Metil Paratión (MP) es un insecticida y acaricida. Pertenece al grupo de los insecticidas Organofosforados (OP). El MP es un compuesto muy inestable y la molécula se oxida fácilmente, obteniéndose el 4-nitrofenol (4-NF) por hidrólisis o fotólisis química a temperaturas ambientales altas o a la exposición química de luz visible o UV, en condiciones neutras o alcalinas. En agua, la hidrólisis ácida es lenta y la absorción en sedimentos puede evitar la hidrólisis. El MP es rápidamente metabolizado por plantas y animales por lo que es considerado poco persistente, y no se espera que persista o se bioconcentre.

El sistema Lerma Chapala, constituye el recurso hidrológico más importante de la Mesa central en México; esta zona presenta endemismos de fauna íctica a nivel de familia género y especie. La Presa Ignacio Ramírez (PIR) pertenece a la cuenca del río Lerma y alberga al menos tres especies nativas, el crustáceo Cambarellus montezumae, y los peces Girardinichthys multiradiatus y Chirostoma riojai.

En este estudio se midió la acumulación del MP en agua y sedimentos de la PIR para determinar si el efecto de factores fisicoquímicos tales como pH ácido o la elevada turbiedad pueden evitar la degradación o favorecer la acumulación del MP en los diferentes estratos, y la bioacumulación del MP en los principales organismos béticos que habitan la PIR. Para conocer el efecto tóxico que produce el insecticida en los organismos se evaluó la actividad de las enzimas Acetilcolinesterasa (AChE) y Gamma-glutamyl transpeptidasa (GGT). Además se determinó el efecto de los factores fisicoquímicos y ambientales que ocurren en temporada de secas y en temporada de lluvias en la PIR sobre la bioconcentración de MP y el efecto tóxico que produce en los organismos presentes.

Se realizaron 2 muestreos, el primero en mayo de 1996 (en época de estiaje) y el segundo en septiembre de 1996 (en época de lluvias). En

ambos muestreos se colectaron muestras de agua y de sedimento en 10 sitios en la presa y se colectaron ejemplares de seis especies de animales y tres especies de plantas, en un solo sitio de muestreo.

La PIR tiene las características de un sistema léntico, con la presencia de estratificación térmica en verano, eutroficación, disminución de oxígeno disuelto en el agua del fondo y la presencia de zona afótica en los sitios más profundos. Las principales diferencias entre las épocas de muestreo fueron el aumento de turbidez y concentración de sales, así como la disminución de oxígeno disuelto en el fondo en la época de lluvias.

El MP y el 4-NF se acumulan en agua, sedimento y en los organismos acuáticos. La concentración de MP y 4-NF muestran una correlación negativa con el pH del sedimento y una correlación positiva con la profundidad de la zona afótica.

Los sedimentos de la PIR muestra un efecto subletal y genotóxico en bioindicadores, y la concentración de MP presenta una correlación negativa con la diversidad y abundancia de comunidades macrobénticas.

El MP se bioconcentra en el tejido de los organismos, dependiendo del tiempo de exposición al insecticida, y la fisiología de cada uno. Además se encontró que el MP se bioacumula a concentraciones mayores en el tejido de flores, embriones y huevos lo que puede significar una amenaza al éxito reproductivo de las especies estudiadas. La actividad enzimática de los organismos recolectados en la PIR en las dos estaciones de muestreo se vió incrementada de forma significativa con respecto a los organismos control. Se sugiere que el metabolito 4-NF está participando en el efecto tóxico al causar el incremento en la actividad de la AChE, mientras que el incremento en la actividad de la GGT puede indicar daño orgánico, también puede ser un mecanismo de detoxificación a la exposición subletal del MP, por lo que se concluye que el MP está produciendo efecto tóxico en los organismos.

CAPÍTULO UNO INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas dulceacuícolas además de ser el hábitat para muchas especies, tienen numerosas funciones ambientales; reciclan nutrientes, purifican agua, atenúan las inundaciones, recargan el agua subterránea, y sirven de recreación para el hombre. El que los lagos ocupen una pequeña fracción de la tierra, no impide que sean de gran importancia como sistemas ambientales y como recurso para el uso humano. Los lagos y presas son usados como suministro de agua para beber, también han sido usados para muchos propósitos comerciales, incluyendo pesca, actividades piscícolas, transporte e irrigación.

Desafortunadamente son también los ecosistemas más severamente degradados por el aumento en la liberación de sedimentos provenientes de construcciones urbanas, agricultura, silvicultura, y también reciben descargas de aguas residuales favoreciendo la contaminación de aguas superficiales con fertilizantes, detergentes, insecticidas, desperdicios industriales y desechos domésticos (Johnson *et al.* 1995; Lydear y Mayden 1995).

Este incremento en la liberación de sedimentos, ha dado como resultado la excesiva eutroficación por entrada de nutrientes y materia orgánica, mayor turbiedad y sedimentación en ríos, lagos y presas, con la pérdida de la capacidad de almacenamiento de agua y el deterioro (cantidad y calidad) del hábitat para peces y vida silvestre (Committee on Restoration of Aquatic Ecosystems 1992), que está causando la extinción de especies. En México, donde la ictiofauna continental es de alrededor de 500 especies, con altos niveles de endemismos, actualmente más de 149 especies se encuentran amenazadas o en peligro y al menos 21 especies están extintas (de la Vega 1996).

CONTAMINACIÓN DE CUERPOS DE AGUA

El hombre genera más de un millón de clases diferentes de productos, como desperdicio y como productos útiles que pueden terminar en desperdicios. El uso extendido de productos químicos orgánicos, muchos de los cuales tienen efectos tóxicos, ha permitido que sean liberados al ambiente, produciendo daños en las comunidades naturales. La destrucción gradual de los sistemas naturales en parte, es producto de la contaminación ambiental (SCEP 1976). El impacto ecológico potencial es importante por la pérdida de las funciones de los ecosistemas acuáticos, como son:

(1) la función hidrológica, (2) mantener la calidad del agua y (3) mantener la vida (Lowrence y Vellidis 1995).

Un contaminante es definido, como una sustancia que ocurre en el ambiente, al menos en parte como resultado de la actividad humana, y que tiene un efecto adverso en organismos vivos (Moriarty 1983). La contaminación es la presencia de cantidades significativas de sustancias no naturales en el medio ambiente o concentraciones anormalmente altas de algún constituyente natural, que a esos niveles causa efectos indeseables (Mason 1991).

Muchos contaminantes presentes en las cuencas de los lagos llegan por los ríos, canales y descargas de aguas residuales. La materia orgánica puede entrar al agua como ramas, hojarasca, flores, polen y esporas, heces y esqueletos de animales y como humus del suelo finamente dividido. Es también conocido que los contaminantes atmosféricos descargados en otras áreas entran a los lagos a través de la precipitación directa. La mayor diferencia entre ecosistemas lacustres y ecosistemas lóticos (ríos) es la relación en el volumen del flujo que entra y que sale, y que es retenido en el lago. En ecosistemas lacustres, los contaminantes que entran permanecen en el sistema por periodos relativamente largos y están sujetos a transformaciones físicas, químicas y biológicas.

Hay varios factores que controlan la permanencia de los contaminantes que entran a los lagos: tamaño, forma, profundidad, la sedimentación, la dispersión, tiempos de residencia, condiciones de temperatura (grados de estratificación), condiciones hidrometeorológicas, el régimen hidrológico e interacciones bióticas. Algunos o todos estos factores pueden influenciar la distribución de contaminantes en lagos:

La interacción entre el fondo y el agua superficial es muy importante para determinar la calidad del agua, el proceso de erosión, deposición y resuspensión del sedimento, dependen de la variación en el estado de turbulencia y son muy importantes en la dispersión y mezcla de un contaminante en el agua que las recibe (Welch *et al.* 1992).

Hay varias corrientes en los lagos tales como el flujo horizontal por la acción del viento. Estas corrientes transportan los contaminantes desde puntos donde los contaminantes son descargados a el otro lado del lago, por ello generalmente no se observa una distribución homogénea vertical ni horizontal de los contaminantes en los lagos.

Los procesos de sedimentación afectan directamente la cantidad total de contaminantes en los lagos. Los contaminantes descargados en los lagos en forma suspendida y disuelta que han sido transformados en forma de partículas, precipitan al fondo con el tiempo. Estas sustancias no contribuyen en la contaminación del agua, y el proceso de sedimentación es importante por tener el principal papel en la autpurificación.

La liberación de los contaminantes del fondo del sedimento al agua, es el fenómeno adverso de la sedimentación. La cantidad del contaminante aumenta en el agua por la liberación. La resuspensión de partículas del sedimento al agua es causada por la actividad del bentos y por las corrientes de agua (Okada 1992; Moss 1992).

La entrada de contaminantes a los cuerpos de agua pueden afectar a los sistemas de forma directa produciendo efectos tóxico o de forma indirecta modificando las características fisicoquímicas.

La contaminación orgánica ocurre cuando grandes cantidades de compuestos orgánicos que pueden actuar como sustrato para microorganismos son liberados en el agua. Durante el proceso de descomposición el oxígeno disuelto en el agua puede ser usado a una

tasa mayor que la que puede ser reemplazado, causando una deficiencia de oxígeno, con severas consecuencias para la biota.

Los afluentes con alto contenido de materia orgánica, frecuentemente también tienen gran cantidad de sólidos suspendidos los cuales reducen la cantidad de luz disponible para los organismos fotosintéticos, y alteran las características del agua produciendo un hábitat inadecuado para muchos organismos (Mason 1991).

En casos extremos, la sedimentación excesiva puede significar la pérdida de la capacidad de almacenamiento, disminuyendo la utilidad de los lagos para regular la disponibilidad de agua, su valor recreacional y cantidad y calidad de hábitat para peces y vida silvestre.

El problema más extendido es la contaminación de lagos y ríos por descargas provenientes de las actividades agrícolas son los nutrientes y plaguicidas asociados que fueron aplicados para fertilización y control de insectos, los cuales, frecuentemente los lagos no pueden eliminar por sí mismo (Committee on Restoration of Aquatic Ecosystems 1992).

Las prácticas de cultivo resultan en un incremento en la erosión y un aumento en los Sólidos Suspendidos Totales (TSS) en las aguas que los reciben. Flujos de retorno de riego (o inundaciones) pueden acarrear altas concentraciones de TSS, fertilizantes y plaguicidas. La aplicación aérea no controlada de plaguicidas puede ocasionar la contaminación del aire y alcanzan los ecosistemas acuáticos al ser diseminados por el viento. A pesar de que en América Latina existen numerosos ejemplos de contaminación de agua, suelo y aire con estas sustancias, con los datos disponibles no es posible evaluar totalmente su magnitud ni el efecto que producen a los ecosistemas que los reciben (OMS 1993).

PLAGUICIDAS

Los plaguicidas son sustancias usadas para proteger a los humanos contra insectos vectores de enfermedades, a los cultivos de la competencia con hierbas indeseables, y a los cultivos, plantas y ganado de enfermedades y depredadores. A pesar de los

considerables beneficios de los plaguicidas, su uso extenso e inadecuado ha causado importante deterioro ambiental.

Los plaguicidas comprenden varios grupos de químicos que pueden ser clasificados de acuerdo a : (1) el organismo o plaga contra la que actúa, (2) El sector en el que se usa, tal como, agricultura, hogar o bosque y (3) su estructura química (Freedman 1989).

El uso de plaguicidas en América Latina casi se duplicó, y en algunos casos se triplicó durante el período de 1980 a 1990. Hay una tendencia general hacia la disminución del uso de plaguicidas órganoclorados muy persistentes, y a la utilización de productos menos persistentes, pero más tóxicos, como los carbamatos y compuestos órganofosforados. De acuerdo con la información que existe, los principales contaminasteis de los alimentos en México son los plaguicidas órganoclorados y sus productos de biotransformación; en segundo lugar están los residuos de plaguicidas órganofosforados. La presencia de estos se debe probablemente a deficiencias en las prácticas agrícolas (OMS 1993).

El metil paratión (MP) es un insecticida y acaricida que pertenece al grupo de los insecticidas órganofosforados. Estos son inestables y relativamente poco persistentes; en condiciones alcalinas se hidrolizan a productos inertes. Estos productos son sumamente tóxicos al hombre y a otros mamíferos por inhalación e ingestión, debido a su gran penetración percutánea, por interferir con la actividad de la acetil colinesterasa (AChE) en el sistema nervioso (Meister 1992; OHS 1991).

El MP tiene una vida media corta cuando es aplicado a los cultivos (1 Hr.), además de que se ha reportado que es rápidamente metabolizado por plantas y animales, no se espera que persista o sea bioconcentrado, por lo que se considera que el riesgo para la salud por el uso del MP es bajo (Hayes y Law 1990; Meister 1992).

La producción anual de MP en México es de 4000 toneladas anuales, lo que representa el 25% de la producción total de insecticidas y acaricidas, su aplicación se reporta en los 32 estados de la República y no se recomienda ninguna restricción en su uso (CNE 1988).

El 4-nitrofenol (4-NF), producto de la descomposición del MP no es absorbido por partículas del suelo y puede contaminar el agua. La EPA (US Environmental Protection Agency) ha establecido niveles seguros para la salud humana de 60 $\mu\text{g}/\text{L}$ de 4-NF, en agua para beber; concentraciones más altas o a los mismos niveles por tiempo prolongado, causa efectos adversos a la salud, incluyendo estrés respiratorio, daño hepático e inflamación en el estómago y ha mostrado ser tóxico para aves y peces (US EPA 1990).

DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.

El sistema Lerma Chapala, constituye el recurso hidrológico más importante de la Mesa central.

Tradicionalmente en esta región se ha llevado a cabo una gran explotación de recursos naturales, y se han favorecido grandes asentamientos humanos, como es el caso de las ciudades de Toluca, Querétaro, Salamanca, Guanajuato y Morelia, entre otras, se trata de una de las regiones más densamente pobladas del país. Esto ha dado lugar al desarrollo de zonas agrícolas, pecuarias, corredores industriales de gran importancia económica que en conjunto han contribuido a que el río Lerma figure como uno de los más contaminados del país (Díaz Prado *et al.* 1993).

El presente estudio se realizó en la Presa Ignacio Ramírez (PIR), construida sobre el río La Gavia, unos 22 Km al Noroeste de la ciudad de Toluca y 5 Km aguas arriba de la confluencia de esta corriente con el río Lerma en el municipio de Almoloya de Juárez del Estado de México. La presa recibe la afluencia de los Ríos El Salitre, El muerto, Las Cebollas, San Pedro, el Guajolota, El Almoloya principalmente.

Área de la Cuenca: 505 Km².

Construcción: Las obra de construcción de ésta presa se iniciaron en 1964 y se comenzó a almacenar el vaso, con fecha 7 de Junio de 1965.

Vaso: La capacidad total del vaso hasta la elevación 2 548.40 m, (correspondiente a la cresta del vertedor), es de 20.5 millones de m³, disponiendo de un almacenamiento muerto de 1.7 millones de m³ hasta la elevación de 2544.00 m, que corresponde al umbral de la toma. (toda elevación es a partir del nivel del mar) (BH-50 1970).

La capacidad total de almacenamiento de la PIR es de 20.50 millones de m³ de la cual se obtiene un volumen total utilizado de 93.30 millones de m³ al año usados exclusivamente para riego (INEGI 1994).

Municipio de Almoloya de Juárez Estado de México

La población económicamente activa de los de 34 ejidos y comunidades agrarias al rededor de la PIR ocupan un total de 21 974.380 ha., y realizan actividades de agricultura, ganadería caza y pesca. Los principales cultivos son maíz, avena forrajera, papa, chicharro y haba verde. 31 ejidos y comunidades agrarias practican la cría y explotación de animales y algunos ejidos se dedican a la explotación forestal principalmente de pino y oyamel (INEGI 1988). El MP es el insecticida de mayor uso en la región (CNE 1988).

El clima es templado, subhúmedo con régimen de lluvias en verano (julio, agosto y septiembre), con una pluviosidad total de 822.5 mm. Los meses más calurosos son mayo y junio; la temperatura media es de 12.4°C. Otro aspecto relevante es la erosión del suelo en la zona por erosión hídrica, consecuencia de la deforestación y erosión media, provocada por las ineficientes prácticas agropecuarias en suelos con pendientes pronunciadas, y por un deficiente manejo de los recursos hidrológicos (INEGI 1994).

HIPOTESIS

Dado que en las actividades agrícolas que se realizan al rededor de la presa Ignacio Ramírez, se utiliza MP, entonces puede estar presente en el cuerpo de agua.

Si la presa Ignacio Ramírez presenta estratificación térmica en verano y condiciones de anoxia en el hipolimnio, que eviten que el MP sea degradado por hidrólisis ó fotólisis, entonces se podrá producir la su acumulación en el sedimento de la presa y podrá ser tóxico para los organismos tóxicos que la habitan.

Considerando los antecedentes descritos, surgió el siguiente cuestionamiento:

- La presencia de la cortina en la PIR produce acumulación de agua y un aumento en la acumulación de sedimentos. Por tanto,

¿Cuáles son las características físicas y químicas que prevalecen en la PIR?

¿La acumulación de agua da a la presa las características de un sistema léntico?

¿Se presenta estratificación térmica y condiciones de anoxia durante la etapa de estratificación en verano, que pueden evitar la degradación de los contaminantes orgánicos y favorecer la acumulación de MP en el sedimento de la presa?

¿La excesiva sedimentación ha dado a la PIR las características de un sistema eutrófico?

¿Se ha producido Acumulación del MP en los constituyentes de la presa?

En caso de que el MP se acumule en sedimentos. ¿Puede ser reciclado y aumentar su toxicidad por aumentar el tiempo de exposición del contaminante?

¿Es el MP tóxico para las especies que habitan la presa?

¿Pueden los efectos de la Eutroficación alterar la toxicidad del MP?

Para poner a prueba las hipótesis propuestas, se realizó el estudio en la Presa Ignacio Ramírez colectando en dos épocas distintas, en Mayo de 1996, (durante la época de secas) y en Septiembre de 1996 (durante la época de lluvias), y se consideraron dos aspectos:

1. Factores fisicoquímicos del agua y sedimento que pueden determinar la acumulación del insecticida MP en los componentes abióticos de la presa.
2. El estudio ecotoxicológico en los organismos bénticos que habitan la PIR para conocer el efecto tóxico que produce el insecticida MP en estos organismos.

En los siguientes capítulos se aborda la explicación de estos temas con una introducción general y se incluye en cada uno un artículo sometido para publicación, por lo que puede encontrarse cierta redundancia en algunos puntos.

BIBLIOGRAFÍA

Boletín Hidrológico No 50 (1970) Cuenca del Río Lerma Hasta la presa Solís del Lago de Patzcuaro, del Río Grande de Morelia Hasta el Lago de Cuitzeo y de la Laguna de Yuriria. Tomo I y IV. Secretaría de Recursos Hidráulicos. Subsecretaría de Planeación. División General de Estudios. Dirección de Hidrología.

Comisión Nacional de Ecología (CNE) (1988) Información General de Ecología. Comité Nacional Calificador de Insumos. Dirección General de Protección Agropecuaria y Forestal SARH.

Committee on Restoration of Aquatic Ecosystems: Science, Technology and Public Policy (1992) Restoration of Aquatic Ecosystems Science Technology and Public Policy. Water Science and Tech Board. Commission on Geosciences, Environmental and Resources National Research Council. National Academic press.

De la Vega Salazar M. (1996) Causas de la degradación ambiental y pérdida de la biodiversidad en ecosistemas dulceacuícolas. Ciencias (en prensa).

Díaz Prado E., Godínez R. M., López L. E., Soto G. E. (1993) Ecología de los Peces de La Cuanca del Río Lerma, México. An. Esc. Nal. Cienc. Biol. 38: 103-127.

Freedman B. (1989) Environmental Ecology. The Impact of Pollution and Other Stresses on Ecosystem Structure and Function. Academic Press Inc. 424 P.

Hayes W. J., Laws E. R. (ed.) (1990) Handbook of Pesticide Toxicology, Vol 3, Classes of Pesticides. Academic Press, Inc., NY.

INEGI (1994) Anuario estadístico del Estado de México. Instituto nacional de Estadística e Informatica.

INEGI (1988) Censos Industriales del estado de México. Instituto nacional de Estadística e Informatica.

Johnson B. L., Richardson W. B., Naimo T. J., (1995) Past Present, and Future Concepts in Large River Ecology. *BioScience* **45**, 134-141.

Lydeard C. y Mayden R. L. (1995) A Diverse and Endangered Aquatic Ecosystem of The Southest United States. *Conservation Biology* **9**, 800-805.

Lowrence R. y Vellidis G. (1995) A Conceptual Model for Assessing Ecological Risk to Water Quality Function of Bottomland Hardwood Forests. *Environmental Management*. **19**, 239-258.

Mason C.F. (1991) *Biology of Freshwater Pollution*. Longman Scientific and Technical 351 P.

Meister R. T. (ed.) (1992) *Farm Chemicals Hamdbook '92*. Meister Publishind Company, Willoughby, OH.

Moriarty F. (1983) *Ecotoxicology The Study of Pollutants in Ecosystems*. Academic Press, Inc. 380 p.

Moss B. (1992) *Ecology of Fresh Waters. Man and Medium*. Blackwell Scientific Publications 417 P.

