



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

EFECTO DEL PLAGUICIDA MALATIÓN SOBRE EL  
CRECIMIENTO POBLACIONAL DE *Brachionus*  
*calyciflorus* y *Plationus patulus* (ROTIFERA)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIOLOGO

P R E S E N T A:

AURORA MARTÍNEZ TÉLLEZ



DIRECTOR DE TESIS:  
Dr. Singaraju Sri Subrahmaya Sarma

Mayo, 2012



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## *DEDICATORIA*

### *A mi MADRE...*

María Téllez Santiago, por ser el mayor ejemplo para mí, de tenacidad y lucha, porque no te rendiste en los momentos difíciles, al contrario, luchaste con mayor fuerza y lograste seguir adelante, superando todos los obstáculos que te colocó la vida. Hoy madre, tu esfuerzo rindió frutos y agradezco infinitamente tu apoyo, porque sin ti no hubiese llegado hasta donde estoy ahora.

Muchas gracias por enseñarme que el éxito se alcanza mediante esfuerzo y dedicación; por tu confianza, por compartir conmigo triunfos, fracasos, alegrías y tristezas; por las discusiones que tuvimos y por esos momentos felices que quedarán guardados en la memoria. Este logro también es tuyo, porque me alentaste a lograr una meta más en mi vida y a pesar de la distancia siempre estuviste conmigo, pero sobre todo GRACIAS por tu amor incondicional.

### *A mi PADRE...*

Froylán Martínez Ceballos, porque me enseñaste que: “el que es perico donde quiera es verde”, por infundirme el gusto por el estudio y a ser responsable; por siempre preguntarme ¿qué vas a ser de grande? y darme tus sugerencias y comentarios, sí que eran interesantes esas pláticas contigo.

Por desgracia te adelantaste en el camino, sin embargo, donde quiera que estés, te agradezco por haberme brindado una infancia feliz, al tener a mis padres juntos en las

buenas y en las malas y por haber sido un motivo de superación. GRACIAS porque a pesar de no estar conmigo físicamente sé que siempre estuviste y estarás a mí lado cuidándome...

### *A mis hermanos...*

Julio César y Miguel Ángel, porque me han dado su cariño y amistad y sobre todo me han apoyado en las decisiones que he tomado en mi vida... GRACIAS por que con ustedes pasé una de las etapas más bonitas, la infancia; por ceder, en ocasiones, a mis caprichos y por permitirme aprender de ustedes. Estoy segura que estaremos siempre juntos para apoyarnos.

### *A mis abuelitas...*

Guti y †Mari por haberme dado la oportunidad de tener unos padres maravillosos; por enseñarme valores y contarme sus historias tan entretenidas, fui tan afortunada de convivir con ustedes, las quiero mucho.

### *A las Tías y Kuate...*

Berna y Soco, por confiar en mí, brindarme su apoyo y ayuda a lo largo de todo este tiempo y motivarme a seguir estudiando. Ya en el transcurso de la licenciatura por sus desvelos, sus licuados, por enseñarme a comer sanamente, sus regaños, sus palabras de aliento, despertarme con música clásica, preocuparse por mí, por fungir

como madres en todo este tiempo, no tengo como pagarles todo lo que han hecho por mí...Gracias infinitas.

Kuate, por tus largas horas de charla y escucharme cuando te lo pedí, ¿Qué sería de mí sin tus malos consejos?, gracias por compartir aventuras muy padres en bici, por “sacrificarte” al ir a conciertos y mostrarme lugares que si no fuera por ti nunca hubiese conocido; por permitirme acceder a tu compendio musical, a tus historias, exposiciones, obras, en fin, ser el tío que todos quieren tener, pero sobre todo, gracias por ser como un amigo para mí.

## *AGRADECIMIENTOS*

A la máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México, por la educación de excelencia otorgada y darme la oportunidad de ser parte de ella orgullosamente.

A la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, que contribuyó a mi formación en cada una de sus aulas y con cada uno de sus docentes, porque además de adquirir conocimientos, aprendí lo que es la verdadera amistad.

A mi director de tesis, el Dr. S.S.S. Sarma, por su ayuda, orientación, paciencia y apoyo otorgado para la realización y finalización de esta tesis. Así mismo agradezco sus anécdotas e historias tan interesantes que me ayudaban a comprender definiciones y conceptos a lo largo de toda mi estancia en su laboratorio.

A mis sinodales: La Dra. Nandini Sarma, el Dr. Pedro Ramírez García, el Dr. José Luis Gama Flores y la Dra. Elvia Lucia Pavón, por sus consejos y tiempo dedicado durante la revisión de este trabajo. Sus aportaciones y puntos de vista fueron importantes para enriquecer y mejorar este trabajo.

Al proyecto PAPIIT IN221111 de la Dirección General de Asuntos de Personal Académico (DGAPA), de la UNAM por el apoyo otorgado.

A mis compañeros de zoología acuática: Ady y Giselita, su amistad dentro y fuera del laboratorio fue, es y será muy importante para mí. Claudia, Esmeralda, Brenda, Rosita César, Michael, Meztli, Zaida, gracias por su compañía, por mantenerme al tanto de cualquier información y por las horas de cotorreo que hicieron más ligero y

ameno el trabajo de laboratorio. Diego y Jorge, gracias por ayudarme en la identificación de mi especie y sobre todo por su amabilidad.

Quiero hacer un agradecimiento especial a Cristian Espinoza y a Rocío Fernández, por sus consejos y sugerencias, ya que sin su valiosa ayuda no se hubiese podido concretar este trabajo y sobretodo mil gracias por su amistad.

A mis amigos y compañeros de siempre que me han apoyado y que en momentos difíciles han demostrado que están conmigo. Sin importar el orden de aparición quiero agradecerles por darme momentos de alegría y hacer de esta etapa algo inolvidable.

Empezamos desde que puse un pie en Iztacala, a pesar de solo haber convivido un año con ustedes créanme que los recordaré: Jalex, Dianita, Maricela, Nayeli, Aleida, Yesica, Iván, Alejandro, Ximenita, gracias por ser mis compañeros de aventuras en lugares fantásticos del país.

El destino me colocó en el lugar donde podría encontrarlos, para conocer el verdadero significado de la amistad, GRACIAS: Adán, Pao, Alejandra, Liz, Sarita, Ricardo (“Wapo”), Ricardito, Daniel, Javier (“Pelón”), Chavita, Aldo... Por ser mis amigos incondicionales, compartir momentos muy hermosos y sobre todo por estar conmigo cuando más los necesité, por escucharme y siempre tener palabras de aliento para seguir adelante y hasta hoy siguen junto a mí.

Y cómo olvidar a todas aquellas personas tan lindas y amables que conocí a lo largo de la carrera: Anita, Ivonne, Arratia, Dario, Millan, Galeno, Victor, Flaco, Julio, Julianita, Marilu, Jessy, Mary, Isis, Rosaura, Jon, Isaac, Andy, Luis Alain, Miri, Cesarín, Neyli, los compañeros de “rodadas” entre muchos otros.

Por último a quienes fueron , son y serán mis amigas, por su apoyo, fuerza y esperanza en los momentos más divertidos y no tan divertidos de ésta y otras etapas de mi vida: Zuly, Asvany, Betsy y Gaby.