Occupational Health Services, Inc. (1991). MSDS for Methyl Parathion. OHS Inc., Secaucus, NJ.

Okada Mitsumasa (1992) *Environmental Engineering Course Water Pollution Control*. Japan International Cooperation Agency.

OMS (1993) Plaguicidas y salud en las Américas. Organización Panamericana de la Salud, OMS División de salud y Ambiente. Washington D. C. Serie ambiental No 12.

SCEP Informe (1976) La Influencia del Hombre en el Medio Global . Fondo de Cultura Económica. 317 P.

US Environmental protection Agency (1990) National Pesticide Survey: 4- Nitrophenol. Office of Water, Office of Pesticides and Toxic Substances, US EPA, Washington, DC.

Welch E.B., Lindell T., (1992) Ecological Effects of Wastewater. Applied Limnology and Pollutant effects. Chapman and Hall. Cambridge 425 P.

CAPÍTULO II

FACTORES FISICOQUÍMICOS QUE DETERMINAN LA ACUMULACIÓN DEL METÍL PARATIÓN EN AGUA Y SEDIMENTO DE LA PRESA IGNACIO RAMÍREZ

INTRODUCCIÓN

Dada la complejidad de los ecosistemas dulceacuicolas, es difícil predecir el efecto de los contaminantes químicos, debido a que el riesgo de los contaminantes depende no solo de su toxicidad, también de la cantidad que es liberada al ambiente, su tendencia a dispersarse, su persistencia y la disponibilidad para los organismos en las comunidades y en los sistemas, lo que hace necesario el monitoreo de los efectos biológicos que incluyan: factores de concentración y persistencia de los contaminantes en el medio ambiente y efectos biológicos (Kramer *et al.* 1994; Moriarty 1983).

El MP es un compuesto que se considera muy inestable ya que la molécula se oxida fácilmente obteniéndose el 4-nitrofenol. Esto resulta de la hidrólisis metabólica o por fotólisis química a temperaturas ambientales altas o por la exposición química a luz visible o UV. Los compuestos organofosforados se hidrolizan bajo condiciones alcalinas neutras y ácidas, obteniéndose productos que no causan efecto en la inhibición de la AChE. Sin embargo, en condiciones ambientales la hidrólisis ácida es lenta y la absorción en sedimentos puede evitar la hidrólisis (Draber *et al.* 1992; Schmidt 1994; OHSI 1991). En estudios *in vitro* se ha demostrado que este insecticida se degrada rápidamente en agua de mar, en agua de ríos y lagos. La degradación es más rápida en la presencia de sedimentos (Howard 1989). Muchos tóxicos orgánicos pueden ser degradados por los procesos de fotólisis, mientras que la asociación de muchos contaminantes en el sedimento y a la materia

orgánica puede inhibir la fotodegradación (Munawar *et al.* 1984), lo que permite suponer que las características de los sistemas lénticos podrían evitar la degradación del MP.

El efecto de los contaminantes en los ambientes acuáticos está determinado por las características físicas del agua que los recibe. Un tipo de ambiente efectivo en la dispersión del contaminante, puede presentar bajas concentraciones, mientras que otro ambiente con poca capacidad de dispersión puede producir altas concentraciones de contaminante. Los cuerpos de agua estáticos son conocidos como sistemas lénticos, representados principalmente por los lagos (naturales o artificiales). En ellos el movimiento de las aguas en la cuenca está determinado por la morfometría (profundidad, forma, etc.), entrada de calor solar y viento (Welch 1992).

Para poder entender el proceso que siguen los contaminantes dentro de un cuerpo de agua, es necesario entender la naturaleza de los sistemas acuáticos y las características fiscoquímicas que puedan determinar la permanencia del xenobiótico, en este caso MP dentro de un cuerpo de agua.

Estratificación térmica

La capacidad calorífica del agua es mayor que la del aire, por lo que los rangos de temperatura diurnos y anuales (máximas y mínimas) son menores en agua que en aire. Por ello los ambientes acuáticos se reconocen por ser más estables en temperatura. Las interacciones físicas, químicas y biológicas están dadas por el ciclo anual de temperatura.

La mayor fuente de calor a los lagos es la radiación solar. Luz de una longitud de onda de 750 nm, por ejemplo, el 90% es absorbida en 1 m y sólo el 1% es transmitida a 2 m de profundidad en agua pura. La absorción de la luz se incrementa marcadamente por la materia disuelta y suspendida en el agua. Gran parte de la energía solar es de

longitud de onda larga en la porción del infrarrojo, y solo el agua superficial de los lagos absorbe la radiación.

La alta capacidad calorífica del agua permite la acumulación de la energía luminosa como calor. En las zonas templadas, la temperatura del agua aumenta más de 4°C a través de la columna de agua de los lagos en primavera y verano. Esto puede hacer más difícil la mezcla vertical del agua del lago y formar gradientes a lo largo de la columna de agua. Por la acción del viento en la superficie de los lagos y la fluctuación diurna de la temperatura atmosférica, el agua superficial se mezcla fuertemente, y la temperatura es relativamente uniforme debajo a una profundidad específica del agua. Además, se observa una capa media llamada Termoclina o Metalimnium caracterizada por una rápida caída de temperatura. Epilimnium e Hipolimnium son las capas superiores e inferiores a la termoclina respectivamente. El hipolimnium es caracterizado por bajas temperaturas y baja penetración de luz (Fig. 2.1).

Una parte de la luz solar es reflejada en la superficie del agua, mientras que otra parte penetra al agua y su intensidad decrece al aumentar la profundidad del agua. La producción fotosintética decrece a lo largo de la columna de agua por el decremento en la intensidad de la luz. Para que se produzca crecimiento del fitoplancton se requiere que la fotosíntesis (p : solo de día) sea mayor que la respiración diaria (r : 24 hrs). La zona donde la relación $[(p - r) > 0]$, es llamada zona eufótica o productiva y, la zona más baja donde la relación es menor que cero $[(p - r) < 0]$ es llamada la zona afótica o zona de descomposición (Fig. 2.1).

El decremento en la radiación solar y la temperatura atmosférica en otoño, causan una pérdida de calor de la superficie del agua. La caída de temperatura en la superficie del agua resulta en el incremento de la gravedad específica. Esta inversión incrementa la mezcla vertical del agua entre las superficies más pesadas de agua y el agua más ligera. La caída gradual de la temperatura atmosférica incrementa la profundidad de la zona de mezcla. Finalmente se mezclan todas las

profundidades del lago. Este es el periodo llamado “periodo de circulación”.

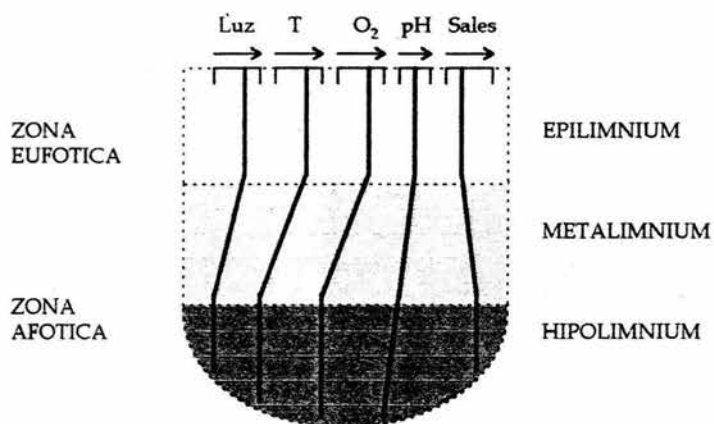


Figura 2.1 Estratos que se observan en la columna de agua y perfiles verticales de los parámetros físicos y químicos en lagos eutróficos durante la estratificación térmica (Modificado de Okada 1992).

La importancia de la estratificación térmica radica en la separación de la zona superior y de la zona inferior del lago durante el verano a través de diferentes densidades del agua. En lagos eutróficos el alto contenido de materia orgánica en los sedimentos, originados por la producción de algas o macrófitas, así como la que entra al sistema por los ríos, proporciona una fuente de nutrientes para las bacterias. La descomposición aeróbica de la materia orgánica junto con la respiración consumen el oxígeno en el hipolimnium durante la estratificación (Okada 1992).

Diagenesis química

Los sedimentos son el asiento potencial de productos químicos orgánicos e inorgánicos que entran a ecosistemas acuáticos. La concentración de químicos en el sedimento pueden afectar a los organismos bénticos, pero también al reaccionar con los componentes del sedimento, o degradarse, pueden producir cambios de consideración en las características fisicoquímicas del ecosistema (Kent *et al.* 1994).

La diagenesis química de los sedimentos comprende las reacciones químicas que ocurren durante y después de la sedimentación de materiales. Estas reacciones pueden ser divididas en dos categorías, biogénica y abiogénica, dependiendo si las reacciones son mediadas o no por bacterias u otros organismos. La diagenesis primaria de sedimentos es principalmente realizada mediante reacciones bacterianas tales como la respiración aeróbica, desnitrificación, reducción de nitratos, fermentación, reducción de sulfatos y fermentación de metano. Los solutos producidos por la descomposición de materia orgánica, se encuentran libres para reaccionar. Estas reacciones secundarias además modifican la química del sedimento.

En sistemas lacustres, los procesos de diagenesis pueden ser complicados por los patrones estacionales de estratificación térmica, acompañados por la disminución de oxígeno en aguas hipolimnéticas. La anoxia en el hipolimnium facilita considerablemente el flujo de muchos constituyentes del sedimento al agua (Algren 1994; Mc Call y Tevesz 1982; Fisher 1982; Kortmann y Rich 1994).

Cuando una bacteria heterotrófica en sedimento descompone la materia orgánica, y las concentraciones de oxígeno caen, los valores del potencial redox del sedimento caen de +500 mv a +200 mv, cuando se establecen condiciones de anoxia. En este punto la descomposición ha producido iones inorgánicos como fosfato y amonio. La respiración bacterial pasa entonces a ser anaeróbica, y puede producir ácidos como butírico y acético como productos finales. El contenido de dióxido de

carbono aumenta y consecuentemente el pH baja. Otros iones oxidados pueden ser usados por los microorganismos para oxidar la materia orgánica. Algunos protozoarios y muchas bacterias reducen nitratos, si están presentes, a N_2O o N_2 a través de la denitrificación. La denitrificación generalmente se completa cuando el potencial redox cae a +100 mv; las bacterias anaeróbicas, incapaces de oxidar compuestos de carbono, pueden liberar etileno, y las bacterias, (o tal vez procesos químicos inorgánicos), empiezan la reducción de iones. El resultado de estos procesos produce un suelo con un número de iones potencialmente tóxicos (Fe^{2+} , Mn^{2+} , HS^-) y ácidos orgánicos sin oxígeno y amonio (Moss 1992).

Eutroficación

Los términos oligotrófico y eutrófico fueron introducido al mundo de la limnología para clasificar lagos que tienen agua oligotrófica si ésta es clara en verano y eutrófica si ésta es turbia debido a la presencia de algas (Welch 1992).

La eutroficación es definida como el enriquecimiento del agua por nutrientes inorgánicos de plantas. Los nutrientes principales son nitrógeno y fósforo, y resultan en un incremento en la producción primaria. Algunos cuerpos de agua son naturalmente eutróficos, en tanto que reciben suficiente suministro de nutrientes para las plantas acuáticas (Mason 1991). Pero muchas de las actividades socioeconómicas del hombre aceleran el transporte de estos nutrientes a los cuerpos de agua y pueden acelerar en gran medida la eutroficación. Considerando el origen de la materia orgánica, los lagos se clasifican en dos tipos: lagos autotróficos, que dependen de la fuente interna, como la producción de fitoplancton; y lagos alotróficos, los que reciben la mayor parte de su materia orgánica de fuentes externas. Mientras la eutroficación puede ser deseable en algunos cuerpos de agua para aumentar la productividad, en general los procesos de eutroficación se asocian con el deterioro de la calidad del agua y con la simplificación de la red trófica (Okada 1992).

OBJETIVOS

Cuantificar el contenido de Metil Paratión en agua, sedimento y en el tejido de los organismos bénticos de la presa Ignacio Ramírez, para determinar si el MP se acumula en el sistema.

Determinar las características fisicoquímicas de los componentes abióticos (agua y sedimento) en las temporadas de secas y lluvias, y establecer cuales son las condiciones que pueden favorecer la acumulación o degradación del MP en los diferentes estratos.

Realizar bioensayos para evaluar la calidad ambiental y posible toxicidad del agua y sedimentos de la PIR.

Realizar censos para correlacionar la riqueza y abundancia de especies en la PIR, incluyendo a las comunidades de macroinvertebrados bénticos, con las concentraciones de MP en agua y sedimento, para conocer el efecto del insecticida en estas comunidades.

METHYL PARATHION IMPACT ON WATER, SEDIMENTS AND
BENTHIC MACROINVERTEBRATES FROM THE IGNACIO
RAMIREZ DAM, MEXICO

Marina Y. de la Vega Salazar
Instituto de Ecología
Universidad Nacional Autónoma de México,
Apartado Postal 70-275, Ciudad Universitaria,
CP 04510 D. F., México.

Laura Martínez Tabche
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas,
Instituto Politécnico Nacional,
Ap. Postal 105-314. Del. M. Hidalgo,
CP 11340. D. F., México.

Edmundo Díaz Pardo
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas,
Instituto Politécnico Nacional,
Ap. Postal 105-314. Del. M. Hidalgo,
CP 11340. D. F., México.

Submitted to: Water Research.

Summary/ Methyl Parathion (MP) an insecticide and acaricide, is considered unstable and relatively non-persistent. The 4-nitrophenol (4NP) product of the decomposition of MP is the result of hydrolysis, metabolic or chemical photolysis at high ambient temperatures or to chemical exposure to visible or UV light under neutral and alkaline conditions. In water, acid hydrolysis is slow and absorption in sediments may prevent hydrolysis. Water, sediment and macrobenthic invertebrates were sampled once in both the dry and the rainy season of 1996 at Ignacio Ramirez dam (IRD) in Mexico, and aimed to determine whether MP is concentrated. We attempted to establish how factors like low pH or high turbidity, may prevent its degradation and favor the accumulation in water, sediment and organisms, and/or produce a toxic effect in fresh-water organisms. The IRD is a eutrophic water body, with the presence of thermal stratification in summer, dissolved O₂ depletion in bottom and high turbidity. Methyl Parathion and 4-NP are accumulated in water, sediment and benthic organisms. During the dry season MP can be degraded and the metabolite can be eliminated from the sediment during the rainy season. MP and 4-NP concentrations show a negative correlation with pH in sediment and a positive correlation with depth of aphotic zone. These factors are largely correlated with accumulation and persistence of MP and 4-NP in sediment. Sediment of IRD shows a sublethal and genotoxic effect in bioindicators. MP and 4-NP concentrations in water and sediment have a direct effect in the diversity of macrobenthic communities.

Key words: Methyl Parathion, 4-Nitrophenol, Dam, sediment, Accumulation, Bioaccumulation. Aelosoma sp., Daphnia magna, Photobacterium phosphoreum, Panagrellus redivivus.

INTRODUCTION

In Latin America, pesticide use doubled and in some cases tripled over 1980-1990. Currently the trend is to decrease the use of persistent organochlorine pesticides and to increase the use of organophosphorus pesticides that, although less persistent, are more toxic (OMS 1993).

Methyl parathion (MP) is an insecticide and acaricide. It belongs to the organophosphorus group of insecticides, and is considered unstable and relatively non-persistent based on chemical structure and on laboratory trials (Farran and De Pablo 1988). It is highly toxic to humans and other mammals due to the high degree of percutaneous penetration and the interference with acetylcholinesterase (AChE) in the nervous system (Meister 1992; OHS 1991). It was reported that MP is rapidly metabolised by plants and animals and is therefore not expected to persist or to bio-concentrate (Hartley and Kidd 1983; Howard 1989). MP low persistence is known, and hydrolysis can easily occur in water, either enzymatically as in organisms, or microbially in soils (Howard 1989). Further, MP biodegradation rates in water are dependent on the microbial community biomass and activity, pH and total organic carbon. The half-life for MP in natural water samples (*in vitro*) is about 30 days (Pritchard *et al.* 1987). The 4-nitrophenol (4NP) product of the decomposition of MP is the result of hydrolysis, metabolic or chemical photolysis at high ambient temperatures or to chemical exposure to visible or UV light under neutral and alkaline conditions (Draber *et al.* 1992). In water, acid hydrolysis is slow and absorption in sediments may prevent hydrolysis (Schmidt 1994; OHSI 1991). This insecticide degrades rapidly in sea, river and lake waters, and degradation is faster in the presence of sediments (Howard

1989). In flooded soils some pesticides and their metabolites do persist for long periods of time depending upon soil conditions. Whether pesticides such as MP undergo degradation is dependent on many factors; i. e. soil type, organic matter, moisture regime, temperature, redox status, sulfate content and number of pesticide applications (Sethunathan *et al.* 1991). The 4-NP, product of the decomposition of MP, is not absorbed by soil particles and may contaminate water. Environmental Protection Agency has established 4-NP level that is safe for human at 60 µg/L (US EPA 1990).

The complexity of aquatic ecosystems make it difficult to predict the effect of chemicals pollutants, in lacustrine systems. Sediments have long been demonstrated to be a potential sink for both inorganic and organic chemicals entering the aquatic environment (Kent *et al.* 1994). The chemical diagenesis of freshwater sediments can be complicated by seasonal patterns of thermal stratification accompanied by oxygen depletion of hypolimnetic waters (Fisher 1982; Moriarty 1983). Many of the previous studies were conducted in vitro assays and we are not aware of similar studies testing potential bioaccumulation in the field.

This study analyzes the presence of MP at the Ignacio Ramírez Dam in Central México and aimed to determine whether it is concentrated in water sediment and macrobenthic invertebrates. We attempted to establish how factors like low pH or high turbidity, characteristic of eutrophic systems, may prevent its degradation and favor the accumulation in water, sediment and organisms, and/or produce a toxic effect in fresh-water organisms.

STUDY AREA

Ignacio Ramírez dam is part of the Lerma-Chapala system is the most important hydrological system in the Central Mesa (plateau) of México. This zone harbors endemic fauna of fish at the family, genera and species level. This is one of the most densely populated regions of México, giving rise to agricultural and farming activities and industrial belts of great economic importance which have contributed to making the Lerma river the most polluted river in the country (Díaz- Prado *et al.* 1993).

The climate is generally temperate and sub-humid with summer rains in the months of July, August and September, with annual rainfall of 822.5 mm. The hottest months are May and June and the average temperature is 12.4°C. Soil erosion is another important aspect in the region, and it is caused caused by water run-off due to deforestation. Medium level erosion arising from inefficient agricultural practices on soil with a steep slope and poor handling of water resources (Boletín Hidrológico No 50-1970) is also present. The IRD which was built on La Gavia river, 22 Km Northeast of Toluca city and 5 Km upstream of the confluence with the Lerma river (Fig. 1); its geographical location is: Longitude W. G. 99° 46' 25" and Latitude N 19° 27' 35". The Basin area is 505 Km², the total storage capacity of the IRD is 20.50 million m³ of which a total yearly used volume of 93.3 million m³ is obtained and is used exclusively for irrigation (INEGI 1994).

MATERIAL AND METHODS

Two sampling episodes were conducted at IRD, one during May, and another during September. The first sampling was performed on May 21, 1996, during May, when the water level was low. The dam filled in only a third of its capacity. The sampling was done on a sunny, cloudless and windy day, and the average temperature was 26°C. The second sampling was performed on September 11, 1996 in September, when the difference in water level was only half a meter deeper than in May. This low level, unexpected during September, may have resulted from water level being maintained by opening the effluent; the day was sunny, 40% cloudy, and the average temperature was 34°C.

Transects were established along the length of the dam at each Km beginning from the dam (site 8), which included the two principal courses of the reservoir in order to determine the possible entrance sites or places of insecticide accumulation in the dam (Fig. 1); nine sites were sampled within the reservoir (sites farther than site 1 were unapproachable because they were too shallow to permit access to the boat) and one site out of the reservoir in the effluent, in order to evaluate whether the dam have the capacity to retain pesticides. Each site was located with a geopositioner (Magellan Geo- positioner NAV 5000 DX). Simultaneous samplings were made at each site, these included:

- 1.- Physical measurement.

The temperature and dissolved oxygen at the surface and at each meter of depth to the bottom were determined at each site with an oxygen meter (Simpson electric Co. YSI model 51B). Secchi disk transparency was also measured in the open water at the time of water sampling.

2.- Chemical measurement.

a) Additional chemical data were obtained of surface and bottom water taken at each site. One sample of surface and one sample of bottom at each site were used to determine the concentration of phosphorus, nitrite, nitrate, ammonia, sulfate, suspended solids and turbidity, which were determined using colorimetric methods and quantified with spectrophotometer (Hach DREL model 2000). Hardness (calcium) was measured by EDTA titration. The MP and 4-NP content was determined for each water sample in triplicate, extracting from 50 ml of water 3 times with 25 ml of chromatographic degree methylene chloride-hexane (15:75). The extracts were mixed and evaporated to dryness on a evaporator at 75°C under nitrogen atmosphere (Nabawi *et al.* 1987; Wilson and Bushway 1981). The MP and 4-NP were quantified by gas chromatography.

b) MP and 4-NP concentrations and content of organic mater in sediment. Three sediment samples were taken at each site by using 6 cm diameter by 5.2 cm height conical dredges. The organic matter content of the sediment was determined by ignition (Jackson 1958), pH was measured directly in interstitial water extracted from sediment by centrifugation (13 000 rpm for 5 min at 4°C). The MP and 4-NP extraction were performed by the agitation of an exactly weighed sample of sediment with 100 ml of chromatographic degree methylene chloride-hexane (15:75) for 20 min. The extracts were cleaned by chromatography in a Florisil© column and evaporated to dryness on a evaporator at 75°C under nitrogen

atmosphere (Butler 1981; Beckert 1991). The MP and 4-NP content was determined by Gas Chromatography.

c) Bioconcentration of MP and 4-NP in organisms. The concentration of MP in the tissues of organisms captured in the sediment of each sampling site was determined. The weight of the organisms was obtained and homogenised with 40 g of anhydrous sodium sulfate in a mortar. Extractions were made with 100 ml of chromatographic degree methylene chloride-hexane (15:75) with mechanical agitation during 30 min. The extracted were cleaned by chromatography in a Florisil © column and evaporated to dryness on a evaporator at 75°C under a nitrogen atmosphere (Beckert 1991; Nabawi 1987). MP and 4-NP concentrations' were quantified by gas Chromatography.

3.- Biological evaluation. Generic Bioassays were undertaken to identify potential ecotoxic effects of effluents.

Toxicity of water. Acute toxicity tests were applied to all water samples obtained at IRD using acute toxicity tests with Daphnia magna for an exposure period of 24 hrs to 100%, 50% 25% 12.5% 6.25% water dilutions and percentage of surviving water fleas was measured (EPA 1991). We also used the Microtox method, which measures the inhibition of Photobacterium phosphoreum production of light after a period of acute exposure of 10 min to 11.25%, 22.5%, 45% and 90% dam water dilutios (Bulich *et al.* 1981).

Toxicity of the sediments was determined using Panagrellus redivivus nematode for a period of exposure of 96 hrs to 10%, 3% and 1% dilutions of sediment interstitial water. The parameters evaluated were: survival (S; % of survivors), growth (G; % in each of 2 early larval stages that passes

to the next larval stage), maturity (M; % of larvae of stage 3 that become adults) and fitness (Σ of S + G + M). Of this, Maturity, which involves the use of a substantial amount of genetic material, is the most sensitive index of genotoxicity (Samailoff *et al.* 1983).

Chromatographic method.

The extracts were resuspended with hexane and analysed by gas chromatography with a Varian model 3400 chromatograph, fitted with a Thermionic Specific Detector (TSD) and a fused silica column J & W Scientific DB-1 (15m long, 0.53 mm internal diameter and 1.5 μ m film thickness of methyl silicon) using helium as carrier gas at 30 ml/min. Injector temperature 250°C, detector temperature 260°C. Temperature programming was used to chromatograph the samples, initial column temperature 120°C was held for one minute, temperature raised to 150°C at 30°C/min, and held for 2 min, raised to 205° at 10°C/min, raised to 240°C at 2°C/min and held for 5 min (Farran *et al.* 1988; Gluckman *et al.* 1986; Stan 1989).

Average recovery percentage of the extraction methods for MP was 92% for sediment and 100% for water. For the calibration curve of MP dissolved in hexane, the correlation coefficient was high ($R=0.998$ and $P<0.01$). Average recovery percentage of 4-NP was 80% for sediment and 70% for water; residues were not corrected for percent recovery in samples. For calibration curve of 4-NP dissolved in hexane (first dilution was done in methanol, and subsequent dilutions were done in hexane), correlation coefficient were also high ($R=0.9825$ and $P<0.05$).

RESULTS

Physical-chemical characteristics

In May there was a drop in the temperature at the bottom without thermal stratification. In September the drop in temperature was more than 6°C in one meter, evidence of a thermal stratification (Fig. 2).

In May, light penetration was total in sites 2, 5, 6 and 9 due to shallow and slow movement of water. In the deepest sites there were several aphotic zones: 0.5 m in site 3, 1.4 m in site 5, 0.15m in site 7 and 1.7 m in site 8. In September light penetration was only 0.2m in all stations with the presence of an aphotic zone in all sites tested too. There were high O₂ concentrations in the surface water sampling sites and lower O₂ concentrations at bottom water sampling sites, it was not found evidence of anoxic conditions on any sampling time (Table 1).

Concentrations of total phosphorus, nitrite, nitrite ammonia, suspended solids, turbidity, sulfate and hardness were obtained in water samples at high levels characteristics of eutrophic waters. There were not significant difference in salts concentration between each sampling site at surface or bottom water samples in any sampling time. However a significant increase in all salts concentrations was found during September in comparison with the May sampling (ANOVA) ($P < 0.05$) (Fig. 3).

In the effluent (site 10), salts concentrations were lower than inside the dam; this may indicate that low water movement favors sedimentation and retention of particles.

In May, the pH water varied between 7.3 and 7.8, and pH sediment values between 6.04 and 6.77. The difference between water and sediment

pH was statistically significant (ANOVA) ($P < 0.05$). In September, the water pH decreased (6.62-7.15), and sediment pH increased (6.34-7.14). The difference was significant in comparison with the May sampling (ANOVA) ($P < 0.05$) (Table 1).

The percentage of organic matter, clay and sand were determined in order to know the sediment composition. High percentage of clay was found in all sample sites. Organic matter content in the sediment increased in September (Table 1).

The increase of organic matter in sediments in September may be due to an increment of mortality of phytoplankton (autochthonous inputs) for the increase in the aphotic zone consequence of high turbidity and transport of organic matter from upstream (allochthonous inputs), the decomposition of this organic matter contribute to the depletion of oxygen in the bottom.

Methyl Parathion Accumulation

Higher MP concentration was found in sediment samples than in water in all sampling sites in both seasons (Fig. 4).

In September MP concentration in water samples decreased. Significant differences were found in vertical and seasonal variation in MP concentrations, ANOVA ($P < 0.05$). In sediment MP concentration decreased but sediment concentration did not show significant difference in comparison with May (Fig. 4).

Higher 4-NP concentration was found in sediment samples than in water in all sampling sites in May (Fig. 5). In September 4-NP was not found in water samples. In both seasons 4-NP was found in sediment, and 4-NP concentration decreased in September in comparison with May

(Fig. 5). Significant differences in 4-NP concentrations were found in vertical and seasonal variation, ANOVA ($P < 0.05$).

The highest MP and 4 NP concentrations in sediment were found at site 8 in May, this site had the lowest pH and the deepest aphotic zone. In September the highest MP concentration in sediment were found in sites 1 and 8.

Site 1 had the highest MP concentration in September; this may be due to the fact that it site receives water and sediment accumulated from several tributaries. Besides in May, site 1 was not flooded, and maize crops were growing there. This may be important sources of MP (during September the site was flooded).

A negative correlation between pH and MP concentration was observed in sediment in both May and September samples and between pH and 4-NP in May. (Regressions were done between $10^{-\text{pH}}$ and MP and 4-NP concentrations, in order to have a lineal escale in both parameters, regression lines show a positive correlation) (Fig. 6). A positive correlation between depth of aphotic zone and MP concentrations was observed in sediment in May (Fig. 6).

Biological evaluation

In May, benthic macroinvertebrates were found in sediment samples in sites 2, 4, 5 and 6 (Table 2). In the forth sediment samples, the Oligochaeta Aeolosoma sp. was found, the MP and 4-NP content were quantified in the Aeolosoma tissue. The concentrations of both were higher than in water and sediment (Table 3). In the September sampling, benthic macroinvertebrates were not found in any sediment sample. A negative

relationship between 4-NP concentration in sediment and diversity index ($r = -0.9845$) was observed (Table 3).

Toxicity of water and sediment

No dam-water effect was found after acute exposure in the toxicity tests with D. magna and P. phosphoreum. The sediment caused toxic effect in the test with Panagrellus redivivus, with a slight effect on survival and a greater effect on growth. However, the greatest effect were the inhibition of maturity and fitness in the nematode during the test (Table 4). We found coincidence between sites where toxic effect was high and diversity index was zero or benthic organisms were absent.

DISCUSSION

We made only 1 visit per season. However the reader should bear in mind that the May sample was taken towards the end of the dry season and the September sample was made during last part of the rainy season. Physical-chemical characteristics.

The Ignacio Ramírez Reservoir presents a pool characteristics with the presence of thermal stratification in summer. In May, turbidity was lower than in September, allowing photosynthetic activity and high dissolved oxygen concentration. The highest turbidity during September permits light penetration in water only through few centimetres, limiting photosynthetic activity and causing depletion of dissolved oxygen in water. This is characteristic of eutrophic water bodies (Okada 1992).

The high salinity because of eutrophication may be due to farming activities carried out in the dam's vicinity, the steep slope of the soil around the dam, the acute erosion in the zone and the considerable land-water interrelationship. Due to an extended aquatic-terrestrial transition

zone, the area is covered by water only during the flood pulse. All of these causes a high deposition of soil at the IRD. The most important affected factor is the increase in turbidity because of the high content of clay in the soil.

The water pH values showed a tendency to acidity; they may be considered low, given the high buffer capacity of the system due to the high CaCO_3 concentration in the dam, low water pH can be due to the accumulation of products as a result of biological activity, such as the accumulation of CO_2 and degradation products (Moss 1992; Okada 1992; Reid and Wood 1976).

Methyl Parathion Accumulation

IRD has a high catchment basin with many tributaries, which allows MP entrance. Sedimentation patterns are important in MP and 4-NP accumulation, since site 8 is located on the basin over the natural course of the la Gavia river on which the dam was built. It has high sediment accumulation and it was the site with the highest MP and 4-NP accumulation in both seasons, finally sediments are a sink for chemicals entering the aquatic environment (Kent *et al.* 1994).

An oxidative condition was presents in surface and bottom in all sites, this may favor the MP and 4-NP degradation, but both are present in water and accumulate in sediment. This may be explained by the low pH and aphotic zone in our sites.

Our results indicate that there are conditions that prevent the degradation of insecticide, such as low pH in the sediment is an important parameter that affects the MP persistence, which degrades very

slowly at a low pH (Draber *et al.* 1992), and the presence of aphotic zone which prevent photochemical hydrolysis, chemical alteration of pesticides by photolysis yields products that are more amenable of biological degradation (Haperman-Somich 1991). The sediment composition is also important since pesticides and their degradation products generally persist larger in clay soils than in soils rich in organic mater, due to the low microbial activity in the former (Sethunathan *et al.* 1991). Usually microbial activity is the major degradative pathway, but abiotic reactions can dominate and/or environmental conditions prevent degradation of some compounds (Miles 1991), this seems to occur to MP.

Contrary to previous reports suggesting that 4-NP does not absorb to soil particles (US EPA 1990), it concentrated on sediment, and our results suggest that pH sediment characteristics may favor 4-NP accumulation on the sediment. It has been reported that phenolic compounds are frequently incorporated into soil humic constituents, and this binding depends on soil pH (Bollag 1991).

Differences in physical and chemical features resulting from seasonal variations (Haertel *et al.* 1969; Paine 1986; Reid and Wood 1976), additionally produce changes in MP and 4-NP concentration in water and sediment at IRD. MP degradation can be possible during the dry season, when the turbidity is low, but 4-NP is accumulated in water and sediment. The elimination of 4-NP may occur during the rainy season although a low concentration remains in sediment. The results show that light penetration and pH are factors that correlate with the accumulation and persistence of MP and 4-NP in sediment. Possibly the increase of sediment pH and the decrease of water pH was apparently favorable to

the delivery of 4-NP from sediment to water in the rainy season, and the MP and 4-NP concentrations were seemingly diluted in water and sediment.

The insecticide degradation product is important since it may persist and accumulate in water and in sediment. Water 4-NP concentrations were much higher than the levels recommended as safe for human consumption by the EPA (USA EPA 1990), and may constitute a human health hazard.

Although MP remains in water and principally in sediment in deepest sites, and MP present in sediment may be released as a result of benthic-organisms activities. The macrobenthic fauna may mix the sediment in which they live due to feeding activities or nest building. The sediment and interstitial waters are laterally and vertically transported by macrobenthic activities (McCall and Tevesz 1982; Elmgren 1989; Fisher 1982), and may be bio-available to organisms that inhabitant the dam.

Toxicity of Water an Sediment

The invertebrate population and communities are useful to monitor toxic compounds on a local scale since these group has low tendency to migrate (Bohác and Fuchs 1994). Because sediments are the potential settling area of organic and inorganic chemical products that enter in aquatic ecosystems, they can directly affect benthic organisms (Kent *et al.* 1994). The reaction of organisms to pollutants may be non-specific but can reflect actual biological damage and may reveal the intensity and duration of the pollutant in the medium (Jeffry 1994; Kramer *et al.* 1994). Contrary to reportes that MP is rapidly metabolized by plants and animals and not expected bio-concentration (Howard 1989), the

concentration of MP and 4-NP found in deep-water macroinvertebrate (Aeolosoma sp.) tissue at a higher concentration than in water and sediment, means that the MP is a compound that can be bioconcentrated and increase its persistence whitening the system, and may be considered as a persistent compound (Munawar *et al.* 1984).

The inverse relation between MP and 4-NP content in sediment and the diversity index of the presence or absence of benthic organisms and sublethal and genotoxic effect in the nematode P. redivivus, are both indicators of potential toxic effect of MP and 4-NP at concentrations found at IRD.

CONCLUSIONS

Sediment pathways inside the dam permit MP and 4-NP accumulation in the system, while physical and chemical factors may prevent MP decomposition. Our results suggest that acid pH and aphotic zone prevent MP and 4-NP degradation and permit their accumulation, but it would be necessary to monitor MP persistence at IRD for long-term, in order to characterize the MP persistence in this system (Eutrophic and with high turbidity) and the system's capacity of MP accumulation.

Acknowledgements. Funds and facilities for this research were supplied by CONACYT (3458-N) and DEPI/IPN (952745) grants. The authors thank Constantino Macias G. for his supervision and advice in the development of this research, Dr. Rodolfo Dirzo for his comments and correct the English text. Dr. Francisco Espinosa for his comments, Francisco Rojo C. for GC analytical support, Antonio Sánchez T. for assistance in sample collection, Angeles Grajeda for help in data acquisition in sediment characterisation, Lucia Salazar and Gerardo Cortez for help in data acquisition of Bioindicators assays.

TABLE 1. SEASONAL AND VERTICAL VARIATION OF DEPTH, TEMPERATURE, DISSOLVED OXYGEN, PH IN WATER, AND SEASONAL VARIATION OF TRANSPARENCY IN WATER, ORGANIC MATER, CLAY AND SAND IN SEDIMENT AT IGANCIO RAMÍREZ DAM IN MAY (M) AND IN SEPTEMBER (S) IN EACH SAMPLING SITE.

Site	Depth (m)	Transp. (m)	Temp. °C	Oxygen (mg/L)	pH Water	pH Sediment	Organic Mater %	Clay %	Sand %
1-S	M 0	-	-	-	-	-	-	-	-
	S	0.20	19	5.2	7.05	-	-	-	-
1-B	M -	-	-	-	-	-	-	-	-
	S 2	0.20	17	2.4	6.79	6.26	5.3	-	-
2-S	M 0	0.3	21	6.4	7.8	-	-	-	-
	S	0.2	21	5.6	6.93	-	-	-	-
2-B	M 0.3	0.3	-	-	-	6.66	6.3	39.19	52.54
	S 1.5	0.2	17	3.4	6.84	6.6	7.28	-	-
3-S	M 0	2	20.5	5.6	7.6	-	-	-	-
	S	0.24	24	5.4	6.95	-	-	-	-
3-B	M 2.5	2	18.8	4.8	7.8	6.63	3.2	72.93	22.13
	S 3	0.24	17	2.8	6.9	6.8	6.33	-	-
4-S	M 0	2.1	20	6.7	7.4	-	-	-	-
	S	0.2	20	4.8	7.0	-	-	-	-
4-B	M 3.5	2.1	18.5	4.0	7.6	6.53	3.06	77.02	18.39
	S 4	0.2	17.5	2.2	6.9	6.67	4.82	-	-
5-S	M 0.4	0.4	23	6	7.6	6.72	3.43	65.48	29.81
	S 1	0.2	21	5.6	7.12	7.14	4.14	-	-
6-S	M 0.4	0.4	22	7.2	7.6	6.44	3.34	76.84	18.37
	S 1	0.24	24	5	6.71	7.12	6.24	-	-
7-S	M 0	2.6	21	7	7.4	-	-	-	-
	S	0.2	24	5.8	7.15	-	-	-	-
7-B	M 2.75	2.6	20	6.6	7.4	6.59	3.49	-	-
	S 3.5	0.2	17	2.6	7.01	6.69	7.14	-	-
8-S	M 0	1.8	25	7.6	7.3	-	-	-	-
	S	0.2	22	4.4	7.11	-	-	-	-
8-B	M 3.5	1.8	19	3.4	7.6	6.07	3.1	-	-
	S 4	0.2	16.5	2.0	6.62	6.34	5.93	-	-
9-S	M 0.7	0.7	22	8.4	7.7	6.6	-	-	-
	S 1	1	24	5.4	7.04	6.73	5.6	-	-
10-S	M -	-	-	-	7.7	-	-	-	-
	S -	-	-	-	7.79	-	-	-	-

Significant differences in water and sediment pH and organic mater in sediment between dry and rainy season were found. ANOVA ($p < 0.05$).

TABLE 2. SPECIES RICHNESS AND ABUNDANCE OF BENTHIC MACROINVERTEBRATES
COLLECTED IN SEDIMENT IN SITES 2, 4, 5 AND 6 IN MAY 1996.

Specie	SITE 2	SITE 4	SITE 5	SITE 6
<u>Aeolosoma sp.</u>	41	23	35	18.
Netonectido	5	2	45	-
<u>Pentaneura sp.</u>	16	-	27	-

TABLE 3. MP AND 4-NP CONTENT IN WATER, SEDIMENT AND ORGANISMS AND ESTIMATED FIELD ACCUMULATION* AND BIOACCUMULATION ϕ FACTORS.

SITE		MP / 4-NP (mg/L) Water	MP / 4- NP (mg/Kg) Sediment	Accumu- lation Factor	MP / 4-NP (mg/Kg) <u>Aeolosoma</u> sp.	Bioaccu- mulation Factor	Shannon- Weiner Diversity Index H'
2	MP	0.0005	0.00113	2.2	0.0023	4.5	0.35
	4-NP	ND	0.19	-	2.42	13	
3	MP	0.0004	0.0004	1	-	-	-
	4-NP	0.0179	0.137	7.6	-	-	
4	MP	0.00015	0.0007	6.5	0.0007	6.4	0.12
	4-NP	0.018	0.567	31.5	2.27	126	
5	MP	0.00035	0.000045	0.13	0.00062	1.77	0.47
	4-NP	0.014	0.121	8.6	2.07	148	
6	MP	0.0000016	0.00037	228	0.00173	4.6	0
	4-NP	ND	0.64	-	2.45	4.8	
7	MP	0.0003	0.00013	0.43	-	-	0
	4-NP	0.39	0.738	1.89	-	-	
8	MP	0.0002	0.014	70	-	-	-
	4-NP	0.3	3.13	10.5	-	-	

*Accumulation Factor. Sediment concentration/ water concentration.

ϕ Bioaccumulation Factor. Aeolosoma tissue concentration/ sediment concentration.

H' Shannon-Weiner Diversity Index (Moore and Chapman 1986).

TABLE 4. SEDIMENT TOXICITY TEST IN *Panagrellus redivivus*.

SITE	% Surv.	% Grow.	% Mat.	% Fit.	Toxic effect
2	100	93	91	97	ND
3	99	90	70	92	ST
5	99	99	97	99	ND
6	97	93	19	85	SoT
7	99	95	31	88	SoT
8	95	74	10	77	MT

ND- Non detected effect.

SoT-Some toxicity.

ST-Slight toxicity.

MT-Moderate toxicity.