## INDICE

<b>Resumen</b>	<b>1</b>
<b>Introducción</b>	<b>2</b>
<b>Antecedentes</b>	<b>14</b>
<b>Justificación</b>	<b>18</b>
<b>Hipótesis</b>	<b>19</b>
<b>Objetivos</b>	<b>19</b>
<b>Materiales y Métodos</b>	<b>20</b>
<b>Resultados</b>	<b>28</b>
<b>Discusión</b>	<b>38</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>46</b>
<b>Referencias</b>	<b>47</b>

## RESUMEN

El uso de sustancias sintéticas en el control de plagas de insectos para proteger cultivos y cosechas ha incrementado en los últimos años, entre los químicos más utilizados encontramos al malatión, ampliamente usado en México; sin embargo, su uso indistinto y excesivo ha ocasionado efectos negativos en el ambiente acuático. Existen registros sobre contaminación por plaguicidas en los cuerpos de agua, afectando al fitoplancton, zooplancton y otros organismos acuáticos. Entre los diferentes grupos de zooplancton, los rotíferos son importantes en términos de abundancia y/o diversidad. Los rotíferos de la familia Brachionidae son usados como organismos de bioensayo para evaluar el efecto de plaguicidas y elementos potencialmente tóxicos en los sistemas acuáticos. En este trabajo se evaluó el efecto tóxico del pesticida malatión sobre el crecimiento poblacional de dos especies de rotíferos *Brachionus calyciflorus* y *Platyonus patulus*. Se usaron siete concentraciones (0 (= control) a 25 mg l<sup>-1</sup>) de malatión y para cada tratamiento se utilizaron tres repeticiones. Los experimentos se realizaron en 25 y 20 ml del medio, con una densidad inicial de 1 ind. ml<sup>-1</sup> de *B. calyciflorus* y *P. patulus* por separado; con una duración de alrededor de dos semanas. Las densidades máximas, más altas fueron obtenidas por los controles con 6 y 15 ind. ml<sup>-1</sup>, de *B. calyciflorus* y *P. patulus*, respectivamente. Dependiendo la concentración de malatión, la tasa de crecimiento poblacional de los rotíferos variaron de 0.02 a 0.38 y 0.2 a -0.7 d<sup>-1</sup> para *B. calyciflorus* y *P. patulus*, respectivamente. En conclusión las tasas de crecimiento poblacional de ambas especies de rotíferos disminuyeron significativamente al incrementar las concentraciones de malatión en el medio. Los resultados se discutieron en relación con los límites de concentración segura establecidas por la comunidad Europea.

## **INTRODUCCIÓN**

El desarrollo de la agricultura en México ha propiciado en los últimos años, el uso de plaguicidas para proteger cultivos y cosechas de una gran variedad de plagas de insectos; aunque también son empleados en programas de salud pública, en la industria (forestal y pecuaria) y en la jardinería (Restrepo, 1992). Cabe destacar, que la aplicación intensiva de estas sustancias sintéticas se inició en 1948, con la introducción de plaguicidas organoclorados, posteriormente se agregaron diversos plaguicidas organofosforados, herbicidas y fungicidas para el cuidado de la producción agrícola (Botello, 2005).

No obstante, a pesar de la importancia económica de estos productos, su indiscriminada aplicación sin control está ocasionando cambios en la estructura del ecosistema por el deterioro de la flora y fauna; contaminación del suelo, mantos freáticos y aguas continentales; así como la generación de plagas resistentes (Klaasen, 1999). Es importante destacar que la superficie dedicada para la agricultura en México es de aproximadamente 23 millones de hectáreas, es decir, el 12% de la superficie total del país (Albert, 2005), lo que sugiere que el impacto que los plaguicidas tienen en los cuerpos de agua, por ser receptores finales, es muy significativo.

La denominación de plaguicida, incluye una amplia variedad de productos muy diferentes en su composición y propiedades a pesar de su utilización común. De acuerdo con la definición de la FAO (Food and Agriculture Organization, por sus

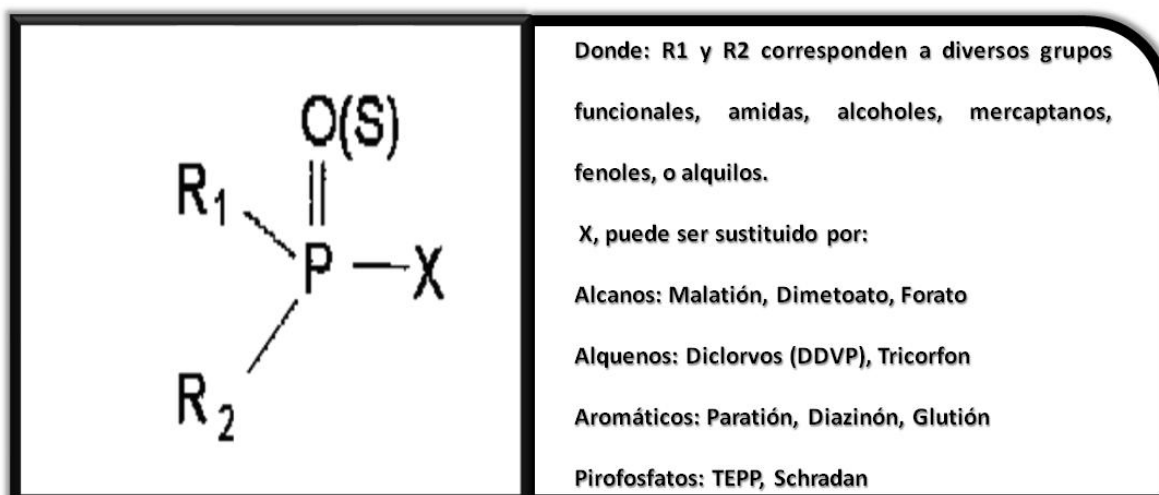
siglas en inglés) plaguicida se refiere a cualquier sustancia o mezcla destinados a repeler, destruir o controlar cualquier plaga; el término incluye sustancias aplicadas a cultivos antes y después de la cosecha para proteger el producto de su deterioro durante el almacenamiento y transporte (LGS, 2012).

Los plaguicidas son de naturaleza química muy diversa, por lo que pueden clasificarse en función a: a) su estructura y composición química, como plaguicidas organoclorados, organofosforados o carbamatos; b) su actividad biológica, por el tipo de organismo que se desee controlar; c) su toxicidad, como extrema, alta, moderada y ligeramente peligrosa y d) su persistencia en el ambiente, como poca, moderada y altamente persistentes (CICOPLAFEST, 2004).

Los plaguicidas organoclorados tienen baja solubilidad en agua y elevada solubilidad en la mayoría de los disolventes orgánicos, también tienen baja presión de vapor, alta estabilidad química y una notable resistencia al ataque de microorganismos (Cal y Liang, 1995). Estas características físicoquímicas influyen en su gran persistencia en el ambiente y en su alta tasa de bioacumulación, por ello su uso como plaguicidas ha sido restringido (Wong *et al.*, 1995) e incluso reemplazados por sustancias como los derivados orgánicos del ácido fosfórico y carbónico (organofosforados y carbamatos), que son fácilmente degradables con acumulación esporádica en la cadena trófica y una persistencia menor; sin embargo, la desventaja que presentan es que tienen una toxicidad aguda mayor que la de otros grupos de plaguicidas (CICOPLAFEST, 2004).

La gran familia de plaguicidas que constituyen los organofosforados se caracteriza por ser ésteres derivados del ácido fosfórico, que pueden tener un grupo fosforil (P=O) ó tiofosforil (P=S) (Perry *et al.*, 1998) y dependiendo de la sustitución de sus radicales, se producen especies químicas (Figura 1).

El grupo X, es el átomo que es desplazado del compuesto organofosforado cuando es hidrolizado o al interactuar con la enzima acetilcolinesterasa (AChE), su proteína blanco (Sogorb y Vilanova, 2002).



**Figura 1.** Estructura química de los organofosforados

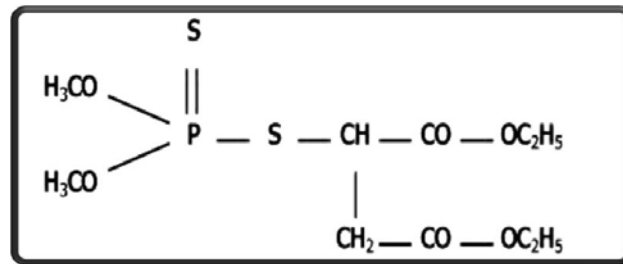
Los organofosforados tienen la capacidad de inhibir la acetilcolinesterasa, enzima que ejerce su acción sobre los niveles del neurotransmisor acetilcolina (ACh), catalizando la hidrólisis a colina y acetato (Sogorb y Vilanova, 2002). La inhibición de la (AChE), se realiza por un proceso de fosforilación en el grupo

hidroxilo de la serina presente en el sitio activo de la enzima (WHO, 1986). Es decir, el compuesto organofosforado inhibe la actividad de la acetilcolinesterasa uniéndose a la enzima en el sitio preciso, en donde debería unirse la molécula de acetilcolina para ser hidrolizada, como resultado la enzima en vez de acetilarse queda fosforilada, interrumpiendo que se degrade la (ACo), por lo que ésta se acumula en las terminaciones del sistema nervioso central y periférico ocasionando alteraciones en la transmisión neuromuscular (Moutschen-Dahmen *et al.*, 1984).