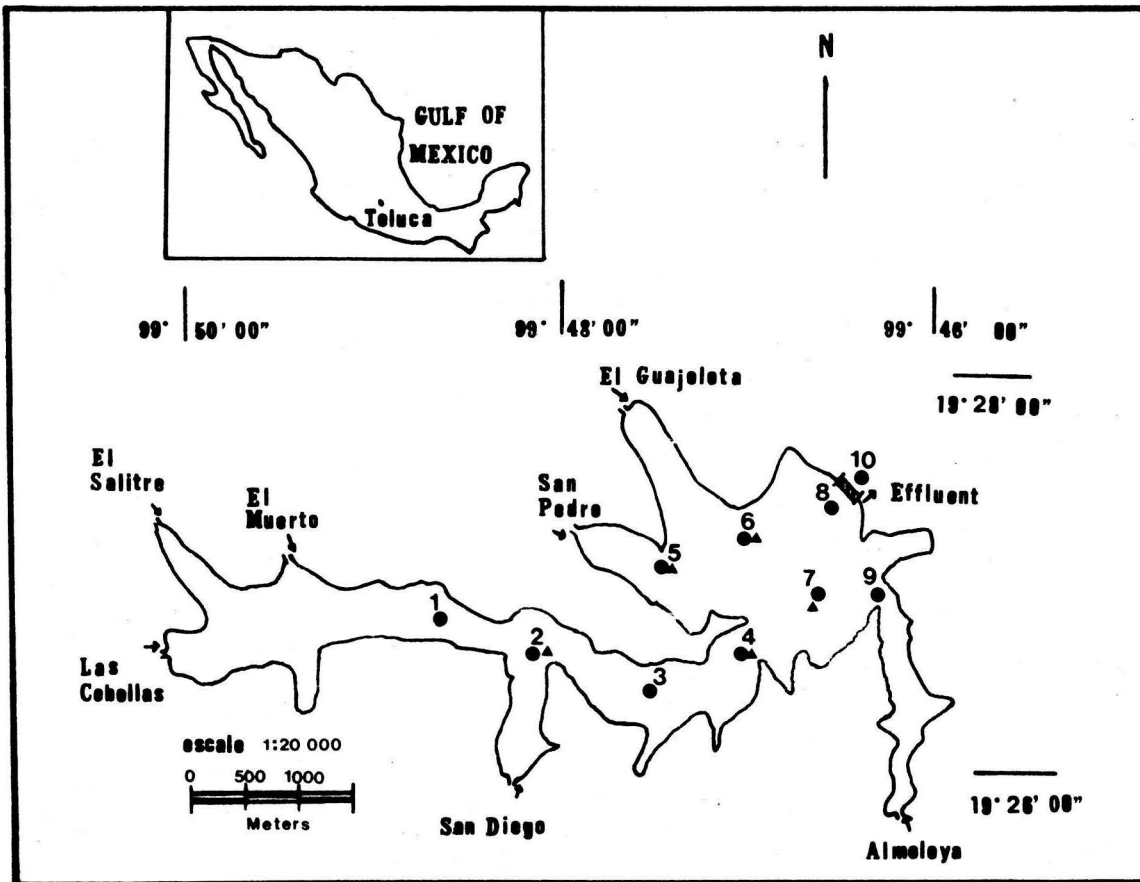


FIG. 1 Study site location. Sediment and water sampling sites ●, and organism collection sites ▲.

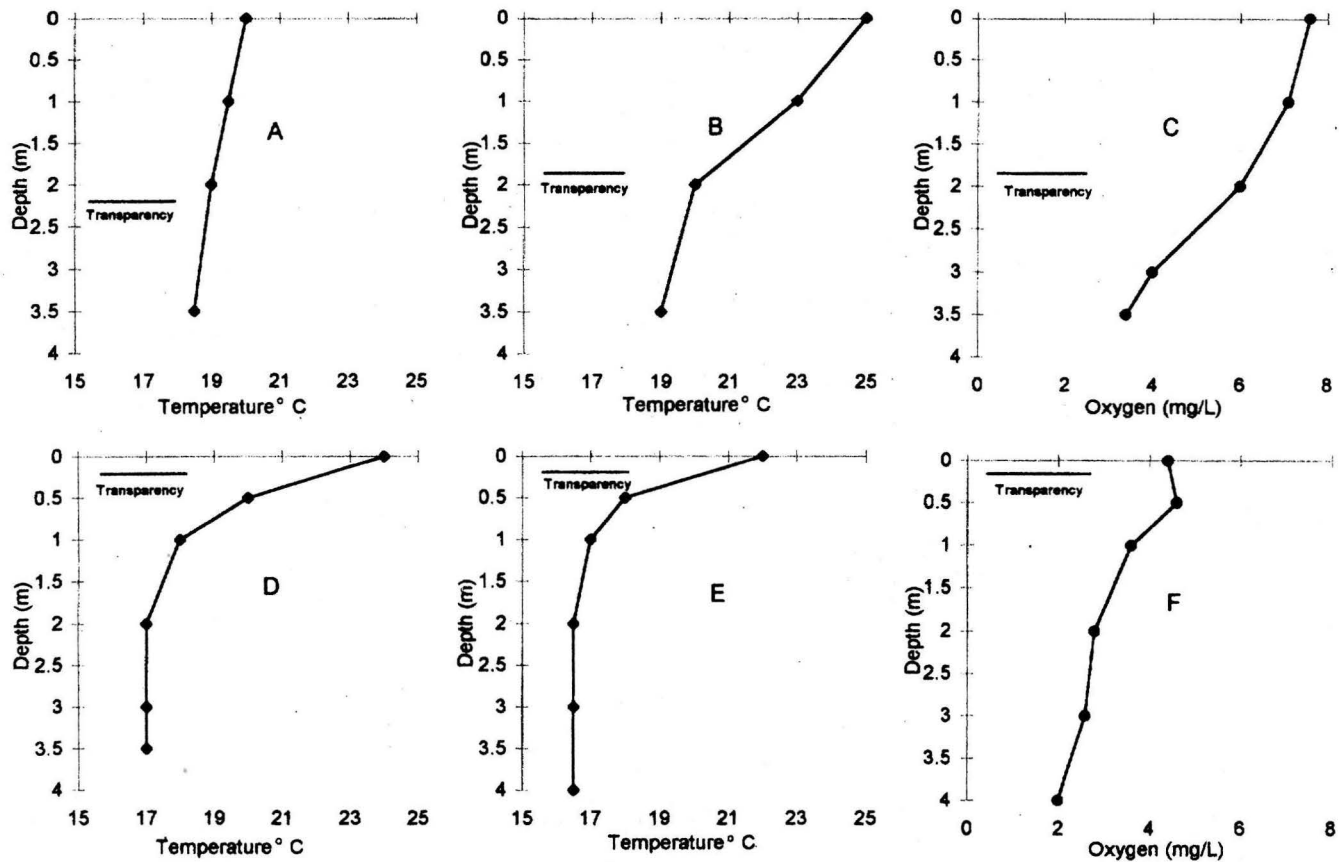


FIG. 2. Vertical distribution of temperature in water at Ignacio Ramírez dam in: (A) site 4 in May 1996, (B) site 8 in May, (D) site 7 in September 1996 and (E) site 8 in September. Vertical distribution of dissolved oxygen in water in site 8 in: (C) May and (F) in September.

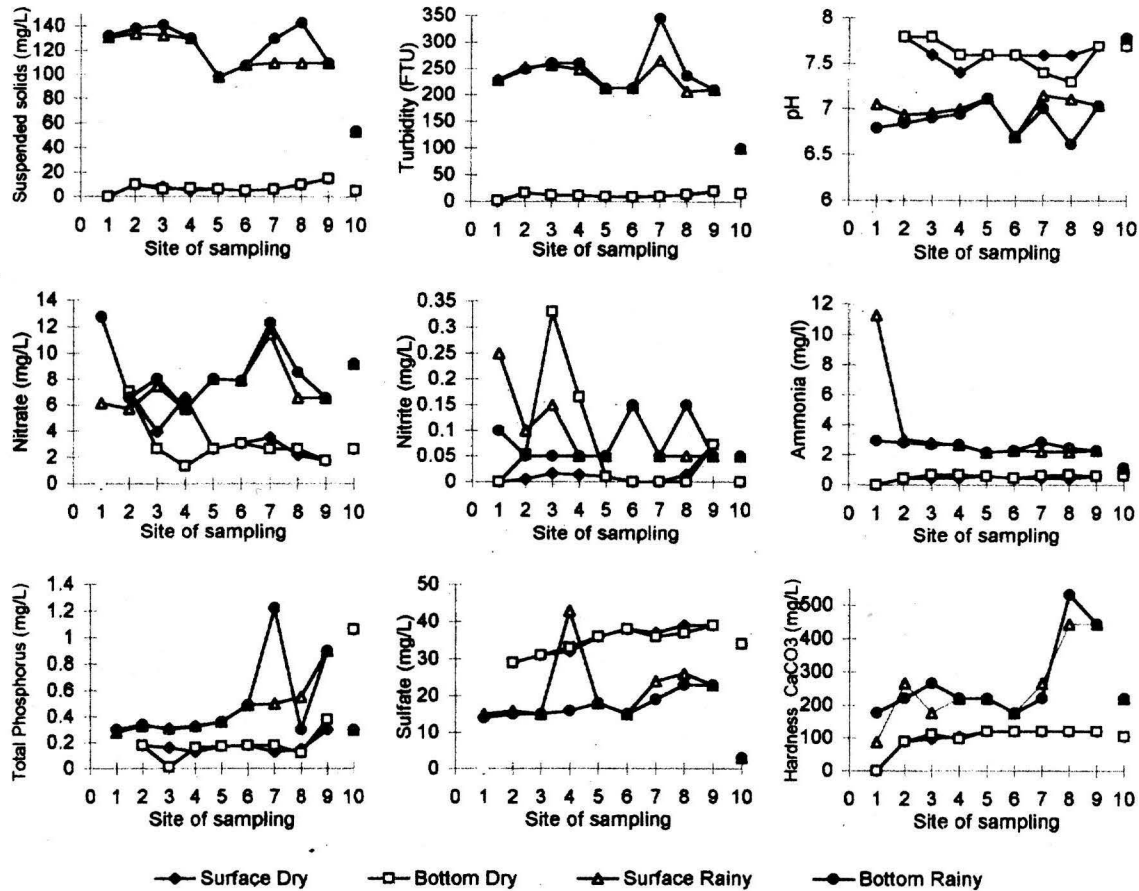


FIG. 3. Vertical and seasonal variation of suspended solids, turbidity, pH, nitrate-nitrogen, nitrite-nitrogen, ammonium-nitrogen, phosphorus, sulphates and hardness in water at each sample site (site 10 is not included in the plot because the point was outside the dam). No significant difference was found in vertical variation in any parameter, but the difference was significant in seasonal variation. ANOVA ($P < 0.05$).

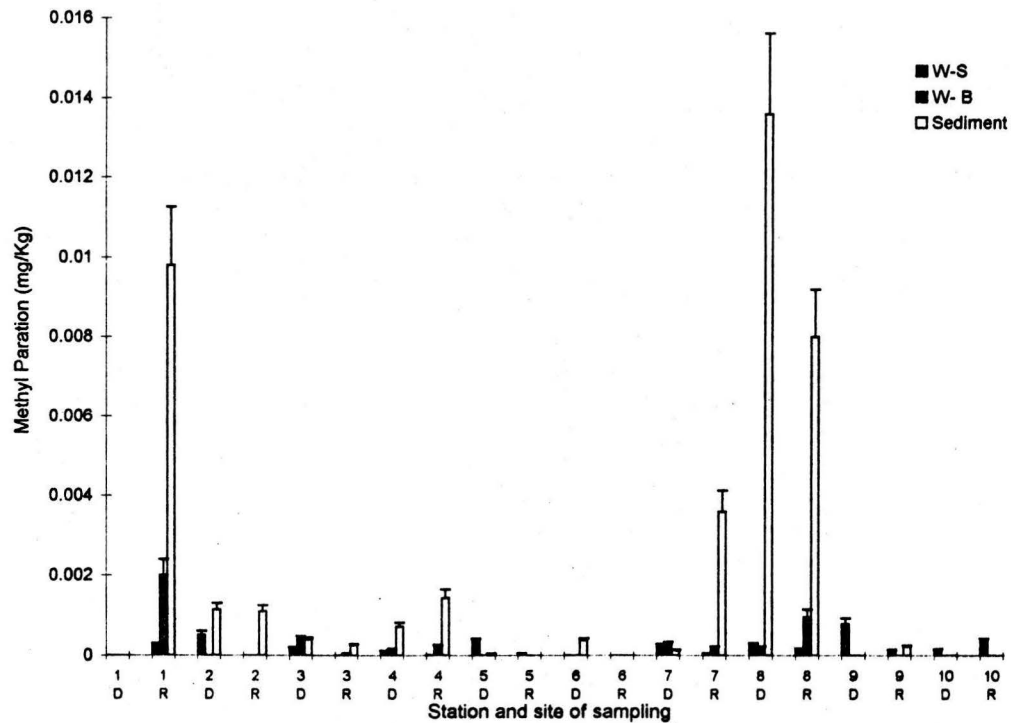


FIG. 4 Methyl Parathion concentration in water surface (WS), water bottom (WB) and sediment. Labels on the X axis indicate both site and season (D=dry season, R=rainy season). Significant differences were found in vertical and seasonal variation in MP concentrations, ANOVA ($P < 0.05$).

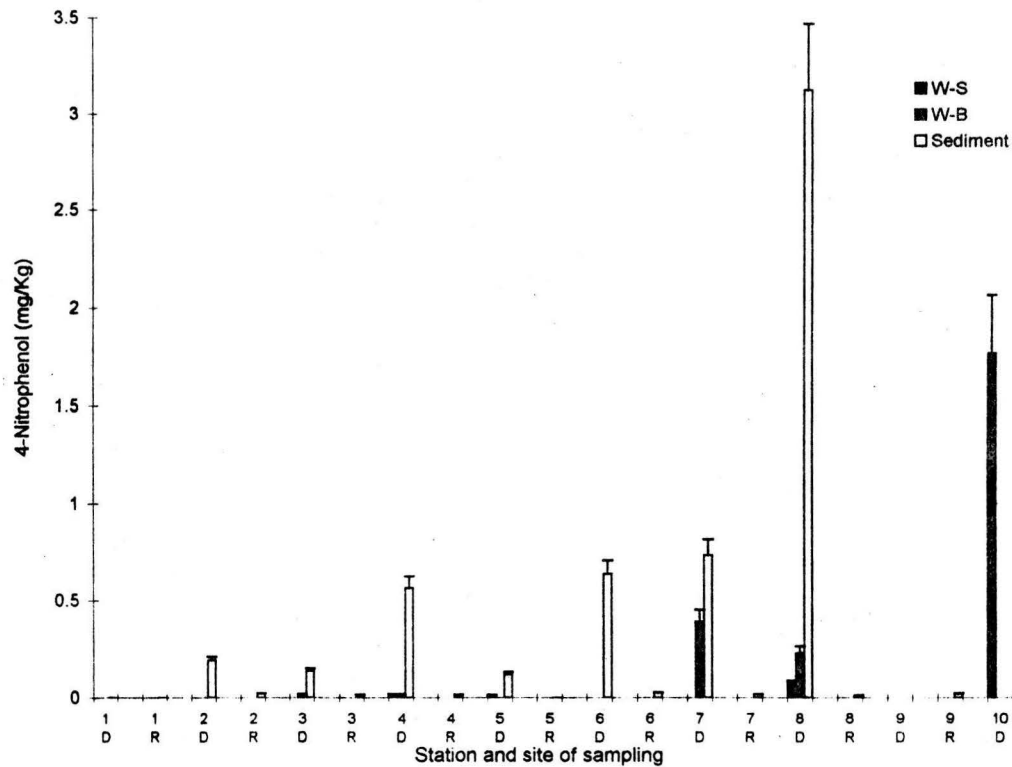


FIG. 5. 4-Nitrophenol concentration in water surface (WS), water bottom (WB) and sediment. Labels on the X axis indicate both site and season (D=dry season), (R=rainy season). Significant differences were found in vertical and seasonal variation in 4-NP concentrations, ANOVA ($P < 0.05$).

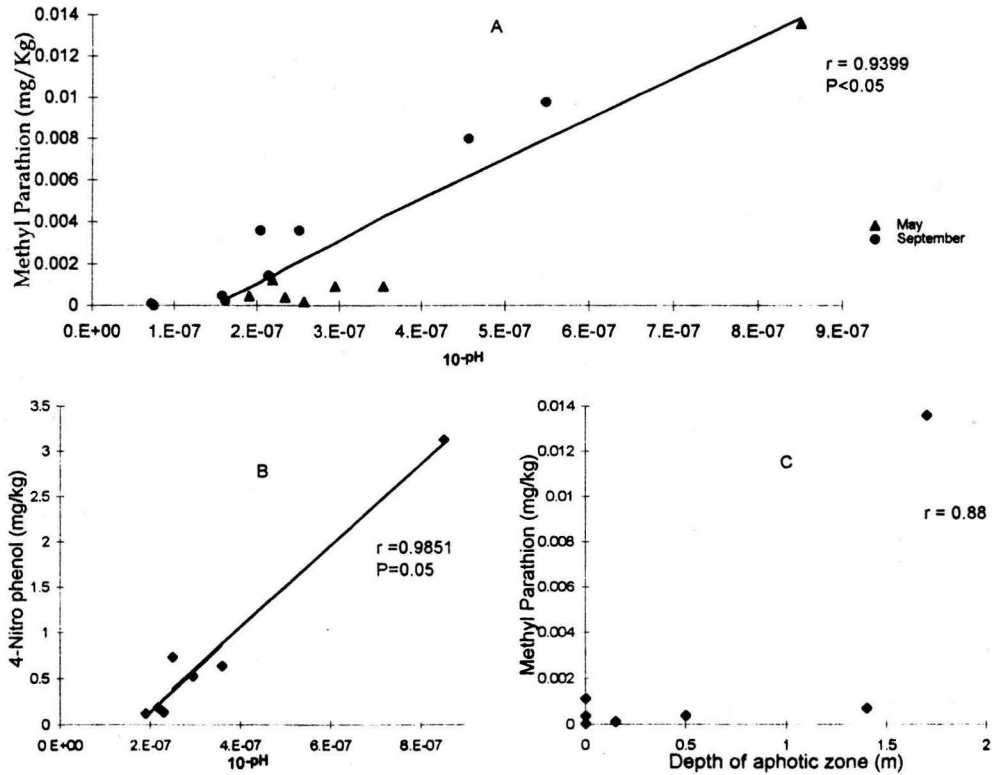


FIG. 6. Correlation (A) between 10^{-pH} and MP concentrations in sediment in May and September. Test for equality of slopes was done to compare the analyses of regression separately for each of the May and September dates, difference is not significant ANOVA $F=4.30$ $P<0.05$ ANCOVA $F=3.88$ $P<0.05$. (Sokal 1981). (B) Correlation between 10^{-pH} and 4-NP concentrations in sediment in May and (C) correlation between depth of aphotic zone and MP concentrations in sediment in May.

REFERENCES

- Algren Y., Waara T., Vrede K., Sörensson F. (1994) Nitrogen budgets in relation to microbial transformation in lakes. *Ambio* 15, 367-377.
- Beckert W., López Avila V. (1991) Standardisation of sample extract cleanup and analytical conditions for more efficient determination of organic pollutants. In Powlowski L., Lacy W., and Dlugosy J. (Eds.) *Chemistry for the Protection of the Environment Science Research*. Vol. 42 Plenum Press N. Y. 113-126.
- Bohác J., Fuchs R. (1994) The structure of animal communities as bioindicators of landscape deterioration. In Jeffrey D. W. and Madden B. (Eds.) *Bioindicator and Environmental Management*. Academic Press Limited. 165-254.
- Boletín Hidrológico No 50 (1970) Cuenca del Río Lerma Hasta la presa Solís del Lago de Patzcuaro, del Río Grande de Morelia Hasta el Lago de Cuitzeo y de la Laguna de Yuriria. Tomo I y IV. Secretaría de Recursos Hidráulicos. Subsecretaría de Planeación. División General de Estudios. Dirección de Hidrología.
- Bollag J. M. (1991) Enzymatic binding of pesticide degradation products to soil organic matter and their possible release. In Somasundaram L., Coats J. R. (Eds.) *Pesticide transformation products. Fate and significance in the environment*. Am. Chem. Society Washington DC. ACS Symposium Series 458, P 122-132.
- Bulich A., Greene M. W., Isenberg D. L. (1981) Reliability of the bacterial luminescence assay for determination of the toxicity of pure compounds and complex effluents. In Branson D. R. and Dickson K. L. (Eds.) *Aquatic Toxicity and Hazard Assessment. Fourth Conference of the American Society for Testing and Materials, STP 737*. Philadelphia, PA. 338-347.
- Butler L. C., Staff D. C. and Davis J. E. (1981) Methyl parathion persistence in soil following simulated spillage. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.* 10, 107-130.

Díaz-Prado E., Godinez R. M., López L. E., Soto G. E. (1993) Ecología de los peces de la cuenca del río Lerma, México. Fish ecology of rio Lerma basin. *An. Esc. Nal. Cienc. Biol.* **38**, 103-127.

Draver W., Fujita T. (1992) Rational Approaches to Structure, activity and ecotoxicology of agrochemicals. 485-500

Elmgren R. (1989) Man's impact on the ecosystem of the Baltic Sea. *Ambio* **6**, 326-332.

EPA (1991) Methods for Measuring the acute toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms. EPA/600/4-90/OZ7.

Farran A., De Pablo J., Barceló D. (1988) Identification of Organophosphorous insecticides and their hydrolysis product by liquid chromatography in combination with UV and thermospray spectrometric detection *Journal of Chromatography.* **455**, 163-172.

Fisher J. B. (1982) Effects of macrobenthos sediment diagenesis. In McCall P. and Tevesz M. (Eds.) *Animal sediment relation. The biogenic alteration of sediments.* Plenum Press N. Y. 177-217.

Gluckman J. C., Barceló D. De Jong G. J., Frei R. W., Maris F.A., Brinkman U. A. (1986) Improved design and application of an on-line Thermionic Detector for narrow-bore liquid chromatography. *Journal of Chromatography.* **367**, 35-44.