Los organofosforados que tienen un grupo tiofosforil (P=S), son débiles inhibidores de la AChE; sin embargo, al descomponerse en sus análogos de oxígeno correspondiente (oxón), se activan convirtiéndose en potentes inhibidores (Sultatos, 1994). La toxicidad de los derivados fosfóricos guarda una estrecha relación con la naturaleza de los sustituyentes (estructura química), llegando a manifestar una acción nociva desde concentraciones bajas (Fores y Comin, 2004)

Algunos plaguicidas organofosforados son el diazinon, el monocrotofos, malatión, paratión, el metil paratión y el fosfodrín, de éstos el malatión es conocido por ser tóxico para los peces y otros organismos (CICLOPLAFEST, 2004).

El malatión, es uno de los plaguicidas más utilizados en el sector de la agricultura y el hogar para el control de un amplio espectro de invertebrados (Martínez-Tabche, 2002; Albert, 2005) su nombre químico y fórmula es dietil (dimetoxitiofosforiltio) succinato,  $C_{10}H_{19}O_6PS_2$  (Faria *et al.*, 2010) (Figura 2).



**Figura 2.** Estructura del malatión

En estado puro es un líquido que va del incoloro al ámbar; con alta liposolubilidad; tiene un olor característico a zorrillo o ajo (asociado a la liberación de compuestos sulfhidrilos); un peso molecular de  $330\text{-}358\text{ g mol}^{-1}$  (Mackay, 2006) y con una solubilidad de  $145\text{ mg l}^{-1}$  a una temperatura de  $20\text{ a }23^\circ\text{ C}$  en agua (Cheminova, 1988; Tomlin, 2006).

Tiene poca persistencia en los sistemas de agua, debido a la hidrólisis (Martínez-Tabche, 2002). La vida media en el agua es de 17.4 días a un pH de 6.0 y de 1.65 días a un pH de 8.16 (Wang, 1991); en ambientes aerobios es de 3 a 24 días, pero en ambientes anaerobios se extiende de 68 a 223 días (Bondarenko y Gan, 2004). Como un punto de referencia, las comunidades naturales de agua dulce por lo general poseen intervalos de pH 5 a 8 (Relyea y Hoverman, 2008).

El modo de acción del malatión, es unirse a la enzima acetilcolinesterasa en las terminaciones nerviosas de los organismos como mamíferos, anfibios, peces, reptiles, aves y en los invertebrados (Massoulie y Bon, 1982; Relyea, 2004),

provocando la acumulación de acetilcolina y dando lugar a una sobre estimulación del sistema nervioso (Reigart y Roberts, 1999).

La contaminación directa o indirecta del agua a causa de los plaguicidas, se produce por aplicaciones en forma líquida o sólida en los cultivos agrícolas. Al esparcir el plaguicida, éste cae sobre la plantación, sin embargo, no todo el producto que se aplica alcanza su objetivo y sólo una parte es absorbida; después de la aplicación el 65% del producto se deposita en el follaje del cultivo, el 15% se dispersa en el aire y 20% cae al suelo (Planes y Carero, 1995). Estando en el suelo, puede pasar a aguas superficiales y subterráneas, cercanas a las zonas de aplicación, por lixiviación o percolación, sufriendo transformaciones químicas o biológicas que pueden producir metabolitos más o menos tóxicos al compuesto original (Yanggen *et al.*, 2003) dependiendo del pH, temperatura y salinidad del medio (Ferrero *et al.*, 2001).

Los plaguicidas, como cualquier otra sustancia tóxica, al incorporarse en los ecosistemas acuáticos, entran en contacto con los organismos presentes y pueden provocar efectos, dependiendo de la concentración, a nivel de organismo, como muerte directa por exposición al agua contaminada, retraso en el crecimiento, alteraciones metabólicas, acumulación de residuos y desarrollo de resistencia o tolerancia a tóxicos; en cuanto a nivel de comunidad, podrían afectar la abundancia y diversidad de las especies, favorecer el desarrollo de algunas poblaciones ante la ausencia de competencia de otras afectadas, alterando la



productividad de las comunidades y la estabilidad de las cadenas tróficas, resultando en un desequilibrio del sistema (García, 1997; Hanazato, 1998; Preston *et al.*, 1999).

Existen reportes donde se asegura que el malatión, es más tóxico para algunos peces, cladóceros, anfípodos de agua dulce, decápodos marinos, larvas de artrópodos acuáticos y fitoplancton, que para las larvas de los mosquitos, a quienes va dirigido el efecto. Además, disminuye las poblaciones de las ostras y los ostiones de agua dulce *Anodonta cygnea*, del cladóceros *Moina micrura* y del copépodo *Cyclops vernalis*; también elimina las poblaciones del copépodo *Diaptomus pallidus* y del rotífero *Asplanchna brightwellii*. Estos efectos se observaron para concentraciones aplicadas en campo en un rango que va de 360 mg ha<sup>-1</sup> a 560 g ha<sup>-1</sup> y al ser aplicados directamente al medio acuático el rango de concentración del malatión, fue de 0.01 a 0.32 mg l<sup>-1</sup> (Mulla *et al.*, 1979; Mulla y Mian, 1981).

Por otro lado, algunos experimentos en mesocosmos acuáticos han documentado el impacto de malatión en la diversidad biológica y productividad de las comunidades. A corto plazo (dos semanas) de exposición al tóxico a una concentración de 0.32 mg l<sup>-1</sup>, se reduce el 30% de la riqueza de especies presentes en el mesocosmo, en cuanto a los efectos directos e indirectos del plaguicida sobre el zooplancton, se eliminan los cladóceros y se propicia el incremento de la abundancia de los copépodos, lo que provoca que el fitoplancton

aumente, ya que por lo general los copépodos no pueden consumir las pequeñas algas que son consumidas por los cladóceros (Relyea, 2005). También se ha reportado una alteración en la estructura de las comunidades acuáticas y en la relación depredador-presa tras la exposición a malatión en concentraciones de 0.25, 0.50 y 1.00 mg l<sup>-1</sup>, resultando que el zooplancton disminuye su diversidad y abundancia, provocando un aumento de fitoplancton y una disminución del perifiton (Relyea, 2008).

Sin embargo, algunos organismos pertenecientes a los grupos de los moluscos, las plantas, los mamíferos y las aves, son capaces de tolerar pequeñas dosis de malatión sin tener algún cambio en su estructura. (Mulla y Mian, 1981; Tomlin, 2006)

El efecto de los contaminantes en los organismos se valora mediante pruebas controladas de laboratorio conocidas como bioensayos, los cuales consisten en medir la toxicidad de los contaminantes, sometiendo deliberadamente a algún ser vivo a distintas concentraciones de éstos (Elissa *et al.*, 2003; Moreno, 2003).

Los bioensayos de corta duración son útiles para establecer comparaciones entre contaminantes y evaluar el impacto de una toxicidad aguda, ya que el estímulo empleado es de una severidad suficiente para ocasionar una respuesta rápida, si bien, la mortalidad es el punto final en este tipo de pruebas, es común que existan otras manifestaciones de efectos tales como el desequilibrio y la inmovilización (García, 1997). Para interpretar el efecto de las sustancias sobre los

organismos, éstas son evaluadas por medio de la  $LC_{50}$  con la cual se determina la concentración de la sustancia tóxica, capaz de matar el 50% de la población expuesta (Buikema *et al.*, 1982).

Los bioensayos a largo plazo utilizados para evaluar un efecto crónico, muestran la influencia que ejercen diversas variables físicoquímicas en la toxicidad de las sustancias y permiten evaluar la sensibilidad relativa de especies importantes a bajas concentraciones denominadas subletales (insuficientes para causar la muerte instantánea); por ser un estímulo lento y continuo, en este tipo de pruebas se aplica el tóxico durante una parte o todo el ciclo de vida de la especie (Buikema *et al.*, 1982).

Las pruebas de toxicidad crónica a nivel de población arrojan información acerca de la sobrevivencia, la tasa de mortandad, la máxima densidad y la tasa de crecimiento poblacional en relación a las concentraciones de tóxico en el medio, ya que los efectos tóxicos no detectables en el nivel de individuo, pueden ser amplificados en una población (Halbach, 1984). Los organismos utilizados se caracterizan por responder en formas cuantificables a perturbaciones o cambios en el ambiente (Hellawell, 1986), estos se elijen considerando su distribución geográfica, importancia ecológica y económica, la duración de sus ciclo de vida, su talla máxima, así como su sensibilidad (O' Connor, 1994; Espina y Vanegas, 1996).

En la actualidad se reconoce que la toxicidad de un xenobiótico (compuesto cuya estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente debido a que son compuestos sintetizados por el hombre) debe evaluarse en un espectro de organismos que comprendan diferentes niveles tróficos acuáticos para determinar la naturaleza peligrosa de un compuesto (Centeno *et al.*, 1993); entre estos organismos se encuentran los pertenecientes al plancton (Snell y Janssen, 1995; García, 1997; Sarma, 2000 a). En el zooplancton existe una amplia diversidad de organismos que sirven como indicadores de la contaminación debido a su amplia distribución, alta diversidad y por ser sensibles indicadores de los cambios ambientales (Sarma, 1991); éstos se agrupan en: cladóceros, copépodos y rotíferos principalmente (Wetzel, 2001)

El determinar el impacto que están ocasionando los contaminantes en el ambiente a través de bioensayos de toxicidad, como pruebas complementarias a los análisis fisicoquímicos, nos permite contar con una visión más completa acerca de los efectos contraproducentes sobre factores bióticos y abióticos en los ecosistemas. Estas pruebas de toxicidad han sido ampliamente utilizadas desde hace varios años en otros países donde forman parte de su normatividad ambiental y su uso ha significado avances importantes para la protección del ambiente; pero los bioensayos no pueden aplicarse de manera universal, ya que se debe considerar, para la elección del organismo, características propias de la diversidad biológica del país donde se realiza la prueba (Callow, 1993).

En México, se ha adoptado a *Daphnia magna* como organismo de bioensayo por ser aceptada en la comunidad científica internacional, pero al ser una especie introducida, no se encuentra fácilmente en todos los cuerpos de agua tropicales y por esta razón, en los últimos años se ha implementado el uso de algunos rotíferos, para llevar a cabo pruebas de toxicidad, al ser organismos representativos y comunes en los cuerpos de agua nacionales (Sarma, 2000 a).

Halbach (1984) fue el primero en recomendar el uso de la dinámica poblacional de los rotíferos para detectar y cuantificar efectos nocivos de sustancias xenobióticas; también se ha reportado que los rotíferos, por responder rápidamente a cambios en la calidad del agua y ser capaces de percibir bajas concentraciones de elementos contaminantes, son excelentes para llevar a cabo evaluaciones ecotoxicológicas (Snell y Janssen, 1995).

Los rotíferos tienen una distribución cosmopolita, son organismos eutélicos, presentan alta diversidad; tienen cuerpo transparente y son partenogénicos, asegurando el éxito de cultivos masivos y la fácil clonación (Seale *et al.*, 1993; Wallace *et al.*, 2006); aunque algunas de estas características también las podemos encontrar en los cladóceros (Sarma y Nandini, 2006 ), las pruebas de toxicidad con rotíferos se facilitan por presentar tasas de crecimiento muy altas (~1 por día o menos para duplicarse poblacionalmente), tener tamaño pequeño y ser de fácil manipulación para contarlos ( $\leq 200\mu\text{m}$ ).

En sistemas de agua dulce, los rotíferos desempeñan una función importante en los procesos ecológicos, al integrarse dentro de las cadenas tróficas como consumidores primarios, regulando la abundancia del fitoplancton (Gilbert y Bogdan, 1984), del detritus y de bacterias (Dumont, 1977); son responsables de la productividad secundaria de cualquier sistema acuático y son fuente de alimento vivo para muchos depredadores como larvas de crustáceos y peces (Khadka y Rao, 1986); así como de cladóceros y copépodos, ésto significa que se convierten en eslabones fundamentales entre los productores primarios (fitoplancton) y los consumidores secundarios (peces). Además son buenos indicadores de los cambios ambientales (Sládeček, 1983) por mostrar respuestas rápidas a causa de la permeabilidad del integumento, cutícula delgada y flexible que se extiende sobre la hipodermis del rotífero (Margalef, 1983; Rao y Sarma, 1990).

Especies del género *Brachionus* han sido aceptadas por la Sociedad Norteamericana de Pruebas y Materiales (ASTM) como organismos de bioensayo para evaluar el efecto de elementos potencialmente tóxicos en los sistemas acuáticos (APHA, 1998). En México se destaca el uso de *Brachionus calyciflorus* y *Plationus patulus* (anteriormente reconocido dentro del género *Brachionus*) para llevar a cabo pruebas ecotoxicológicas, por ser abundantes en cuerpos de aguas, propios del territorio (Sarma, 2000 a).

*Brachionus calyciflorus* es una especie planctónica de sistemas acuáticos con temperaturas sub cálidas y cálidas y un pH ligeramente alcalino; es considerada

como cosmopolita por su amplia distribución (Koste, 1978), con un tamaño aproximado de  $175 \pm 18 \mu\text{m}$ . Por otro lado, *Platonus patulus*, es también una especie cosmopolita considerado como ticopláctico (pseudoplancton), lo que significa que esta especie es capaz de alimentarse de alga planctónica así como de detritus (Sarma, 2000 a). Se encuentra en sistemas de agua con temperaturas cálidas y de condiciones alcalinas, tienen un tamaño de  $100 \pm 2 \mu\text{m}$  (Koste, 1978).

## **ANTECEDENTES**

Muchos de los trabajos disponibles actualmente de ecotoxicología que emplean organismos de bioensayo ampliamente distribuidos en México, es decir usando rotíferos, se relacionan con evaluaciones de efecto agudo o crónico que involucran parámetros demográficos, de algunos rotíferos de la familia Brachionidae, como sistema de medición para detectar efectos de metales pesados, herbicidas, plaguicidas organoclorados y también, algunos plaguicidas organofosforados.

Entre estas pruebas de bioensayo encontramos el realizado por Fernández-Casalderry *et al.* (1992) quienes evaluaron los efectos toxicológicos agudos de varios plaguicidas (el organoclorado endosulfán, los organofosforados diazinón, metilparatión, malatión y el carbamato benticarb) sobre *B. calyciflorus*. Los resultados indican que los insecticidas organofosforados fueron menos tóxicos para el rotífero, siendo más tóxico el insecticida organoclorado y el carbamato. Por otro lado, los datos demuestran que los rotíferos son menos sensibles al malatión

que otras especies de invertebrados acuáticos. Se obtuvo la  $LC_{50}$  para malatión siendo de  $33.72 \text{ mg l}^{-1}$ .

También, el de Ferrando *et al.* (1995) que realizaron estudios de toxicidad crónica para determinar la sensibilidad de tres especies: alga (*Nannochloris oculata*), rotífero (*Brachionus calyciflorus*) y cladóceros (*Daphnia magna*), en relación con cinco concentraciones del insecticida organofosforado fenitrotion. Como resultados obtuvieron que *D. magna* fue la especie más sensible, sin embargo las concentraciones del plaguicida superior a  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  redujeron la densidad de algas después de 72 horas de exposición y para *B. calyciflorus* los parámetros demográficos, como la tasa intrínseca de crecimiento natural ( $r$ ), disminuyó un 75% con concentraciones de fenitrotion superiores a  $1.6 \text{ mg l}^{-1}$ .

Por su parte Gama-Flores *et al.* (1999) evaluaron el efecto de diferentes densidades de alimento y diferentes concentraciones de metil paratión (0, 5, 10, 20, y  $30 \text{ mg l}^{-1}$ ) sobre el crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus*. A la concentración de  $30 \text{ mg l}^{-1}$  de metil paratión no hay crecimiento de *B. calyciflorus* e incluso en  $5 \text{ mg l}^{-1}$ , que fue el nivel más bajo, tuvo un efecto negativo en la densidad del rotífero. Los valores de  $r$  fueron negativos en todos los tratamientos con tóxico a concentraciones de alimentos bajos. Demostrando que un incremento en la densidad del alimento da como resultado el crecimiento en la población de *B. calyciflorus*, contrario a lo que ocurre con el aumento en la concentración del tóxico ya que se reduce la densidad del rotífero.