Haertel L., Osterberg C., Curl H., Park P. K. (1969) Nutrient and Plankton ecology of the Columbia river estuary. *Ecology* **60**, 962-978.

Hartley D., Kidd H. (1983) *The agrochemicals handbook.* Royal Society of Chemistry. England.

Hoperman-Somich C. J. (1991) Mineralization of pesticides degradation products. In Somosendaram L., Coats J. R. (Eds.) *Pesticide transformation products. Fate and significance in the environment.* Am. Chem. Society Washington DC. ACS Symposium Series 458, P 133-147.

Howard P. H. (1989) Handbook of environmental fate and exposure data for organic chemicals, Vol. III: pesticides. Lewis Publishers, Chelsea, MI.

INEGI (1994) Anuarios estadísticos del Estado de México. (Statistic yearbook of Mexico). Instituto Nacional de Estadística e Informática. (National Institute of Statistic an Information technology).

Jackson M. L. (1958) Soil Chemical analysis. Englewood Cliffs, New Jersey. Prentice Hall, Inc.

Jeffrey D., Madden B., Dwyer R., Wilson J. (1994) Indicator organisms as a guide to estuarine management. In Jeffrey D., Madden B. (Eds.) Bioindicators and environmental management. Academic Press Limited, 55-64.

Kramer K., Botterweg J. (1994) Aquatic biological early warning systems: An overview. In Jeffrey D., Madden B. (Eds.) Bioindicators and environmental management. Academic Press Limited, 95-118.

Kent D., Mc Namara P., Putt A., Hobson J., and Silberhorn E. (1994) Octamethylcyclotetrasiloxane in aquatic sediments: Toxicity and risk assessment. Ecology and environmental Safety. 29, 372-389.

Kortmann R., Rich P. (1994) Lake ecosystem energetics: The missing management link. Lake and Reserv. manage. 8, 77-97.

Mason C. F. (1991) Biology of freshwater pollution. Longman Scientific and Technical. 351 P.

Mc Call P. L., Tevesz M. J. (1982) The effects of benthos on Physical Propitious of Freshwater Sediments. In McCall P. and Tevesz M. (Eds.) Animal sediment relation. The biogenic alteration of sediments. Plenum Press N. Y. 105-176.

Meister R. T. (ed) (1992) Farm Chemicals Handbook'92. Meister Publishing Co. Willoughby OH.

Miles C. J. (1991) Desgradation products of sulfur-containing pesticides in soil and water. In Somosendaram L., Coats J. R. (Eds.) Pesticide

transformation products. Fate and significance in the environment. Am. Chem. Society Washington DC. ACS Symposium Series 458, P 61-74.

Moore Y. D., Chapman S. B. (1986) *Methods in Plant ecology*. Blackwell Scientific Publ. P. 460.

Moriarty F. (1983) *Ecotoxicology The study of Pollutants in Ecosystems*. Academic Press Inc. 380 p.

Moss B. (1992) *Ecology of Fresh Waters. Man and Medium*. Blackwell Scientific Publications 417 p.

Munawar M., Thomas R. L., Shear H. (1984) *An overview of sediment-associated contaminants and their bioassessment*. Canadian Technical Report of Fisheries and aquatic Sciences No 1253.

Nabawi EL A., Heinzow B., Kruse H. (1987) *Residue levels of Organochlorine chemicals and polychlorinated biphenyls in fish from the Alexandria region, Egypt*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. **16**, 689-696.

Occupational Health Services, Inc. (1991) *MSDS for Methyl Parathion*. OHS Inc. Secaucus N. J.

Okada Mitsumasa (1992) *Environmental engineering course Water pollution control*. Japan International Cooperation Agency.

OMS (1993) *Plaguicidas y salud en las Américas*. Organización Panamericana de la Salud. OMS División de salud y ambiente. Washington D. C. Serie ambiental No 12.

Paine A. I. (1986) *The Ecology of Tropical Lakes and Rivers*. John Wiley & Sons. P 5-49.

Pritchard P. H., Cripe C. R., Walker W., Spain J. C., Bourquin A. W. (1987) *Biotic and abiotic degradation rates of methyl parathion in freshwater and estuaries and sediment samples*. Chemosphere **16**, 1509-1520.

Reid G. K. and Wood R. D. (1976) *Ecology of Inland Waters and Estuaries*. 2nd Ed. Litton Educational Publishing, Inc.

Samoiloff M. R., Bell J., Birkholts D. A., Webster G., Arnott E., Pulak R., Madrid A. (1983) Combined bioassay-chemical fractionation scheme for determination and ranking of toxicals in sediments. *Environ. Sci. Technol* **17**, 329-334.

Sethunathan N., Adhya T. K., Barik S., Sharmila M. (1991) In Somosendaram L., Coats J. R. (Eds.) Pesticide transformation products. Fate and significance in the environment. Am. Chem. Society Washington DC. ACS Symposium Series 458, P 43-60.

Schmidh. Rivero. (1994) Metabolism of the pesticide metabolites 4-nitrophenol in Carrots. *Pesticide Sci.* **40**, 231-238.

Sokal R. R., Rohlf S. (1981) Biometry; the principles and practices of statistics in biological researchs. 2nd Ed. W. S. Freeman and Co. N. Y.

Stan H. J. (1989) Application of capillary gas Chromatography with Mass Selective Detector to pesticide analysis. *Journal of Chromatography.* **467**, 85-98.

US Environmental Protection Agency (1990) National Pesticide Survey: 4-Nitrophenol. Office of Water, Office of Pesticides and Toxic Substances, US. EPA, Washington DC.

Welch E.B., Lindell T. (1992) Ecological Effects of Wastewater. Applied Limnology and Pollutant effects. Chapman and Hall. Cambridge.

Wilson A., Bushway R. J. (1981) High-performance liquid chromatographic determination of azinphos methyl and azinphoz methyl oxon in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography.* **214**, 140-247.



BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA
UNAM

CAPÍTULO III

EFFECTO ECOTOXICOLÓGICO DE LA EXPOSICIÓN PROLONGADA DEL METIL PARATIÓN SOBRE LOS ORGANISMOS ACUÁTICOS DE LA PRESA IGNACIO RAMÍREZ

INTRODUCCIÓN

Los considerables beneficios de el uso de plaguicidas tiene la desventaja de producir importante daño ambiental. Un problema ecológico muy importante es la extendida contaminación del medio ambiente con plaguicidas, incluyendo la presencia de residuos químicos en animales y agua (Freedman 1989). La contaminación de fuentes de agua con plaguicidas puede afectar a organismos acuáticos incluyendo peces (Hernández 1990; Rastogi 1990).

El sistema Lerma Chapala, constituye el recurso hidrológico más importante de la Mesa central, en la actualidad esta zona presenta endemismos de fauna íctica a nivel de familia género y especie, como es el caso del género Chirostoma, la familia Goodeidae y los ciprínidos de los géneros Algansea y Yuriria. La presa Ignacio Ramírez se localiza en la región del Alto Lerma que señalaba la presencia de 16 especies de peces. Debido a los cambios ambientales ocurridos en éste cuerpo de agua actualmente es posible encontrar especies de peces tolerantes a cambios ambientales como podrían ser: Notropis sallaei (nativa), Girardinichthys multiradiatus (nativa), Chirostoma riojai (nativa) y Cyprinus carpio (introducida) (Díaz Prado *et al.* 1993).

Organismos Bénticos

Los hábitats litorales son considerados los que incluyen la parte del fondo del lago entre el nivel más alto del lago y la zona afótica

profunda. Los hábitats profundos incluyen el fondo bajo la zona afótica. Las comunidades que crecen en éstos hábitats dependen del suministro de energía de detritus provenientes de las capas superiores. En los hábitats litorales y profundos, los organismos que están asociados con el fondo son llamados bénticos. El fino sedimento en el litoral tiene las comunidades más complejas. Hay una muy diversa comunidad de bacterias, protozoarios y algas. A esto se suman plantas sumergidas y flotantes, con sus epífitas asociadas, invertebrados y peces (Mc Call y Tevesz 1982).

En los bentos profundos hay una comunidad relativamente simple de bacterias, protozoarios, invertebrados y peces. Muchas comunidades profundas están dominadas por larvas de chironomidos, y gusanos oligoquetos. En lagos fértiles, la desoxigenación puede confinar el crecimiento béntico bajo el hipolimnium a las etapas frías del año cuando el crecimiento es lento, y solo bacterias anaeróbicas y algunos protozoarios son los residentes activos permanentes (Moss 1992).

Los sedimentos son el asiento potencial de productos químicos orgánicos e inorgánicos que entran a ecosistemas acuáticos. La concentración de químicos en el sedimento puede directamente afectar a los organismos bénticos (Kent *et al.* 1994). La fauna macrobéntica puede mezclar los sedimentos en que vive por sus actividades alimenticias o la construcción de sus madrigueras o ambas, dando como resultado el cambio en el flujo químico de materiales disueltos liberados del sedimento (Fisher 1982 ; Mc Call y Tevesz 1982).

Examinar las comunidades puede ser útil para determinar el efecto de los contaminantes en la diversidad de especies. Muchos pequeños cambios en las comunidades pueden estar relacionados al contaminante, pero es esencial demostrar que éstos cambios tienen un significado ecológico, que reduzcan la adecuación de una población (Gibbons y Munkittrick 1994). Poblaciones y comunidades de invertebrados son ampliamente usados para monitorear a escala local, en cuerpos de agua ya que estos grupos tienen cuerpos de tamaño pequeño y baja tendencia a la migración, y son útiles para indicar factores ambientales tales como aplicaciones inadecuadas de fertilizantes y plaguicidas (Bohác y Fuchs 1994).

Ecotoxicología

La ecotoxicología estudia el efecto de los productos químicos en la estructura y función de las comunidades bióticas y en su interacción con los componentes abióticos (Schaeffer 1991).

La necesidad de predecir efectos ecológicos de los contaminantes químicos, se debe a que el riesgo de los contaminantes depende no solo de su toxicidad química, sino también en la cantidad liberada al medioambiente, su tendencia a dispersarse, la persistencia en el medio y la disponibilidad para los organismos en los diferentes sistemas. Se deben considerar tres situaciones biológicas de la relación entre exposición y la cantidad de contaminante dentro de los organismos, es útil distinguir, para animales, entre captación de contaminante por el alimento y directamente del medio abiótico:

Bioconcentración, es el incremento de la concentración de contaminante del agua cuando pasa directamente a las especies acuáticas.

Bioacumulación, también es el incremento en la concentración de contaminante, pero indica la captación combinada del contaminante por el alimento y por el agua.

Biomagnificación, indica el incremento en la concentración del contaminante en tejidos animales en miembros sucesivos de una cadena trófica (Moriarty 1983).

La evaluación de ecotoxicidad debe incluir la duración de la exposición al xenobiótico y la duración y magnitud de la respuesta. Se pueden distinguir varias categorías de efectos tóxicos:

Toxicidad aguda. El cambio estructural definitivo (por ejemplo, alteración de la diversidad o pérdida de especies) ocurre después de una o varias exposiciones dentro de 24 hr.

Toxicidad subaguda. El cambio funcional (por ejemplo, disminución de la productividad, aumento o disminución de biomasa) resulta de dosis repetidas en un periodo relativamente corto.

Toxicidad subcrónica. El efecto adverso resulta de exposiciones repetidas durante un periodo que comprende menos del 10% del tiempo promedio de vida de las especies.

Toxicidad Crónica. El efecto adverso resulta de exposiciones repetidas durante una porción de la vida promedio de la especie mayor del 10%.

Los efectos de los contaminantes pueden ser: Letales, subletal (una exposición a concentraciones bajas que no mata dentro de un tiempo corto), lesiones, enfermedades tóxicas, disminución de la resistencia a otro tipo de enfermedades, aumento a la resistencia a los tóxicos (por adaptaciones, selección y mutagénesis), carcinogénesis, teratogénesis, alteración en la reproducción (Schaeffer 1991).

Los contaminantes frecuentemente están presentes en agua a concentraciones muy bajas no letales, esto no representa que no sean tóxicas ya que pueden impedir el funcionamiento normal de los organismos. Las pruebas de toxicidad predicen exitosamente el daño fisiológico en los organismos. El uso toxicológico de niveles enzimáticos como medida del daño orgánico tiene su origen en la medicina clínica. El bioensayo de enzimas es un parámetro útil para detectar efectos subletales de contaminantes tóxicos. La actividad enzimática es la base de la función celular, cualquier inhibición, estimulación o pérdida de la cantidad de las enzimas, indican desbalances bioquímicos y degeneración celular, y pueden producir un desequilibrio químico que puede ser reversible o, si es suficientemente severo, causar la muerte celular (Hall 1985).

El hecho de que los insecticidas OP pueden inhibir un amplio rango de esterases, hace suponer que éstos compuestos pueden producir más de una lesión primaria de importancia biológica, que puede depender del tipo de exposición, dosis y tiempo de exposición al insecticida (Chambers y Chambers 1991; Moriarty 1983). La Gamma-glutamil transpeptidasa (GGT) es una enzima que se encuentra en membrana-plasma que ha sido asociada con el transporte de aminoácidos. Se ha sugerido que la enzima puede ser estimulada por asistir en la transferencia de aminoácidos en las células, como un mecanismo de

regeneración celular. Aparentemente cataliza la transpeptidación de la fracción γ -glutamil de glutatión a varios receptores de aminoácidos. La enzima es ampliamente distribuida en tejido animal y puede ser parte de un mecanismo general de detoxificación en mamíferos que usan glutatión (García y Mourelle 1984)

Efecto Tóxico del Metil Paratión

El Metil Paratión (MP) es un insecticida y acaricida. Es un potente neurotóxico en vertebrados e invertebrados, por interferir con la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE) en el sistema nervioso, se absorben fácilmente por inhalación e ingestión, debido a su gran penetración percutánea (Chambers y Chambers 1991; Moriarty 1983).

La Acetilcolina (ACh), el sustrato natural para la AChE, es uno de los principales transmisores de impulsos a través de la sinapsis entre las terminaciones nerviosas adyacentes, y a través de las uniones neuromusculares. La ACh liberada por el impulso nervioso, actúa directamente sobre las células motoras, produciendo sus respuestas características. La ACh es normalmente destruida rápidamente por hidrólisis, dando lugar a la colina y al ión acetato, catalizada por la enzima AChE, permitiendo que la fibra nerviosa se acomode para recibir el próximo impulso.

El Metil Paratión inhibe a la enzima acetilcolinesterasa (AChE), debido a que los compuestos de ésteres fosforados fijan un grupo fosforilo a la colinesterasa, incapacitando esta enzima para cumplir su función. La inhibición de la AChE significa que ACh persiste mucho más tiempo y las funciones normales del nervio son ampliamente alteradas, y una alteración lo suficientemente severa termina con la muerte (Hassall 1990; Sanz y Repetto 1995).

La AChE es una enzima que presenta poca variabilidad genética interindividual (con excepción de los insectos), por lo que una

actividad anormal corresponde a una inhibición o estimulación y no a una forma atípica (Sanz y Repetto 1995).

El MP es rápidamente metabolizado por plantas y animales y no se espera que persista o se bioconcentre (Howard 1989), las posibles rutas de detoxificación pueden dealquilar el insecticida dando como producto final el 4-NF que es más hidrosoluble. Muchos de los insecticidas OP son fosforotionatos (PT), caracterizados por tener un radical -S y tres grupos -OH unidos al átomo central de fósforo. La molécula de PT, tal como el MP, no se espera que sea particularmente tóxica por si misma, pero puede ser bioactivada de forma efectiva por el sistema enzimático (función mixta oxidasa) en el hígado, al metabolito metil para oxon (MPoxon). El MPoxon es alrededor de 3 ordenes de magnitud más potente como agente anti-colinesterasa. Esta bioactivación llamada desulfuración (Fig. 3.1 reacción 1), libera el sulfuro que es altamente reactivo y puede destruir moléculas cercanas tales como el citocromo P-450, que las produce. El MPoxon es también un importante inhibidor de otras esterasas. La fosforilación de éstas enzimas proporciona alguna protección y detoxificación a través de la destrucción de algunas moléculas del MPoxon (Fig. 3.1 reacción 4). El MPoxon puede ser hidrolizado por A-esterasas, produciendo el 4 -NF y metil fosfato para el MP (Fig. 3.1 reacción 2). Otro mecanismo para remover éstos compuestos es por la detoxificación activa (catalítica). El citocromo P-450 es capaz de efectuar dos reacciones con los PT. La reacción de dearilación (reacción 1b) y la reacción de dealkilación en la cual uno de los metilos es removido y oxidado a formaldehído (reacción 1c). Los productos son disociados de alguna manera, produciendo el 4-NF. Otra posible ruta de detoxificación es por medio de las enzimas del tipo glutatión transferasas que pueden dealkilar el insecticida (Chamber y Chambes 1991).

OBJETIVO

Conocer el efecto ecotoxicológico del MP en los principales organismos acuáticos que habitan la PIR.

Cuantificar el contenido de MP en los organismos recolectados en la presa Ignacio Ramírez.

Determinar el efecto de los factores fisicoquímicos y ambientales que se presentan en temporada de secas y en temporada de lluvias en la PIR, en la bioconcentración de MP.

Mediante el ensayo de la actividad enzimática de la Acetilcolinesterasa (AChE) y Gamma-glutamil transpeptidasa (GGT), en las diferentes especies recolectadas, evaluar los posibles efectos tóxicos por la exposición subcrónica al insecticida MP.

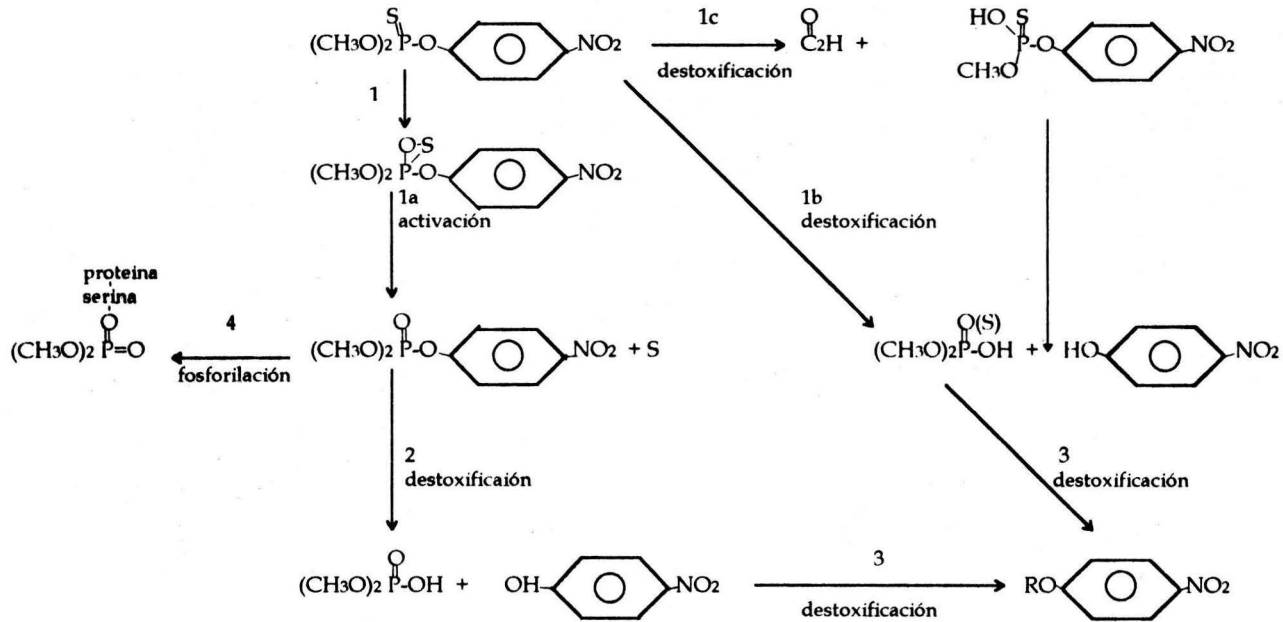


Figura 3.1 Metabolismo del Metil Paratión. Las reacciones marcadas con 1 son mediadas por las enzimas monooxigenasas dependientes del citocromo P-450 requiriendo NADPH y O₂. Donde: 1a desulfuración, 1b dealquilación, 1c dearilación. 2 hidrólisis por medio de A-esterasas y 3 formación de enzimas-conjugado. 4 Fosforilación con enzimas, que en el caso de la Ach, resulta en neurotoxicidad. (Modificado de Chambers and Chambers 1991)

BIOACCUMULATION OF METHYL PARATHION AND ITS
TOXICOLOGY IN SEVERAL SPECIES OF THE FRESHWATER
COMMUNITY AT IGNACIO RAMIREZ DAM IN MEXICO

Marina Y. de la Vega Salazar
Instituto de Ecología
Universidad Nacional Autónoma de México,
Apartado Postal 70-275, Ciudad Universitaria,
CP 04510 D. F., México.

Laura Martínez Tabche
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas,
Instituto Politécnico Nacional,
Ap. Postal 105-314. Del. M. Hidalgo,
CP 11340. D. F., México.

Constantino Macías García.
Instituto de Ecología
Universidad Nacional Autónoma de México,
Apartado Postal 70-275, Ciudad Universitaria,
CP 04510 D. F., México.

Ecotoxicology and Environmental Safety
In press.

Ecotoxicology and Environmental Safety

Published under the Auspices of the International Academy of Environmental Safety

Editors

FREDERICK COULSTON
Coulston Foundation
2512 Christina Place
Alamogordo, New Mexico 88310
USA

FRIEDHELM KORTE
Institut für Ökologische Chemie
Gesellschaft f. Strahlen-
und Umweltforschung, mbH
D-8042 Neuherberg
Post Oberschleissheim
Federal Republic of Germany

Managing Editor

WERNER KLEIN
Fraunhofer-Institut für
Toxikologie und Aerosolforschung
Gräfelfeld/Hochsauerland
D-5948 Schmallenberg
Federal Republic of Germany

Associate Editors

PASCAL DESCHAMPS
Ministère de l'Environnement
et du Cadre de Vie - France

JOHN P. FRAWLEY
Health & Environment
International Ltd - USA

MICHAEL GALLO
UMDNJ-Robert Wood Johnson
Medical School - USA

MIKI GOTO
Gokushun University - Japan

N. SETHUNATHAN
Central Rice Research Institute - India

P.S. SIEYIN
Potchefstroom University - South Africa

Publisher

ACADEMIC PRESS
Harcourt Brace & Company
525 B Street, Suite 1900
San Diego, California 92101-4495

May 5, 1997

Dra. Laura Martinez Tabche
Aquatic Toxicology Lab Chief
ENCB, IPN
Plan de Avala v Carpio
S/N Col Santo Thomas D.F.
MEXICO

Dear Dra. Tabche:

It is with great pleasure that I inform you that your manuscript entitled, "Bioaccumulation of Methyl Parathion and Its Toxicology in Several Species of the Freshwater Community in Ignacio Ramirez Dam in Mexico" has been accepted for publication in *Ecotoxicology and Environmental Safety*.

The research that you and your colleagues have done is excellent and your presentation meets every criteria necessary for a good publication.

Congratulations! I look forward to receiving further manuscripts from you in the future.

Sincerely,



Frederick Coulston, Ph.D.
Editor

FC:cor/05997h
copy: Werner Klein

ABSTRACT

A serious ecological problem is the widespread environmental contamination by pesticides, including the presence of chemical residues in aquatic wildlife. Methyl Parathion (MP) an widely used organophosphate insecticide, it is a potent neurotoxic in both vertebrates and invertebrates. The effect of a subchronic exposure to MP in aquatic organism was evaluated in a natural ecosystem measuring Acetylcholinesterase (AChE) and Gamma Glutamyl Transpeptidase (GGT) activity. Two samplings (at two seasons) were conducted. Physicochemical characterisation was done at each sampling time and organisms were collected. MP and the metabolite 4-Nitrophenol (4-NP) concentrations were measured in water sediment and organisms. The major differences in physical features between seasons were an increase of turbidity and salinity, and depletion of dissolved oxygen in the rainy season. MP and 4-NP are bioconcentrated in organisms, in responses to environmental stress. MP concentration was measured in different size/age and reproductive stages separately. A significant concentration in reproductive tissues (plants)/unborn progeny (animals) was always found, which may affect offspring viability. The metabolite 4-NP is bioaccumulated and is toxic because it causes an increase of AChE activity. GGT increased activity may provides a detoxification mechanism from chronic sublethal exposure to MP, when hepatic glutathione depletion occurs, and may be an indicator of organic damage.

INTRODUCTION

The considerable benefits of the use of pesticides are partly offset by substantial environmental cost. An ecologically pervasive problem is widespread environmental contamination by pesticides, including the presence of chemical residues in aquatic wildlife (Freedman 1989). The contamination of water sources by pesticides may affect non-target aquatic organisms including fish (Hernández 1990; Rastogi and Kulshrestha 1990).

Current pesticide application practice involves the use of less persistent chemicals than the used in the 50's-60's. However, the global use of pesticides is expanding in scale and intensity, and although a considerable amount of information exists regarding some of the environmental consequences of these practices, other potential effects are poorly understood (Freedman 1989; OMS 1993).

The organophosphorous (OP) insecticides are a very effective and widely used group of pesticides in Latin America (OMS 1993). These are potent neurotoxics in both vertebrates and invertebrates. Methyl Parathion (MP; an organophosphate biocide) is an insecticide used to control boll weevils (*Heliothis* spp.) and many biting or sucking insect

pests of crops (Meister 1992). Its mechanism of acute toxicity is the inhibition of the enzyme acetylcholinesterase (AChE) in nervous tissue. Methyl parathion is rapidly metabolised by both plants and animals and it is not expected to persist or to bioconcentrate (Howard 1989). The possible route of detoxification is via the glutathione transferases, which can dealkilate the insecticide yielding 4-nitrophenol (4-NP), which is more excretable (Chamber and Chamber 1991). Gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) is a plasma-membrane-bound enzyme which has been associated with amino-acid transport. It apparently catalyses the transpeptidation of γ -glutamyl moieties from glutathione to various amino-acid receptors. The enzyme is widely distributed in animal tissues and it may be part of a general detoxification mechanism in mammals using glutathione (García and Mourelle 1984).

The purpose of the present study was to characterise the effects of a subchronic exposure to methyl parathion by aquatic organisms including fish, in a natural ecosystem, the Ignacio Ramírez Dam (IRD) in central México.

STUDY AREA

The Lerma-Chapala basin is the most important hydrological system in the Central Mesa (plateau) in México. Because of widespread habitat deterioration, and since it holds several endemic species, the Lerma-River basin has been highlighted as a priority area by institutions concerned with the conservation of nature (CEC 1995).

This study was performed in the Ignacio Ramírez Dam (IRD), which was built on La Gavia river some 22 km Northeast of Toluca city and 5 km upstream of the confluence with the Lerma river. Aquatic macrofauna includes at least three species endemic to the southern portion of the Mexican high Plateau: The crayfish Cambarellus montezumae, the silverside Chirostoma riojai, and the amarillo fish Girardinichtys multiradiatus, as well as the introduced Cyprinus carpio.

IRD is located at 99° 46' 25" W. G. and 19° 27' 35" N (Fig. 1). Basin area is 505 km², and has a total storage capacity of 20.5 x 10³ m³, of which an accumulated total used volume of 93.3 x 10³ m³ year⁻¹ is obtained and used exclusively for crops irrigation, the mean annual production is 44 x 10³ tons; the principal crops of the area are maize, oats, forage, potatoes, peas and lima beans (INEGI 1994). The climate is temperate and sub-humid with summer rains in the months of July, August and September,

and annual rainfall of 822.5 mm. The hottest months are May and June and the yearly average temperature is 12.4°C. Soil erosion is another feature of this catchment area and is caused by water run-off due to deforestation, and by inefficient agricultural practices on soil with a steep slope, and poor handling of water resources (Boletín Hidrológico No 50 1970).

MATERIALS AND METHODS

Two samplings were conducted at two sites at the IRD; one was in May 21, 1996, during the dry season, and in September 11, 1996, during the rainy season. Although ten sites were sampled each time, we report only on data from the site where organisms were collected. Data on the spatial distribution of MP and 4-NP is analysed elsewhere (de la Vega *et al.* 1997). Water temperature and concentration of dissolved oxygen at the surface and bottom were determined at the site by using an oxygen-meter (Simpson electric Co. YSI model 51B). Secchi disk transparency was also measured in the open water at the time of water sampling.

Additional chemical data were obtained of surface and bottom water at each site (Fig. 1). The concentration of phosphorus, nitrite, nitrate, ammonia, sulfate, suspended solids and turbidity, were determined using

colorimetric methods with the aid of a spectrophotometer (Hach DREL model 2000), while hardness (calcium) was measured by EDTA titration. The MP and 4-NP content were determined by gas chromatography, for each water sample in triplicate, extracting from 50 ml of water with 3 extractions of 25 ml of chromatographic degree methylene chloride-hexane (15:75). The extracts were mixed and evaporated to dryness in a evaporator at 75°C under, nitrogen atmosphere (Nabawi *et al.* 1987; Wilson and Bushway 1981).

Three sediment samples were taken with a 5.2 x 6 cm diameter conical dredge. The MP and 4-NP extraction was performed by agitation of an exactly weighed sample of sediment with 100 ml of chromatographic-degree methylene chloride-hexane (15:75) for 20 min. The extracts were cleaned by chromatography in a Florisil© column and evaporated to dryness in a evaporator at 75°C under, nitrogen atmosphere (Butler *et al.* 1981; Beckert and Avila 1991). The MP and 4NP content were again determined by Gas Chromatography.

We looked at MP concentration in tissues of 6 aquatic organisms and 3 hydrophytes (Table 1). These were used because they cover the range of habitat use by aquatic macrofauna and macrofites found at IRD.

Live specimens were brought to the laboratory. The weight of each organism was obtained, and tissues (whole organisms, except with C. carpio, whose gills and muscle were used separately) homogenised with 40 g anhydrous sodium sulfate in a mortar. Extractions were made with 100 ml of chromatographic-degree methylene chloride-hexane (15:75) and through mechanical agitation during 30 min. The extracts were cleaned by chromatography in a Florisil © column and evaporated to dryness in a evaporator at 75°C, under nitrogen atmosphere (Beckert and Avila 1991; Nabawi *et al.* 1987). The MP and 4NP content were quantified by gas Chromatography.

Control organisms were obtained from different sources, with the condition that they had not been exposed to MP or another xenobiotic (Table 2).

Chromatographic method. The extracts were resuspended with hexane and analysed by gas chromatography with a Varian model 3400 chromatograph, fitted with a Thermionic Specific Detector (TSD) and a J & W Scientific DB-1 column (fused silica column 15m long, 0.53 mm internal diameter and 1.5µm film thickness of methyl silicon), using helium as the carrier gas at 30 ml/min. The injector temperature 250°C,

and the detector temperature was 260°C. Temperature programming was used to chromatograph samples: initial column temperature 120°C was held for one minute, raised to 150°C at 30°C/min, and held for 2 min, raised to 205° at 10°C/min, raised to 240°C at 2°C/min and held for 5 min (Farran *et al.* 1988; Gluckman *et al.* 1986; Stan 1989).

Enzymatic assay. The isolated tissue from each organism was weighed, placed in 4 ml of Tris buffer and homogenized (pH 7, 2-4°C). We used gills (fish) or the whole soft parts (other animals). Enzymatic activity was assessed using an aliquot of the tissue homogenate. AChE was assayed by the colorimetric method using acetylcholine as substrate (Hestrin 1949). The Gamma-Glutamyl transpeptidase (GGT) was assayed by the colorimetric method using P-nitroaniline as substrate (Glosman and Neville 1972). Protein concentration was measured, using an aliquot of tissue, by the colorimetric method (Bradford 1976).

Values in figures are expressed as means \pm SD. Statistical comparison are based on the nonparametric Friedman rank analysis of variance, because of the small sample size and large variance in the different experimental groups (Sprinthall 1990).

RESULTS

Ignacio Ramírez dam has characteristics of a lentic system, with thermal stratification in summer. Water samples of IRD had high values of nitrates, nitrites, total phosphorous, sulfates and hardness; all this parameters imply a seasonal variation in water salts concentration. In the September samples, concentration of all salts increased, pH showed tendency to acidity in sediment in both sample seasons (Table 3).

The soil around the dam has high levels of clay, and the eroded soil transported into the dam during the rainy season caused a increase of suspended solids and high turbidity. Such high turbidity results in a decrease in transparency and photosynthetic activity due to rapid quenching of light, also depletion of dissolved oxygen may occur by decomposition of organic mater (Table 3).

The major differences in physical features of the IRD between samples were an increase of turbidity and salinity, and depletion of dissolved oxygen in September (Table 3). The results suggest that IRD is a system in advanced eutrophic state.

Methyl parathion and 4-NP were found at IRD in both samples. In sediment, MP was at a higher concentration than in water. In September's

water samples, 4-NP was not found and sediment concentration decreased in relation to the May sample, while MP concentration decreased in both water and sediment in September (Table 3).

Methyl Parathion Bioconcentration

Since 4-NP concentration in tissues may be a product of biodegradation (besides of bioaccumulation) of MP, we report MP concentration as Σ MP + 4-NP present in organisms tissues.

MP was found in all organisms tissues collected in both samples. MP was present in organisms' tissues at higher concentrations than in water or sediment; some times differing by several orders of magnitude. Except for the macrophyte Ceratophilum sp, bioaccumulation of MP was present in all the organisms (Table 4). In May the highest MP bioaccumulation was found in Aeolosoma sp and in G. multiradiatus in September. It is remarkable that C. montezumae eggs had higher bioaccumulation than adult organisms in both samples (Table 4).

Organisms collected in both months were Planorbidae, C. montezumae and G. multiradiatus. In the last two species the bioaccumulation level was lower in May than in September, whereas MP concentration in water and sediment was lower in September than in May (Fig. 2).

In September, more organisms were available, and the MP concentration was measured in different size/age and reproductive stages separately. In the macrophyte Nymphoides sp MP concentration was lower in stems and leaves than concentration in water. However MP in flowers was higher than in water by several orders of magnitude (Fig. 3). In the crayfish Cambarellus montezumae MP bioaccumulation was present in adults and juveniles at the same level; in ovigerous females MP concentration was low, but MP in eggs was higher than in adults (Fig. 4). Finally in the fish Girardinichthys multiradiatus bioaccumulation of MP was higher in adult organisms than in juveniles, suggesting that exposition time is important in MP bioaccumulation. However, pregnant female MP concentration was lower than in adults, whereas the highest MP concentration was found in embryos (Fig. 5). Always a significantly higher MP concentration was found in reproductive tissues (plants)/unborn progeny (eggs or embryos in animals).

Enzymatic activity

Enzymatic activity (low or high) is always referred to by comparison with controls. AChE activity was higher than control in all species; the increase in the AChE activity was in the same proportion to the MP

bioaccumulation in organism tissues in both sampling events, except for C. montezumae, where an increase in MP bioaccumulation resulted in a slight inhibition of the enzymatic activity (Fig. 6).

Gamma-glutamyl transpeptidase activity was higher than in controls in all the organisms from both sampling events. The increased activity was in the same proportion than MP bioaccumulation in tissues, except for the planorbid, whose high GGT activity occurred when MP bioaccumulation was low (Fig. 7).

DISCUSSION

Methyl Parathion Bioconcentration

Methyl Parathion and the metabolite 4-NP are bioconcentrated in tissue of the aquatic organisms that inhabit IRD. MP concentration in benthic organisms appears to be consequence of prolonged exposure to the insecticide in water and sediment. The higher MP concentration was found in the oligochaete Aeolosoma sp tissue during the dry seasons. This is because Oligochaetes are among the most potent movers of sediment in fresh water, and because they feed deep into the sediment (Mc Call and Tevesz 1982).

The zooplanktivorous fish G. multiradiatus, an the filter feeding oligochaete Aeolosoma sp had the higher MP concentrations; because of the zooplankton feeding habits, filter feeding seems to be a likely mechanism of MP Bioaccumulation which is then passed-on to the next trophic level.

During the September sampling, MP concentration in water and sediment decreased, but increased in collected organisms tissue except for Molluscs; in comparison with the May sampling, dissolved oxygen decreased and dissolved solids increased, which suggests that responses to environmental stress promote the insecticide bioconcentration in aquatic organisms. This is because when oxygen concentration and rate of oxygen diffusion in water are low, aquatic animals must increase the surface area of the tissues available for oxygen uptake. They must maximise the flow rate of oxygenated water, to maintain the highest possible concentration of oxygen at their breathing surfaces (Moss 1992). Additionally, since salinity was higher in September, MP bioconcentration may have also been promoted because there is a decrease in the permeability of the exposed membranes as an adjustive

response to increased salinity (Fry 1978), which again demands an increment in water flow to maintain adequate oxygen supply.

Fish force water over the gills by rhythmically filling the mouth with water and then reducing the mouth volume so that the water is forced through the gills, then out through a slit or slits behind the head. When great activity is needed they may simply keep the mouth open (Moss 1992). This increased pass of water through the gills may explain why in C. carpio MP concentration was higher in gill than in muscle.

Crayfish are crustaceans that possess a carapace which encloses the branchial chamber. Considerable water constantly diffuses into the blood through the gill surfaces of freshwater decapods. Osmotic control and excretion are maintained by two large antennal (green) glands. Crayfish have radiated into nearly every type of aquatic habitat, suggesting that these crustaceans are tolerant and highly adapted, particularly with regards to respiratory physiology. Many species are oxygen-regulators and increase their ventilation rates in response to reduced oxygen. Crayfish are faced with the problems of constant influx of water by osmosis and loss of salts by diffusion. Maintenance of constant body fluid composition is accomplished by active sodium uptake via the gills,

production of a copious hypotonic urine, and by some reduction in boundary membrane permeability. Pollutant exposure to lead resulted in damage to gills, which caused a decrease in the uptake of oxygen, an increase in ventilation rates, and increased bioconcentration (Hobbs 1991). We propose that a similar mechanism determined MP bioconcentration in C. montezumae.

Also, Crayfish play important roles in processing organic matter and in the transformation and flow of energy, feeding virtually at all trophic levels (politrophic); they are capable of switching roles from herbivore/carnivore to scavenger/detritivore merely in response to food availability. Juvenile crayfishes are somewhat limited to detritivory and herbivory as they filter suspended particulate and grasp coarse particles. Adults actively prey and graze on larger items yet they too scrape microbes from hard substrata and shred vegetation. They serve in part as decomposers by breaking down particulate matter, altering the chemical composition of detritus (Hobbs 1991). Obviously a dynamic interaction exists between the external environment and the organism. Osmotic control, respiratory physiology and feeding preferences favour the biocumulation of MP in crayfish.

Planorbidae and Physidae Gastropoda are Pulmonates, they use a modified portion of the mantle cavity as a lung and lack an operculum. They either rely on surface breathing or have a limited capacity for oxygen transfer across their epithelial tissues. Planorbids also have a respiratory pigment, hemoglobin, which increases the efficiency of oxygen transport. Both types of snail have relatively short life cycles, they are usually annual and semelparous. Physidae, at one end of the spectrum, are annual adults that reproduce in the spring and die (there is complete replacement of generations). Physidae and Planorbidae are detritivores or bacterial feeders, and high bioaccumulation is not expected in these organisms. This is consistent with our findings, although physids have adapted to benthic conditions by filling the mantle pocket with water and using it as a derived gill (Brown 1991) which may promote bioconcentration.

MP concentration in C. carpio was expected to be higher than in other animals because it is a big fish with long life and extended exposition to pollutants. However, we found a lower MP concentration in carp than in G. multiradiatus, which may be due to a dilution effect because of the high growth-rate of C. Carpio. Growth is an important factor for pollutant

levels in lakes as faster growing fish "dilute" pollutants in the faster growing biomass and, consequently, have lower contaminant levels than slow growing fish, particularly in eutrophic lakes (Larsson 1994).

Macrophytes come in a variety of growth forms, including free floating plants and rooted plants whose foliage emerges from water, floats on the surface, or is entirely submerged. Ceratophyllum sp., a rootless submerged perennial aquatic monoecious plant, present in shallow stagnant or slow moving waters (Rzedowski and Rzedowski 1985) was present in May. In September we found Lemna sp. which floats on the surface, has an spongy body with form and size of a lentil (3 mm) and filiform root (Martínez and Matud 1979) and also Nymphoides fallax, this is an aquatic plant with rooting tubercles, whose foliage emerges from water through long stems and little yellow flowers clusters (2 to 20) submerged before and after a brief blossom and only emerged during short time (Martínez 1979; Rzedowsky and Rzedowsky 1985). Aquatic specially rootless plants obtain nutrients from the water by means of foliar absorption (Keeley 1991). Our data suggest that the presence of roots (not found in Ceratophyllum sp) seems to be a risk factor and increases MP bioconcentration in hidrophytes.

Our results suggest that MP bioconcentration depends on exposition time to the insecticide, age and bodysize, and on the particular physiology of each organism. However the higher MP concentration in gonads, eggs and flowers may be due to fat content because a substantial part of an organism energy reserves resides in the gonads, and because females are detoxified during spawning, and pollutants eliminated by roe (Larsson 1994). In *C. montezumae*, eggs and spermatozoa are exposed to the external environment at the time of fertilization, and are more vulnerable to a variety of polluting agents. The high bioconcentration of MP can affect the eggs viability since major damage has been reported in fish. MP produced rupture of oocytes wall, delayed maturity, and reduction in reproductive efficiency (Hernández *et al.* 1990; Rastogi and Kulshrestha 1990).

Enzymatic activity effect.

The increase in GGT activity indicates gill damage in fish, and organic damage in other organisms. Some authors propose that the increase in enzymatic activity provides a detoxification mechanism from chronic sublethal exposure (García y Mourelle 1984). Since another possible route of detoxification is through the glutathione transferases which can

dealkilate the insecticide, it appears to be more effective with dimethyl than diethyl compounds. Although it appears that this pathway is occurring in animals treated with OP insecticides since hepatic glutathione depletion occurs, this effect may also be an indicator of liver damage (Hall 1985). In some cases, prior depletion of glutathione failed to alter the toxicity of an insecticide administered subsequently (Chambers and Chambers 1991).