En otro trabajo, Sarma *et al.* (2001 a) analizaron el efecto de varias concentraciones de metil paratión (0, 0.16, 0.31, 0.62, 1.25, 2.5, 5.0 y 10.0 mg l<sup>-1</sup>) sobre el crecimiento poblacional del rotífero *P. patulus* bajo diferentes densidades de alimento. Al incrementar la concentración de metil paratión, la abundancia del rotífero disminuyó y con concentraciones mayores a 1.25 mg l<sup>-1</sup> no había crecimiento, por lo que, las tasas de crecimiento poblacional por día (*r*) fueron negativas.

Posteriormente, Sarma *et al.* (2001 b) valoraron el efecto de diferentes concentraciones de metil paratión (0, 0.0625, 0.125 y 0.250 mg l<sup>-1</sup>) sobre el crecimiento poblacional de otro rotífero *Euchlanis dilatata*. Reportaron que al aumentar la concentración de metil paratión se redujo significativamente la densidad de población y la tasa de crecimiento poblacional, independientemente de la densidad de alimento en el medio. Las tasas de crecimiento de la población en los controles, variaron de 0.248 a 0.298, mientras que con presencia del plaguicida la *r* fue inferior.

Así mismo, Gama-Flores *et al.* (2004) reportaron los efectos del insecticida metil paratión sobre *B. angularis* en pruebas de toxicidad aguda y crónica, en presencia y ausencia de alimento, siendo las concentraciones del tóxico 0, 0.3125, 0.625 y 1.25 mg l<sup>-1</sup>. Como resultados observaron que al aumentar la concentración del metil paratión en el medio hay una disminución del crecimiento de la población independiente a la concentración de alimento, obteniendo la menor densidad de

población máxima de 50 ind. ml<sup>-1</sup> en la mayor concentración del tóxico y con la concentración de alimento más baja, es decir, la población disminuyó en un 75%. Los valores de  $r$ , disminuyeron con el aumento de la concentración del plaguicida en el medio.

Huang *et al.* (2007) determinaron el efecto de diferentes concentraciones del insecticida organoclorado aldrin (0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 y 1.6 mg l<sup>-1</sup>) sobre el desarrollo, sobrevivencia y reproducción, que son parámetros de la tabla de vida de *Brachionus calyciflorus*. Obtienen como resultado, que en el rango de concentración que va de 0.04 a 1.28 mg l<sup>-1</sup> de aldrin, se corta significativamente la duración del desarrollo embrionario. Concluyendo que a bajas concentraciones del tóxico se tiene un efecto sobre la reproducción.

Y por último, Li-Xia *et al.* (2009) evaluaron los efectos de los plaguicidas organofosforados diclorvos, triazofos y clorpirifos, sobre el crecimiento poblacional y reproducción de *Brachionus calyciflorus*. Los resultados mostraron que los tres productos tuvieron una influencia significativa ( $p < 0,05$ ) sobre la tasa de crecimiento poblacional.

Los trabajos mencionados indican que al incrementar la concentración de pesticidas en el medio, se tiene un efecto adverso sobre la sobrevivencia y/o la reproducción, de las especies utilizadas. En algunos trabajos, la densidad algal no disminuyó la toxicidad de los pesticidas.

## JUSTIFICACIÓN

De los bioensayos encontrados y en comparación con los disponibles para metales pesados, pocos se han inclinado por evaluar la toxicidad de plaguicidas organofosforados, a pesar de que éstos son usados abundantemente en México.

Los trabajos existentes acerca de la toxicidad de malatión, son desarrollados ampliamente en el campo de la salud humana y existen algunos, donde evalúan los efectos en vertebrados acuáticos y terrestres; reportando el efecto neurológico del plaguicida; sin embargo, son escasos los bioensayos que evalúen los efectos adversos sobre organismos pertenecientes al zooplancton, que nos permita obtener un rango preliminar, de concentraciones límites o tolerables en especies de invertebrados dulceacuícolas, quienes son importantes por fungir, la mayoría, como alimento de peces.

Aunque sólo una porción mínima del plaguicida, del total aplicado en campo, llega a los cuerpos de agua en concentraciones muy bajas, éstas pueden tener un efecto en los organismos zooplanctónicos, como los rotíferos.

Por ello se evaluó el efecto de diferentes concentraciones subletales de este plaguicida en las dos especies de rotíferos: *B. calyciflorus* y *P. patulus*. Permitiendo tener resultados representativos en corto de tiempo y sin altos costos de producción.

## **HIPÓTESIS**

*Brachionus calyciflorus* y *Platonus patulus* son organismos sensibles a tóxicos, su exposición crónica a concentraciones de malatión, se verá reflejada en un efecto adverso sobre las características demográficas de ambas especies. Al incrementar la concentración de malatión en el medio, mayor será el efecto adverso y este efecto será diferente dependiendo de las especies.

## **OBJETIVO GENERAL**

- ✓ Evaluar el efecto crónico de diferentes concentraciones de malatión sobre el crecimiento poblacional de los rotíferos *Brachionus calyciflorus* y *Platonus patulus*.

### **Objetivos particulares**

- ✓ Comparar las tasas de crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* y *P. patulus* cultivados con diferentes concentraciones de malatión.
- ✓ Describir las abundancias máximas de población de *B. calyciflorus* y *P. patulus* cultivados con diferentes tratamientos.
- ✓ Analizar la relación entre la tasa de crecimiento poblacional por día y las abundancias máximas de población de los rotíferos con las diferentes concentraciones nominales del plaguicida organofosforado.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Cultivo de Alga**

Se seleccionó a *Chlorella vulgaris* por ser una microalga verde unicelular fácil de cultivar en condiciones de laboratorio y por servir como alimento vivo para diversos organismos, entre ellos los rotíferos (Tavera, 2004), tiene forma esférica, con un tamaño que va de 4 a 6  $\mu\text{m}$ .

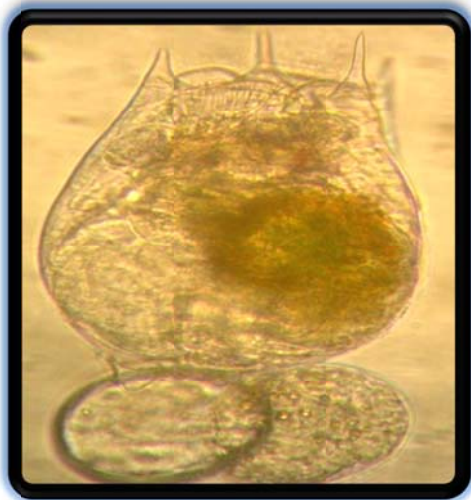
Dentro del laboratorio de Zoología Acuática, el alga se cultivó en lotes de botellas transparentes de dos litros, a cada botella se le adicionaron 30 ml de medio Bold (Borowitzka y Borowitzka, 1988) y 1800 ml de agua destilada, posteriormente se inoculó el medio con el alga adicionando  $0.5 \text{ g l}^{-1}$  de bicarbonato de sodio (como fuente de carbono) cada tercer día. El cultivo se colocó bajo iluminación fluorescente y aireación constante. La cosecha del alga se realizó cuando se encontró en su fase exponencial de crecimiento, entre el séptimo y el décimo día, se apartó de la luz y se dejó sedimentar a una temperatura de  $4^\circ \text{C}$ ; posteriormente se decantó el sobrenadante con el fin de eliminar las toxinas y otros microorganismos que pudieran ser dañinos para los rotíferos, hasta dejar las células lo más concentradas posible. El alga concentrada se guardó bajo refrigeración y cada tercer día se utilizó un nuevo cultivo, puesto que la edad del alga afecta la tasa de alimentación.

Por último se procedió a hacer la cuantificación de la densidad de alga deseada (en cel.  $\text{ml}^{-1}$ ) mediante el uso de la cámara de Neubauer y un

microscopio óptico, preparándose por dilución con la cantidad correspondiente de agua moderadamente dura, es decir medio EPA, el cual se preparó disolviendo 96 mg de  $\text{NaHCO}_3$ , 60 mg de  $\text{CaSO}_4$ , 60 mg de  $\text{MgSO}_4$  y 4 mg de  $\text{KCl}$  en un litro de agua destilada (Weber, 1993).