Acetylcholinesterase activity in organisms collected at IRD increased, which is at odds with the irreversible inhibition reported for acute exposure to organophosphate insecticides; this may be due to the presence of 4-NP in tissue as a product of metabolic detoxification of MP and bioaccumulation. A similar phenomenon has been reported for phenol (Assem *et al.* 1989). Only *C. montezumae* showed a slight inhibition of AChE activity, which may indicate the presence of the highly anticholinesterase metabolite of MP, methyl paraoxon. Sanz and Repetto (1995) observed an increase of AChE activity, and a successive AChE inhibition, in organisms exposed to low doses of OP pesticides.

Consequently, despite large differences among species in the activity of the mixed function oxidases and non-specific esterases responsible for the

activation and detoxification of organophosphonates, the significance of metabolic transformation as a major determinant of species selectivity in organophosphorus poisoning remains questionable (Kemp and Wallace 1990).

The ability to detoxify such harmful compounds is crucial to the survival of organisms. Most organisms have countered exposure to toxic chemicals with the development of detoxification systems to transform, metabolise, and eliminate such compounds from tissues. In plants, Glutathione S-transferases (GSTs) are enzymes that catalyse the detoxification of xenobiotics. GSTs are not equally distributed among plants, and plants with higher GST activity levels will withstand exposure to toxic substances that will kill susceptible species. Plants have no excretion system, instead, glutathione S-conjugates are either sequestered in the vacuole, or transferred to the apoplast, a processes termed "storage excretion" (Marrs 1996). It remains questionable whether MP present in plants tissues is toxic for them; and whether aquatic plants have enough GST activity to detoxify MP or other xenobiotics.

We found that MP is toxic for organisms inhabiting the IRD, as they face chronic exposure, and because MP may be bioconcentrated

becoming lethal or sublethal (since enzymatic activity suggests organic damage). Repeated sublethal doses of MP can lead to the development of tolerance to the irreversible inhibition of AChE (Kemp and Wallace 1990; Yang *et al.* 1990). However the metabolite 4-NP is bioaccumulated and is neurotoxic because it causes an increase of AChE activity (Hassall 1990). Since 4-NP can be conjugated and made more water-soluble and readily excretable in the urine by such enzymes as uridine diphosphoglucuronosyl transferases or by sulfotransferases (Chambers and Chambers 1991), bioaccumulation may indicate a decrease in the activity of these enzymes or a damage in the elimination systems of the studied organisms.

Pollutants are frequently present in fresh water at concentrations too low to cause rapid death. However, the environment characteristics and organisms' physiology and ecology promote the bioconcentration of pollutants, which may become lethal or cause a malfunction, ultimately reducing the fitness of exposed organisms. These sublethal effects may be observed in organisms at the biochemical, physiological, developmental or life cycle level. Death is always preceded by lesser symptoms or malfunction, and a major concern in ecology is the frequency and

extension to which plants and animals may survive the impact of pollution. It is reasonable to argue that any effect that impairs an organisms ability to respond to its environment is likely to diminish its reproductive output, thus affecting the sustainability of populations. That IRD (and indeed the whole of the Lerma basin) holds a number of endemic species, while also concentrates the wash-outs of countless agricultural lands, this implies that the health of this region aquatic communities should be a matter of concern. Most species of the family Goodeidae are native to this basin, and all are viviparous, thus MP (or other pollutants) bioaccumulation in embryos pose a serious risk for this family of native fish.

CONCLUSIONS

Enzymatic activity provides evidence of MP toxicity to organisms at IRD. However it is necessary to evaluate if the observed effect of reducing the organisms' viability or the subchronic exposure produce some adaptative process leading to resistance to permits the organisms to face high levels of MP. This is important because MP is bioaccumulated at the highest concentration in eggs, embryos and flower principally, and it is necessary to evaluate the effect in the viability of this.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Lilita Favari for technical assistance and facilities in enzymatic assays. Francisco Rojo for GC analytical support. Edmundo Diaz for facilities in sample collection. Javier Manjarres and Jorge Valeriano for assistance in organisms collection.

TABLE 1. ORGANISMS COLLECTED AT IRD DURING THE DRY SEASON (MAY) AND THE RAINY SEASON (SEPTEMBER), AND HABITAT USE.

Taxa	May	September	Habitat use/life form	Feeding habits
FISHES				
<u>Girardinichthys multiradiatus</u>	P	P	Shore-dweller	Zooplanktivorous
<u>Cyprinus carpio</u>	NC	P	Bottom-dweller	Bottom-feeder
MOLLUSCA-GASTRODODA				
Physidae	A	P	widespread bottom-dweller	Detritivorous
Planorbidae	P	P	Macrophytes	Detritivorous
DECAPODA.				
<u>Cambarellus montezumae</u>	P	P	Bottom-dweller	Omnivorous
OLIGOCHAETA				
<u>Aelosoma sp.</u>	P	A	Bottom-dweller	Filter-feeders
MACROPHYTES				
<u>Ceratophyllum sp.</u>	P	A	non-rooting submerged	
<u>Lemna sp.</u>	A	P	rooted floating	
<u>Nymphoides sp.</u>	A	P	rooted, floating leaves	

P=present.

A= absent.

NC= No sampled.

TABLE 2. SOURCE OF CONTROL ORGANISMS

TAXA	SOURCE
<u>G. multiradiatus</u>	Laboratorio Ecología Conductual. Intituto de Ecologia. Universidad Nacional Autonoma de México.
Planorbidae	Laboratorio Ecología Conductual. Intituto de Ecologia. Universidad Nacional Autonoma de México.
<u>C. carpio</u>	Small irrigation dam at Universidad Autonoma del Estado de México Campus el cerrillo.
<u>C. montezumae</u>	Small irrigation dam at Universidad Autonoma del Estado de México Campus el cerrillo.
Physidae	Small irrigation dam at Universidad Autonoma del Estado de México Campus el cerrillo.

TABLE 3. PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF WATER AND
SEDIMENT FROM IRD DURING THE DRY SEASON (MAY)
AND THE RAINY SEASON (SEPTEMBER).

	MAY	SEPTEMBER
T°C	18.5	17
Transparency (m)	2.1	0.2
Dissolved oxygen (mg/L)	6.7	3
pH water	7.0	7.6
pH sediment	6.44	6.71
Turbidity (FTU)	25	230 s
Suspended solids (mg/L)	10	130 s
Hardness (mg/L)	100	230 s
Nitrite-nitrogen (mg/L)	0.01	0.15
Nitrate-nitrogen (mg/L)	3	8
Ammonium-nitrogen (mg/L)	0.5	2.0
Sulphates (mg/L)	15	35 s
Phosphorus (mg/L)	0.2	0.4
Methyl Parathion (water) (mg/L)	0.0001	0.00005
Methyl Parathion (sediment) (mg/Kg)	0.0007	0.00026
4-Nitrophenol (water) (mg/L)	0.018 (0.25)	ND
4-Nitrophenol (sediment) (mg/Kg)	0.567 (3.7)	0.015

Dates in parenthesis of 4-NF concentration in May, correspond to the greatest concentration found at IRD, not at sampling site.

ND= non detectable.

s = Indicators of high salinity

TABLE 4. BIOACCUMULATION FACTORS OF MP IN TISSUES IN ORGANISMS COLLECTED AT IRD IN BOTH SEASONS.

TAXA	MAY	SEPTEMBER
<u>C. montezumae</u>	8.8	509
<u>C. montezumae</u> (eggs)	293	5000
<u>Aeolosoma sp.</u>	135	-
Planorbidae	17	36
Physidae	-	4000
<u>G. multiradiatus</u>	4	13461
<u>C. carpio</u> (gill)	-	221
<u>C. carpio</u> (muscle)	-	76
<u>Cerathophyllum sp.</u>	1	-
<u>Lemna sp.</u>	-	6.55
<u>Nymphoides sp.</u> (stem/leaf)	-	0.27
<u>Nymphoides sp.</u> (flower)	-	735

Bioaccumulation Factor = MP Concentration in tissue/MP Concentration in water.

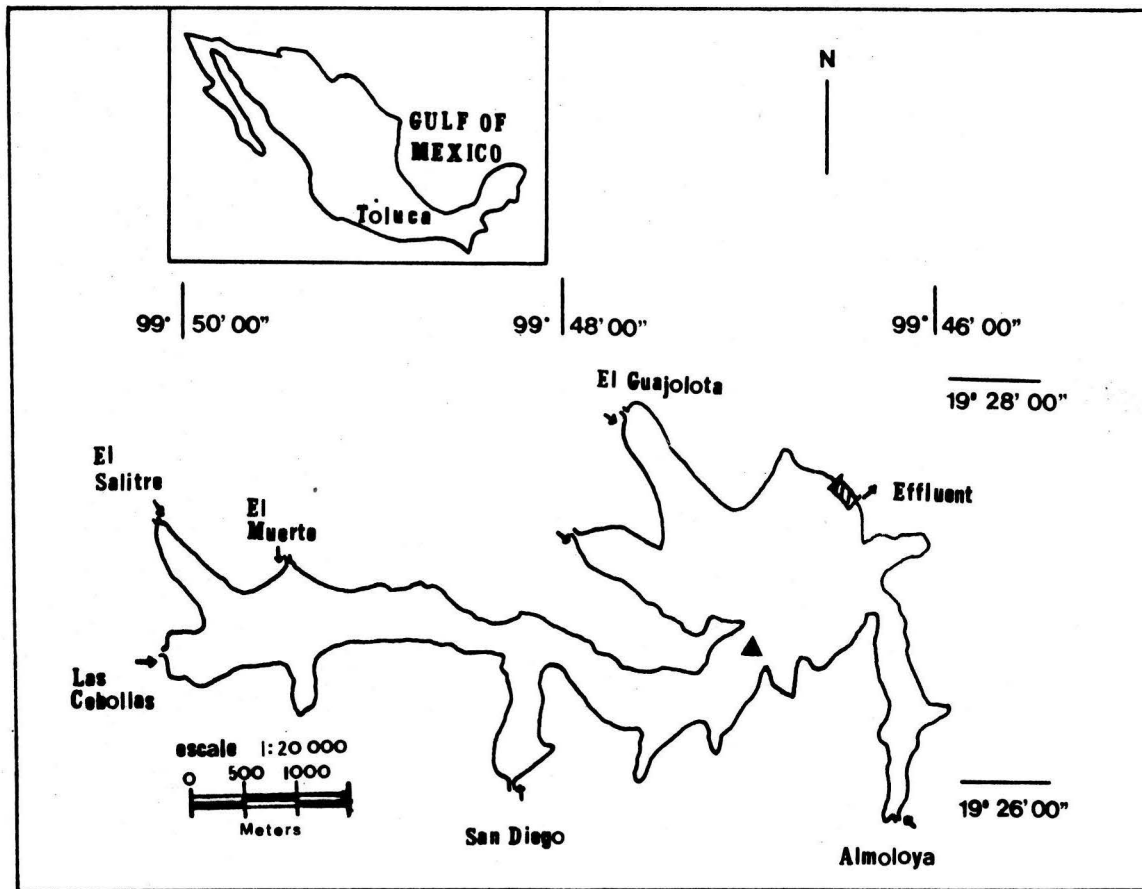


FIG. 1. Ignacio Ramirez Dam location and organisms collection site ▲.

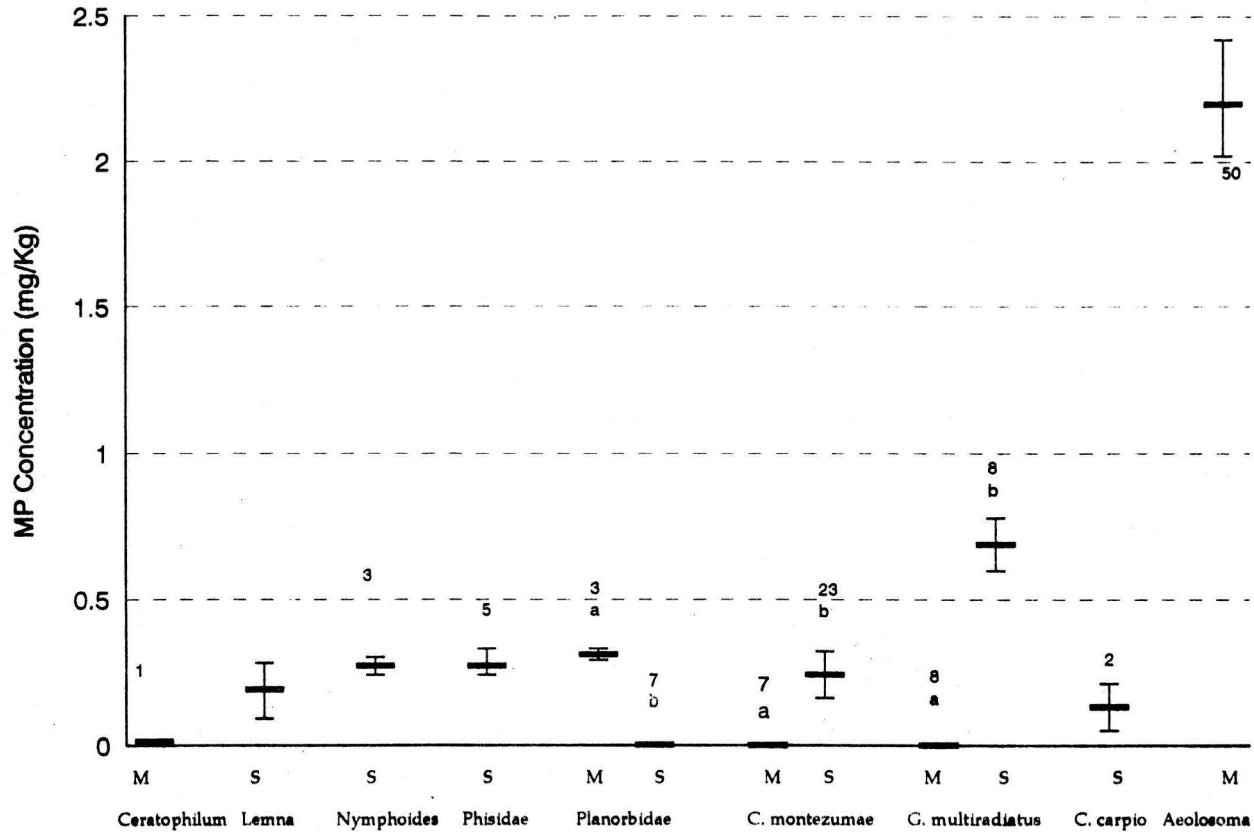


FIG. 2. Methyl Parathion (MP) concentration in tissue of organisms collected in May (M) and in September (S). Numbers by the bar indicate the number of organisms assayed; letters indicate the statistical significance (Friedman ANOVA). Different letters are used when the statistical difference is significant ($P < 0.05$) between each sampling time.

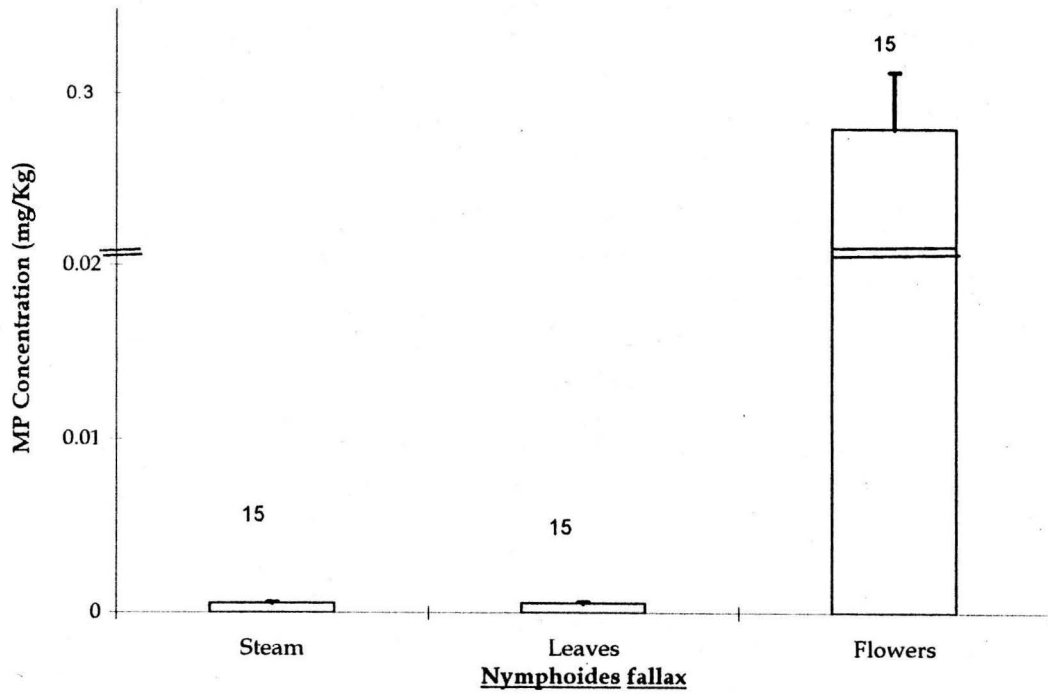


FIG. 3. MP Concentration in Nymphoides fallax tissue, from plants collected at IRD during the rainy season. Numbers by the bar indicate the number of organisms assayed.

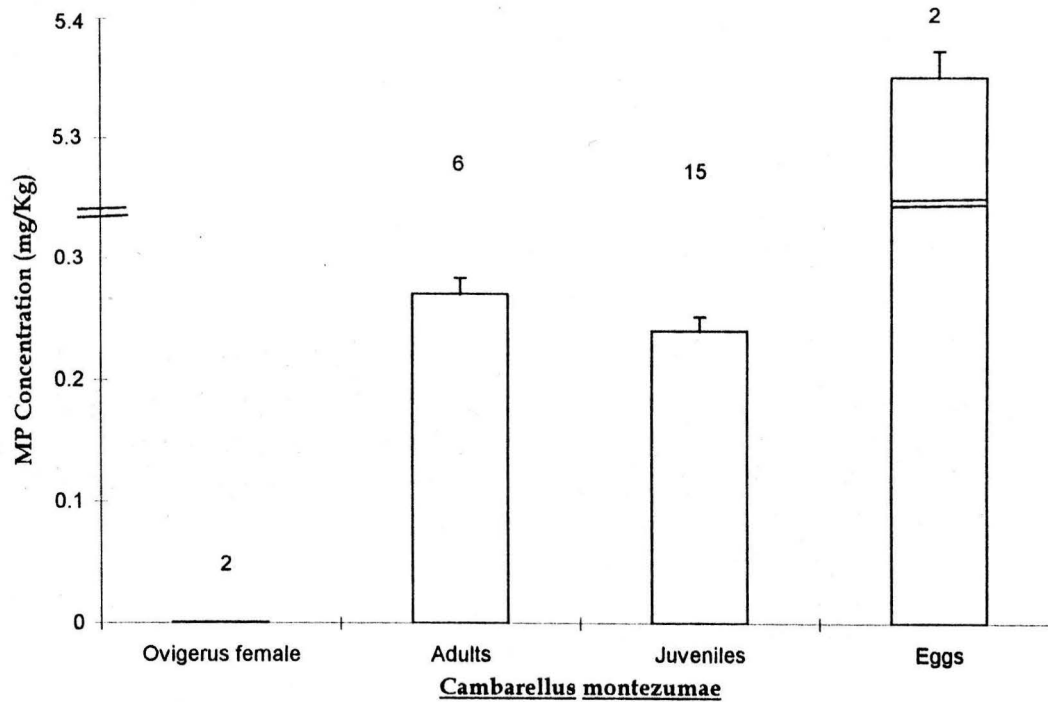


FIG. 4. Methyl Parathion (MP) concentration in Cambarellus montezumae tissue, in different developmental stages, from organisms collected at IRD during the rainy season. Numbers by the bar indicate the number of organisms assayed.

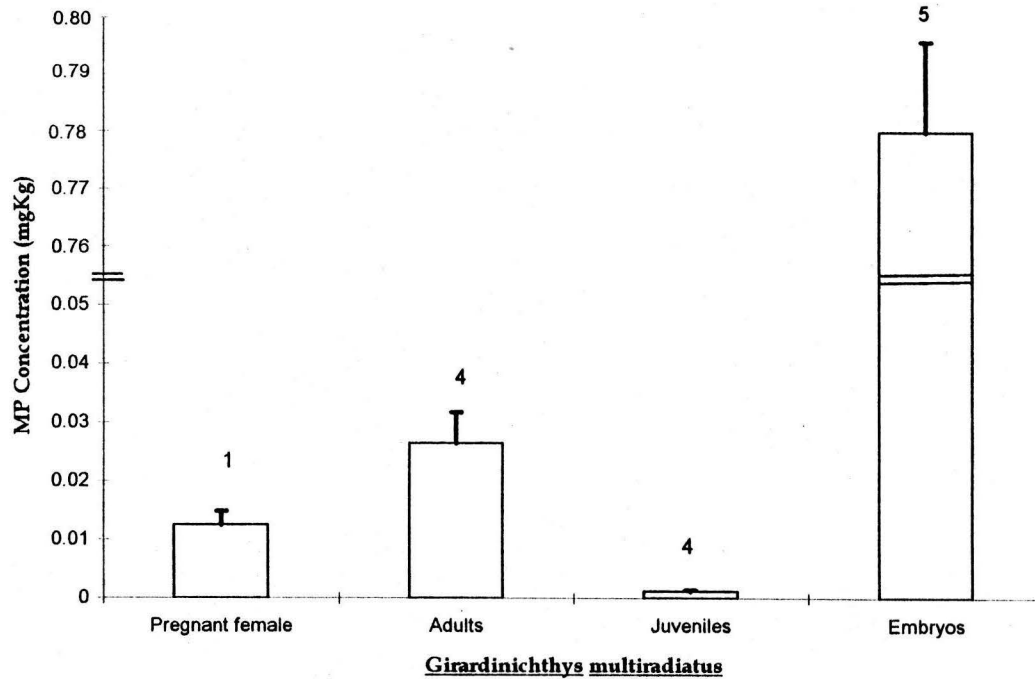


FIG. 5 Methyl Prathion (MP) concentration in Girardinichthys multiradiatus tissue in different developmental stages, from organisms collected at IRD during the rainy season. Numbers by the bar indicate the number of organisms assayed.