### **Cultivo de rotíferos**

Los rotíferos *Brachionus calyciflorus* (Imagen 1) y *Plationus patulus* (Imagen 2) se aislaron del lago de Xochimilco y se mantuvieron en condiciones de laboratorio antes de la experimentación (temperatura constante de  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , luz difusa continua y un pH entre 7.5 y 8.0).



*atulus*

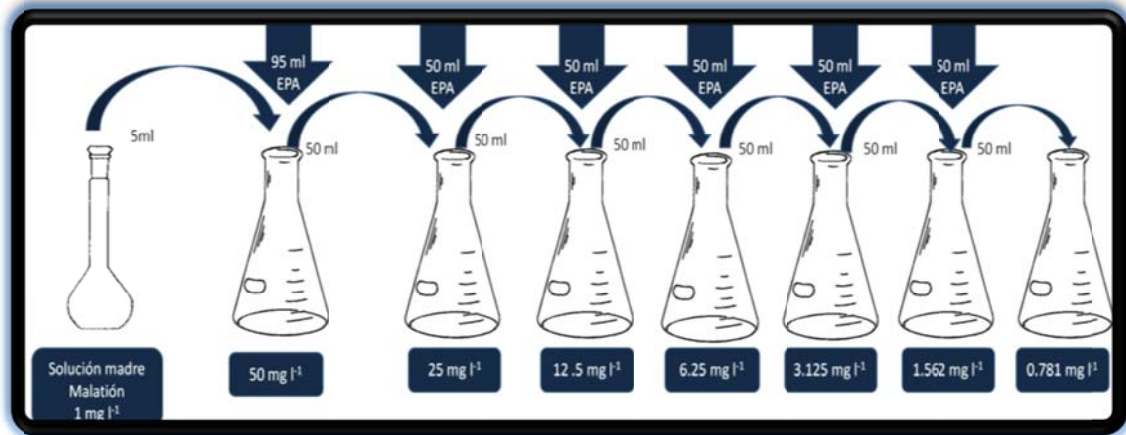
Cada especie se cultivó por separado, en cultivos clonales usando hembras partenogénicas, en vasos de precipitado de 500 ml con medio EPA. Se usó *Chlorella vulgaris* como alimento exclusivo a una concentración de  $1.0 \times 10^6$  cél.  $\text{ml}^{-1}$  de alga. Para el cuidado y mantenimiento de los rotíferos se siguió la técnica descrita por Sarma (1991), donde menciona que se deben filtrar con una malla de  $50\mu\text{m}$  tres veces por semana, enjuagar con medio EPA y realizar cambio total del medio desechando el sedimento que contiene lóricas, individuos muertos, protozoos y materia orgánica, por ser fuentes de contaminación.

### **Sustancia tóxica**

La sustancia tóxica fue el dietil (dimetoxitiofosforiltio) succinato cuyo nombre común es malatión, para este bioensayo se utilizó la marca comercial Malation 500 Tridente, con un contenido neto de 240 ml, una concentración nominal de  $470\text{g l}^{-1}$ , y una pureza química de 95%. Elaborado por Agroquímica Tridente S.A. de C.V.

Fue preparada una solución madre con una concentración de  $1\text{ mg l}^{-1}$  del plaguicida, de ésta concentración se tomaron 5 ml y se le agregó 95 ml de EPA, para obtener 100 ml a una concentración de  $50\text{ mg l}^{-1}$  y a partir de ésta se realizaron diluciones en serie con el medio EPA para obtener diferentes concentraciones subletales: 25, 12.5, 6.25 y 3.125, 1.562 y  $0.781\text{ mg l}^{-1}$  (Figura 3). La solución madre se mantuvo en refrigeración dentro de un matraz aforado (para

disminuir el área de volatilización) y se cambiaba dos veces a la semana para evitar pérdida de la toxicidad.



### Fase experimental

Los rotíferos se escogieron aleatoriamente sin considerar edad o tamaño y fueron introducidos en recipientes transparentes con la ayuda de una pipeta Pasteur con bulbo y un microscopio estereoscópico. Como los rotíferos alcanzan el equilibrio de tamaño y edad en corto tiempo, el uso inicial de diferentes edades de la población no afecta la densidad final alcanzada.

Generalmente, las evaluaciones de toxicidad aguda forman la base para seleccionar las concentraciones crónicas o subletales, donde la LC<sub>50</sub> es



multiplicada por un factor de seguridad que puede ser: 0.1, 0.001 ó 0.0001 y así obtener el valor de no afectación (Calow, 1993). Sin embargo, los valores resultantes no pueden utilizarse directamente para seleccionar las concentraciones subletales, debido a que en las evaluaciones agudas no se utiliza alimento, pero en evaluaciones crónicas, cierta cantidad es necesaria para el mantenimiento y la reproducción de los organismos. Rao y Sarma (1990) no realizaron experimentos de toxicidad aguda previamente, pero basados en experimentos preliminares, seleccionaron varias concentraciones subletales.

Considerando lo anterior, los diferentes intervalos de concentración de malatión, se seleccionaron respecto a la sensibilidad de cada especie reportada en la literatura. Por lo tanto, las concentraciones nominales de malatión en este experimento para *B. calyciflorus* fueron: 0.781, 1.562, 3.125, y 6.25 mg l<sup>-1</sup>; como es de tamaño mayor que *P. patulus*, el volumen total del medio fue de 25 ml (12.5 ml de alimento y 12.5 ml de la concentración correspondiente de malatión); en cuanto a *Platyonus patulus* las concentraciones correspondieron a 3.125, 6.25, 12.5 y 25 mg l<sup>-1</sup> y los contenedores se mantuvieron con un volumen total del medio de 20 ml ( 10 ml de alimento y 10 ml de la concentración correspondiente del tóxico).

Ambas especies tuvieron una densidad inicial de 1 ind. ml<sup>-1</sup> a una concentración de alimento de 1×10<sup>6</sup> cel. ml<sup>-1</sup>. La densidad algal se eligió mediante

bioensayos previos en donde se permite el crecimiento positivo de las poblaciones en el testigo (Sarma *et al.*, 2008).

De manera general el experimento se llevó a cabo en 30 vasos experimentales, usando dos especies de rotíferos, cada especie con cinco tratamientos (control y cuatro concentraciones de tóxico) y cada tratamiento con tres repeticiones (Figura 4).

Se cuantificó cada 24 horas, la densidad de *B. calyciflorus* y *P. patulus* por cada unidad experimental, contando el total ó 2 alícuotas de 1 ml cada uno cuando la densidad de población en los frascos de prueba fue superior a 10 ind. ml<sup>-1</sup> para este caso se obtuvo el promedio de ambas alícuotas y el resultado se multiplicó por el número de ml que contenía el recipiente (25 y 20 ml, respectivamente).

El procedimiento se realizó durante un ciclo poblacional de cada rotífero, el cual duró de 15-20 días, dependiendo del patrón de crecimiento o hasta que la población de alguna repetición empezó a declinar. El medio en el que se inoculaban los rotíferos fue reemplazado diariamente, manteniendo constante la concentración del tóxico y del alimento, evitando así la influencia de éstos en los datos.

Se determinaron las tasas de crecimiento poblacional ( $r$ ) haciendo uso de la siguiente ecuación exponencial (Krebs, 1985; Case, 2000)

$$r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$$

Donde:  $r$  = tasa de crecimiento poblacional;  $N_0$  = densidad inicial de la población,  $N_t$  = densidad al tiempo y  $t$  = tiempo en días.

También se obtuvieron las abundancias máximas, tomando los datos donde la población mostró el máximo crecimiento y día de abundancia máxima. Al final de los tratamientos, se elaboraron las curvas correspondientes al crecimiento poblacional de los rotíferos, lo que permitió analizar claramente el efecto de las diferentes concentraciones de malatión en el medio.

Las diferencias entre las abundancias poblacionales máximas y las tasas de crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* y *P. patulus*, se analizaron estadísticamente mediante una prueba de ANDEVA de un factor (Sokal y Rohlf, 2000) y las comparaciones múltiples se realizaron con pruebas de *post hoc* (Tukey) con el software Sigma Plot 11.0, con el fin de detectar las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos.

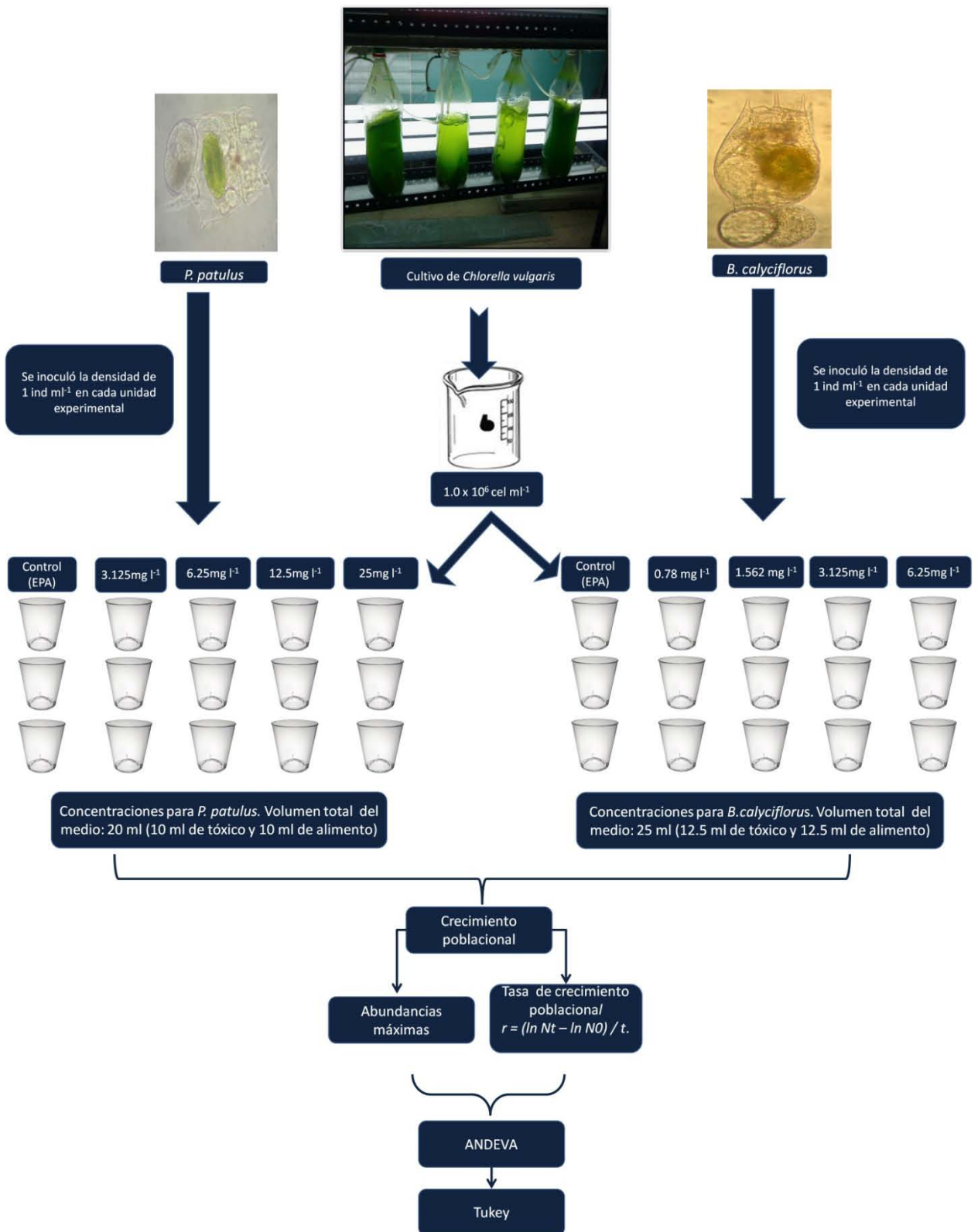


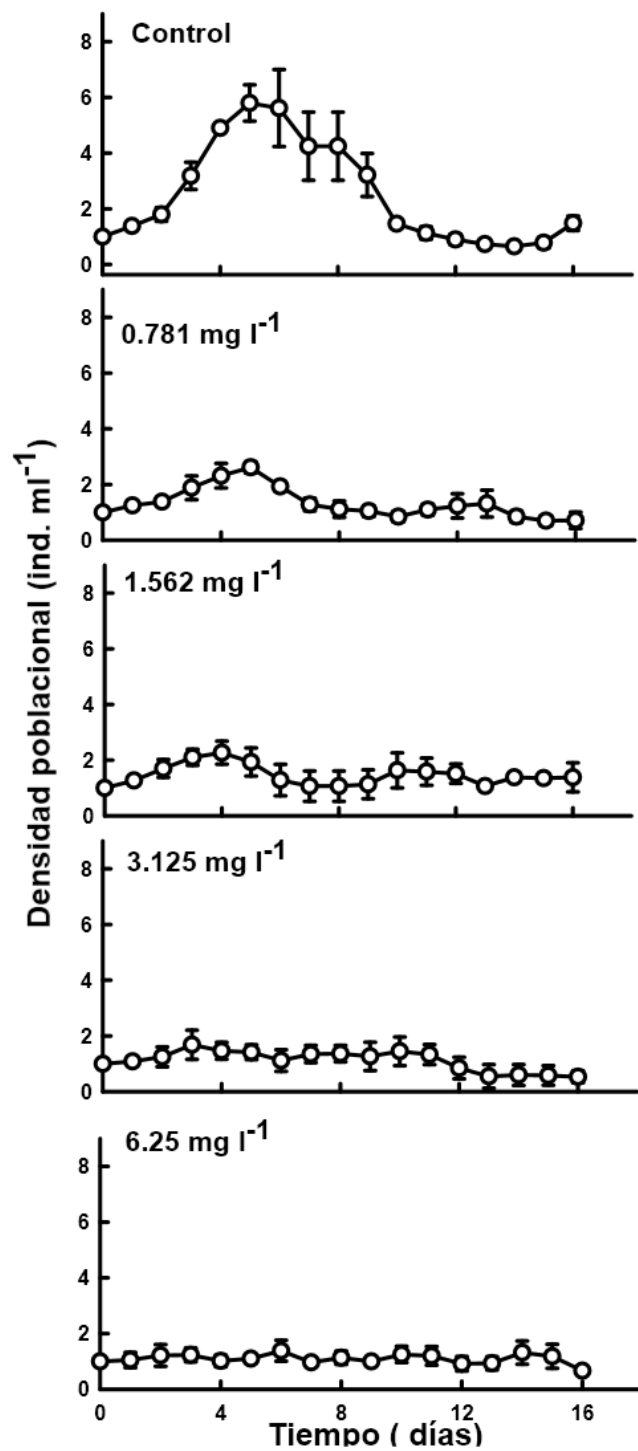
Figura 2. Diagrama experimental

## RESULTADOS

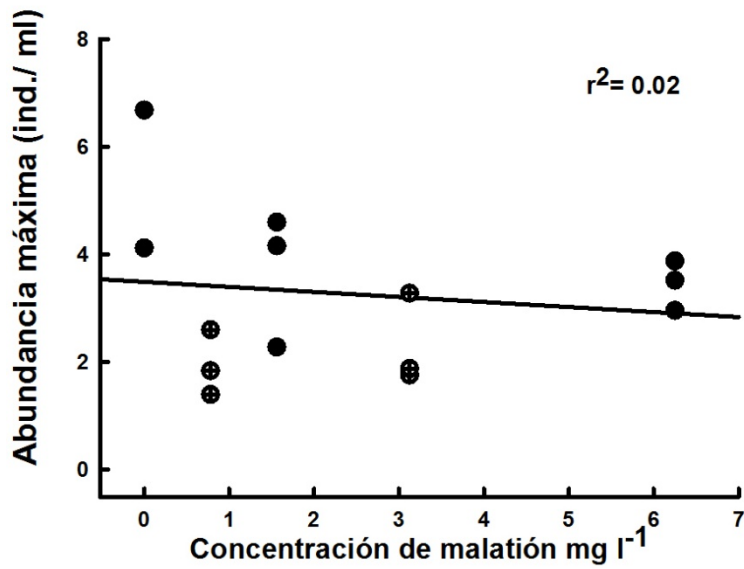
Las curvas de crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* en relación a diferentes concentraciones de malatión (0.78, 1.56, 3.12 y 6.25 mg l<sup>-1</sup>) se presentan en la Figura 5. En general se observa que las densidades poblacionales de *Brachionus calyciflorus* decrecen con el aumento de la concentración del tóxico en el medio. En altas concentraciones de tóxico (3.125 y 6.25 mg l<sup>-1</sup>), la población de rotíferos se mantuvo, pero éstos no tuvieron densidades mayores a 2 ind. ml<sup>-1</sup>.