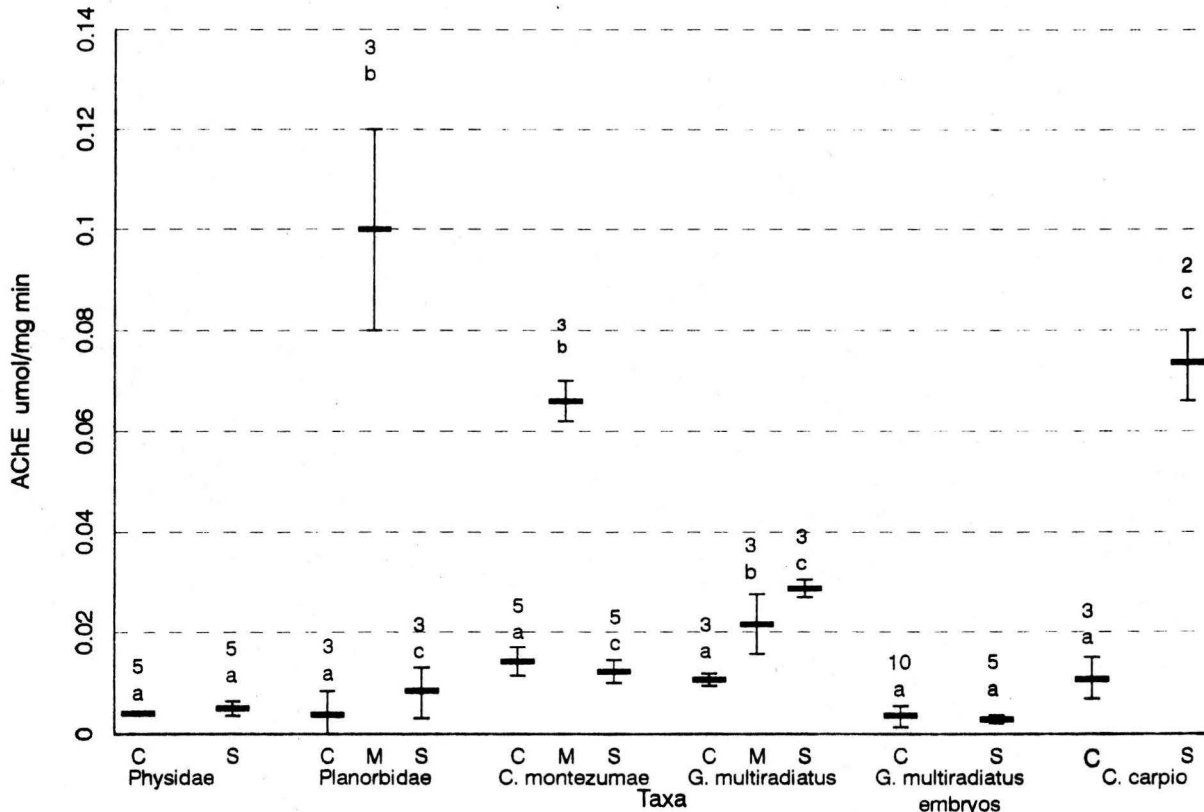


FIG. 6. Acetyl cholinesterase (AChE) activity in tissue of control organisms (C) and in organisms collected at IRD in May (M) and in September (S). Numbers by the bar indicate the number of organisms assayed; letters by the bar indicate the statistical significance (Friedman ANOVA), different letters indicate that the difference is significant ($P < 0.05$) between each sampling time and control organisms.

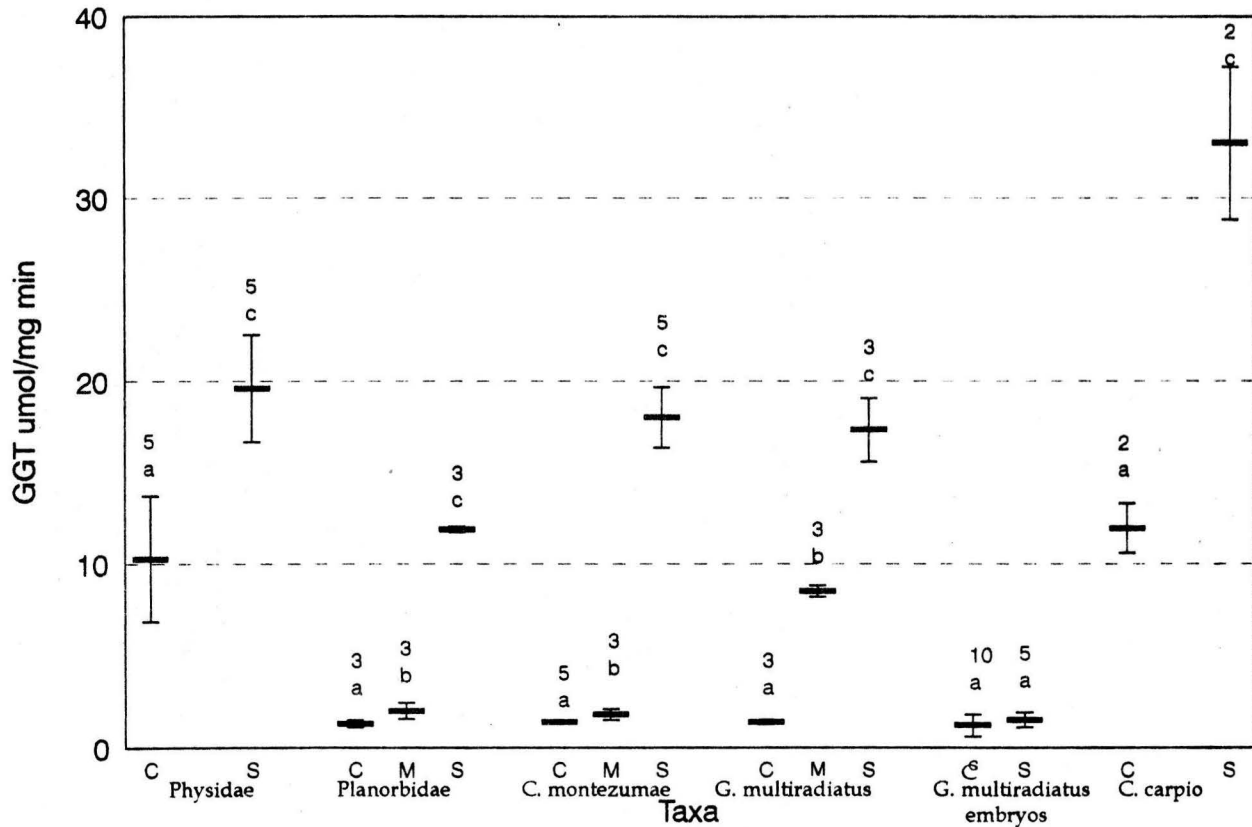


FIG. 7. Gamma Glutamyl Transpeptidase (GGT) activity in tissue of control organisms (C) and organisms collected in May (M) and in September (S). Numbers by the bar indicate the number of organisms assayed; letters indicate statistical significance (Friedman ANOVA), different letter is used when the statistical difference is significant ($P < 0.05$).

REFERENCES

- Assem H., Khalifa A., Bodawi H. K. (1989) Brain of the teost *clarias lazera* as indicator of water contamination by phenol or methanol. *Bull. Nat. Inst. Ocenogr. Fish Egypt* 15, 119-128.
- Beckert W., López Avila V. (1991) Standardisation of sample extract cleanup and analytical conditions for more efficient determination of organic pollutants. In Powlowski L., Lacy W., and Dlugosy J. (Eds.) *Chemistry for the Protection of the Environment Science Research*. Vol. 42 Plenum Press N. Y. 113-126.
- 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.
- Bohác J., Fuchs R. (1994) The structure of animal communities as bioindicators of landscape deterioration. In Jeffrey D. W. and Madden B. (Eds.) *Bioindicator and Environmental Management*. Academic Press Limited. 165-254.
- Boletín Hidrológico No 50 (1970) Cuenca del Río Lerma Hasta la presa Solís del Lago de Patzcuaro, del Río Grande de Morelia Hasta el Lago de Cuitzeo y de la Laguna de Yuriria. Tomo I y IV. Secretaría de Recursos Hidráulicos. Subsecretaría de Planeación. División General de Estudios. Dirección de Hidrología.
- Brown K. M. (1991) Mollusca, Gastropoda. In Thorp J., Covich A. *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*. Academic Press Inc. 285-314.
- Butler L. C., Staff D. C. and Davis J. E. (1981) Methyl parathion persistence in soil following simulated spillage. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.* 10, 107-130.
- CEC (1995) Commission for Environmental Cooperation. *Secretarial Report on Death of Migratory Birds at The Silva Reservoir (1994-1995)*. Prospectus Inc. Canada 86 p.

Chambers J. E., Chambers H. W. (1991) Biotransformation of Organophosphorus Insecticides in Mammals. in Somasendaram L., Coats J. R. (eds) Pesticide transformation products. Fate and significance in the Environment. American Chemical Society. Washington, 32-42.

De la Vega Salazar M., Martínez Tabche L., Díaz Pardo E. (1997) Methyl-Parathion impact on water, sediment and benthic macroinvertebrates from Ignacio Ramirez dam. Mexico. Submitted to Water Research. 29 p.

Díaz-Prado E., Godínez R. M., López L. E., Soto G. E., (1993) Ecologías de los peces de la cuenca del río Lerma, México. An. Esc. Nal. Cienc. Biol. 38, 103-127.

Farran A., De Pablo J., Barceló D. (1988) Identification of Organophosphorous insecticides and their hydrolysis product by liquid chromatography in combination with UV and thermospray spectrometric detection Journal of Chromatography 455, 163-172.

Fisher J. B. (1982) Effects of macrobenthos sediment diagenesis. In McCall P. and Tevesz M. (Eds.) Animal sediment relation. The biogenic alteration of sediments. Plenum Press N. Y. 177-217.

Freedman B. (1989) Environmental Ecology. The Impact of Pollution and Other Stresses on Ecosystem Structure and Function. Academic Press Inc. 424 P.

Fry F. E. (1978) The effect of environmental factors on the physiology of fish. in Hoar W., Randall D. (eds) Fish Physiology. Vol. VII. Academic Press, 1-97.

García M., Mourelle M. (1984) Gamma-glutamyl Transpeptidase, A sensitive marker in DDT and Toxaphene exposure. Journal of Applied Toxicology, 4, 246-248.

Glosmman M., Neville D. M. (1972) Glutamyl Transferase in Kidney brush border membranes. FEBS Lett 19, 340-344.

- Gluckman J. C., Barceló D., De Jong G. J., Frei R. W., Maris F. A., Brinkman U. A. (1986) Improved design and application of an on-line Thermionic Detector for narrow-bore liquid chromatography. *J. of Chromatography* **367**, 35-44.
- Hall R. L. (1985) Laboratory Evaluation of Liver Disease. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*. **15**, 3-19.
- Hassall K. A. (1990) The biochemistry and uses of pesticides Mc. Millan p.p. 82-120.
- Hestrin S. (1949) Reaction of acetylcholine and other carboxylic acids derivates with hidroxilamine and its analytical application. *J. Biol. Che.* **180**, 249-261.
- Hernández A., Lombardo R., Ferrari L., Tortorelli M. (1990) Toxicity of ethil parathion and carbaril on early development of Sea Urchin. *Bull. Environ. Contam. Toxicology* **45**, 734-741.
- Hobbs H. III. (1991) Decapoda. In Thorp J., Covich A. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. Academic Press Inc. 823-858.
- Howard, P. H. (ed). (1989) Handbook of environmental Fate and Exposure Data for Organic Chemicals, Vol III, Pesticides. Lewis Publishers, Chelsea, MI.
- INEGI (1994) Anuario estadístico del Estado de México. Instituto Nacional de Estadística e Informática.
- Keeley J. E. (1991) Interactive role of stresses on structure and function in aquatic plants. In Mooney H., Winner W. (eds). Response of plants to multiple stresses Academic Press Inc. 329-343.
- Kemp J. R., Wallace B. K. (1990) Molecular determinants of the species-selective inhibition of Brain Acetylcholinesterase. *Toxicology and Applied Pharmacology* **104**, 246-258.

Larsson P. (1994) Interrelationship between eutrophication and effects of pollutants. In Bot H., Hellman B., Dencker L. (eds) Archives of Toxicology. Supplement 16. Eurotox Proceedings, 21-31.

Marrs K. (1996) The functions and regulation of Glutathione S-transferases in plants. In. Rusell J., Ville C. Walbot V. (eds). Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 47, 127-158.

Martinez M. (1979) Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. F. C. E.

Martínez M., Matud E. (1979) Flora del Estado de México Tomo III. Biblioteca enciclopédica del Estado de México.

Mc Call P. L., Tevesz M. J. (1982) The effects of benthos on Physical Properties of Freshwater Sediments. In McCall P. and Tevesz M. (Eds.) Animal sediment relation. The biogenic alteration of sediments. Plenum Press N. Y., 105-176.

Meister R. (ed) (1992) Farm Chemicals Handbook'92. Meister Publishing CO. Willoughby, OH.

Moriarty F. (1983) Ecotoxicology. The Study of Pollutants in Ecosystems. Academic Press Inc. 380 p.

Moss B. (1992) Ecology of Fresh Waters. Man and Medium. Blackwell Scientific Publications 417 p.

Nabawi EL A., Heinzow B., Kruse H. (1987) Residue levels of Organochlorine chemicals and polychlorinated biphenyls in fish from the Alexandria region, Egypt. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 16, 689-696.

OMS (1993) Plaguicidas y salud en las Américas. Organización Panamericana de la Salud, OMS División de salud y Ambiente. Washington D. C. Serie ambiental No 12.

Rastogi A., Kulshrestha S. (1990) Effect of sublethal doses of three pesticides on the ovary of a carp minnow Rasbora daniconius. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 45, 742-749.

- Rzedowsky J., Rzedowsky G. C. (1985) Flora Fanerogama del Valle de México V-II. Instituto de Ecología- Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México. p 674.
- Sanz P., Repetto M. (1995) Implicaciones toxicológicas de las enzimas colinesterasas. En Repetto M. (ed) Toxicología avanzada Ediciones Díaz de Santos España. p.p. 117-144.
- Schaeffer D. J. (1991) A toxicological perspective on ecosystem characteristics to track sustainable development. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **22**, 225-239.
- Stan H. J. (1989) Application of capillary gas Chromatography with Mass Selective Detector to pesticide analysis. *Journal of Chromatography*. **467**, 85-98.
- Sprinthall R. (1990) Basic Statistical Analysis. Prentice-Hall, Inc. N. J. 468 P.
- Yang Ch., Dwyer T. M., Mohan P., Ho Y., Farley M. (1990) Down-regulation of Muscarinic Receptors in the striatum of Organophosphate-Treated Swine. *Toxicology and Applied Pharmacology* **104**, 375-385.
- Wilson A., Bushway R. J. (1981) High-performance liquid chromatographic determination of azinphos methyl and azinphos methyl oxon in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography*. **214**, 140-247.

DISCUSION GENERAL

Además de las descargas agrícolas, la presa Ignacio Ramírez recibe las aguas negras municipales no tratadas, por lo que no es de sorprender el estado altamente eutrófico de la presa. Además las características limnológicas de los cuerpos de agua embalsados y en condiciones de eutroficación permiten que se establezcan condiciones que son favorables para la acumulación de sustancias tóxicas, tales como el MP, como son; la excesiva sedimentación, bajas concentraciones de oxígeno disuelto, disminución del pH, (principalmente en el fondo), y aguas muy turbias que limitan la penetración de la luz.

Por las ineficientes prácticas agrícolas, los cuerpos de agua pueden ser fácilmente contaminados con insecticidas. Las características específicas de éstos pueden evitar la degradación de compuestos que pueden ser considerados poco persistentes o "seguros" en sistemas terrestres, como ocurre con el MP, y permanecer por tiempos prolongados en los sistemas dulceacuícolas.

La acumulación de contaminantes en el sedimento es importante para determinar la calidad del agua, ya que los compuestos químicos acumulados en el sedimento pueden ser liberados de éste por el movimiento del agua o por la actividad de los organismos bénticos. Ya que el MP y el 4-NF se acumulan a elevadas concentraciones en el sedimento, la fauna béntica es muy importante ya que por sus actividades asociadas al sedimento (construcción de madrigueras, locomoción, alimentación etc.), están expuestos al insecticida, y pueden favorecer su liberación del sedimento, aumentando su concentración en el agua y permitiendo que estén biodisponibles para todos los organismos de la presa.

Los organismos que habitan la presa, además de estar expuestos a sustancias tóxicas, están en condiciones ambientales, como son la disminución oxígeno disuelto y los fuertes cambios en la concentración de sales en las diferentes temporadas, que exigen adecuaciones

fisiológicas en respuesta a la variación del medio ambiente, que favorecen la bioconcentración del MP, por lo que para conocer los efectos ecotoxicológicos de los contaminantes en organismos acuáticos, el medio ambiente debe ser tomado en consideración.

Por su fisiología y la interacción con su medio ambiente, los organismos acuáticos pueden bioacumular concentraciones muy altas de contaminantes, por lo que medir la disponibilidad del contaminante y la bioacumulación en los organismos, así como los efectos biológicos que producen, son importantes para conocer el efecto ecológico de la contaminación de los cuerpos de agua con insecticidas organofosforados.

La concentración del MP en sedimento y la bioconcentración del MP en el tejido de los organismos, aumenta el tiempo que permanece el insecticida dentro del sistema, por lo que el MP puede considerarse un compuesto persistente en cuerpos de agua.

Ya que no se conoce la capacidad que tienen los cuerpos de agua en acumular sustancias como el MP en sedimento, el efecto de los insecticidas organofosforados puede tener impacto en los sistemas a largo plazo, desconocidos pero potencialmente serios, como ocurrió con los insecticidas organoclorados en décadas pasadas. Para evitar esto es necesario mejorar las prácticas de cultivo, controlar los desechos que puedan contaminar el cuerpo de agua, tomar medidas para reducir la erosión del suelo, disminuir el uso de insecticidas a través de prácticas alternativas, y evitar en lo posible la introducción de especies como las carpas que son potentes removedores del sedimento.

A pesar de que el MP produce efectos tóxicos en los organismos que habitan la presa, es difícil predecir exactamente el daño ecológico que produce el MP, ya que no se conoce el efecto que la exposición prolongada del MP tiene en el éxito reproductivo de las especies afectadas, o si están adquiriendo alguna resistencia que estén transmitiendo a su descendencia, y les permita sobrevivir aun a concentraciones elevadas del insecticida.

Los contaminantes, frecuentemente están presentes en agua a concentraciones muy bajas no letales, pero por las características del medio, así como las características fisiológicas y ecológicas de los organismos favorecen la bioconcentración, y pueden ser letales o producir mal funcionamiento de los organismos. Los efectos subletales pueden ser observados a nivel bioquímico fisiológico, afectando el desarrollo o ciclo de vida de los organismos. La muerte es siempre precedida por síntomas menores o mal función, pero no siempre un mal funcionamiento culmina con la muerte y es de mayor importancia en ecología la cantidad y frecuencia a la cual las plantas y animales pueden sobrevivir al impacto de los contaminantes, es razonable decir que cualquier efecto que disminuye la habilidad de un organismo de responder a su medio ambiente, puede disminuir el éxito reproductivo de las especies.

Ninguna concentración de contaminante, por muy baja que sea, puede ser considerada como segura en un cuerpo de agua, ya que las características fisicoquímicas particulares de estos sistemas así como la fisiología de los organismos estudiados, permiten que se bioconcentren en cantidades elevadas.

La PIR es importante para las poblaciones que se localizan a su alrededor, ya que las especies nativas de peces y acociles, y la carpa, constituyen una fuente importante de alimentación, y el 4-NF está presente en agua a concentraciones mucho mayores que las que se recomiendan como seguras para su consumo, por lo que la contaminación por insecticidas además del potencial daño ecológico, puede representar un riesgo para la salud de éstas poblaciones, ya que es conocido el efecto carcinogénico, mutagénico y teratogénico de éste insecticida.

La PIR es un ecosistema altamente contaminado por lo que se requiere de la concientización de los habitantes de la región y del esfuerzo de las autoridades para controlar las fuentes de contaminación y mejorar la salud de éste ecosistema, que pone en peligro la supervivencia de las especies endémicas que alberga.