En el control, el número de individuos de *B. calyciflorus* empezó a crecer durante la primera semana mostrando un crecimiento exponencial evidente, lo cual no es notorio en el resto de los tratamientos, quienes tuvieron un ligero crecimiento pero sin alcanzar las densidades altas obtenidas por el control (6 ind. ml<sup>-1</sup>). La segunda densidad más alta fue de ~2 ind. ml<sup>-1</sup> perteneciente a la concentración 0.781 mg l<sup>-1</sup> de malatión.

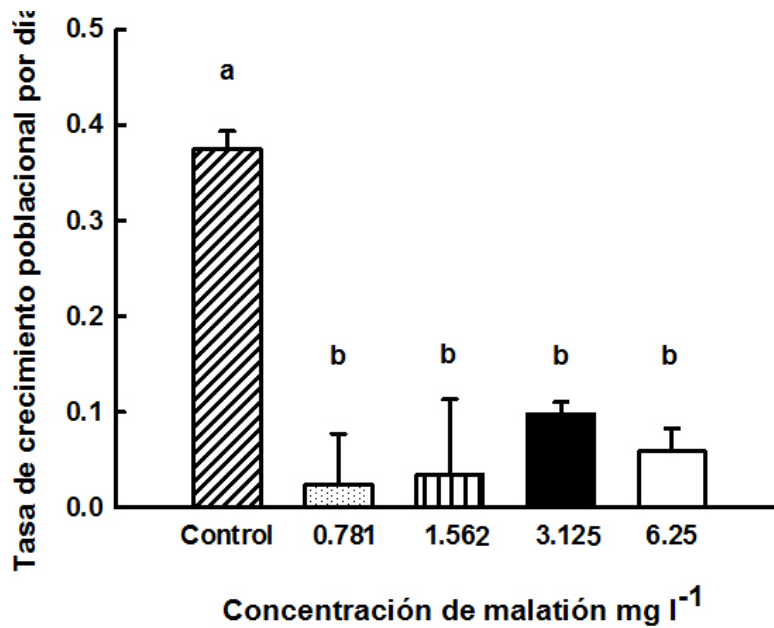
Las abundancias máximas de la población, por repetición se muestran en la Figura 6, se observa que el rango fue de ~1 a 7 ind. ml<sup>-1</sup>, dependiendo de la concentración de malatión. No hubo una relación significativa entre las densidades máximas de la población y las concentraciones de malatión, de acuerdo al valor del coeficiente de correlación ( $r^2 = 0.023$ ,  $p > 0.05$ ). Sin embargo, los resultados de análisis de varianza para los valores de abundancias máximas en el control y diferentes concentraciones de malatión, demostraron una diferencia significativa entre los tratamientos ( $p < 0.05$ , ANDEVA, Tabla 1).



**Figura 3.** Curvas de crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* expuestas en diferentes concentraciones nominales (mg l<sup>-1</sup>) de malatión. Los datos representan el promedio  $\pm$  error estándar basado en tres repeticiones.



**Figura 4.** Abundancias máximas alcanzadas por el rotífero *B. calyciflorus* en relación a diferentes concentraciones de malatión. Los datos están basados en tres repeticiones.



**Figura 5.** Tasa de crecimiento poblacional ( $r$ ) por día de *B. calyciflorus* en relación a diferentes concentraciones de malatión. Los datos representan el promedio  $\pm$  error estándar basado en tres repeticiones. Las barras que tienen la misma letra, no son estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ , Tukey).

Dependiendo de la concentración de malatión en el medio, la tasa de crecimiento poblacional ( $r$ ) de *B. calyciflorus* varió de 0.02 a 0.38  $d^{-1}$ ; siendo el valor más alto de  $r$  el observado en el testigo. En comparación con el control, los tratamientos con malatión tuvieron una  $r$  significativamente reducida (Figura 7).

Estadísticamente hubo diferencia significativa ( $p < 0.001$ , ANDEVA) en  $r$  y densidades máximas de *Brachionus calyciflorus* expuestos a diferentes concentraciones de malatión (Tabla 1).

**Tabla 1.** Resultados del ANDEVA de un factor aplicado a la tasa de crecimiento poblacional y abundancia de *B. calyciflorus*. GL = Grados de libertad; SC = Suma de cuadrados; PSM = Promedio suma de Cuadrados; F = Valor de Fischer. El nivel de significancia está indicado por: \*\*\* =  $p < 0.001$  y \* =  $p < 0.05$ .

<b>Estadístico de variación de los tratamientos aplicados a <i>Brachionus calyciflorus</i>.</b>					
<b>Fuente de variación</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>PSM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Abundancia máxima</b>					
<b>Entre grupos</b>	4	17.347	4.337	4.336	*
<b>Error</b>	10	10.001	1.000		
<b>Tasa intrínseca de crecimiento poblacional (<math>r</math>)</b>					
<b>Entre grupos</b>	4	0.257	0.0641	10.517	***
<b>Error</b>	10	0.0610	0.00610		

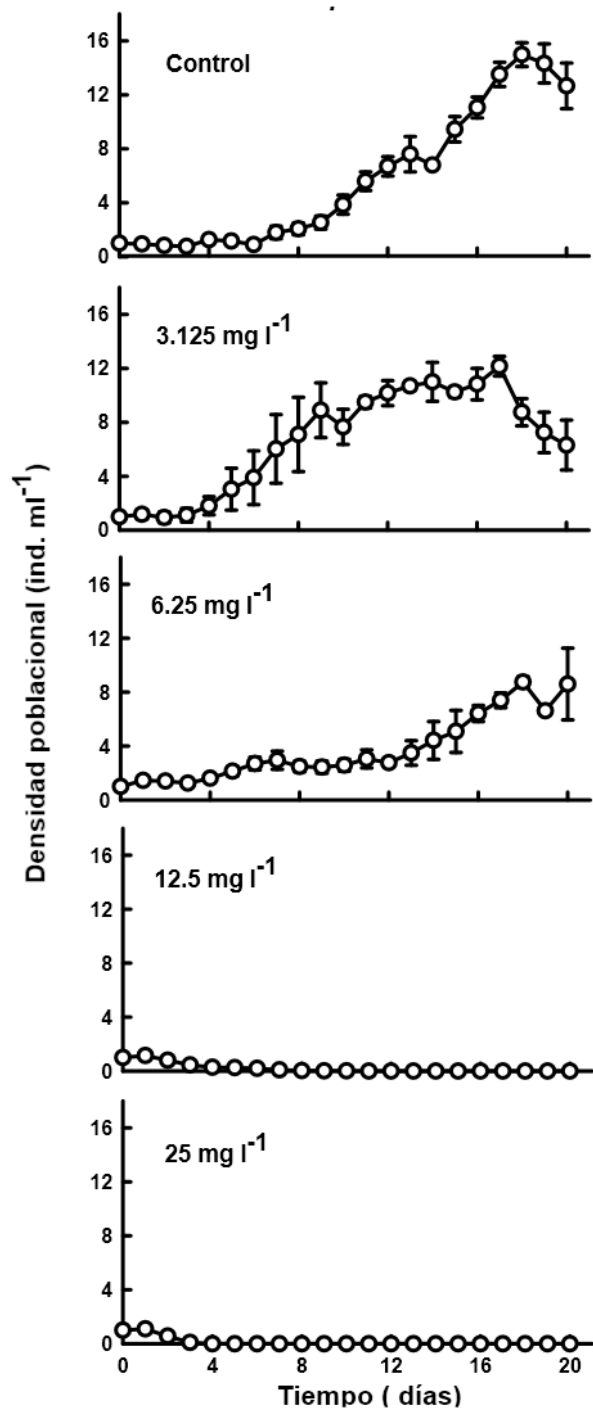
Las curvas de crecimiento poblacional obtenidos por el rotífero *P. patulus* en relación a las concentraciones 3.12, 6.25, 12.5 y 25  $mg\ l^{-1}$  (Figura 8) mostraron



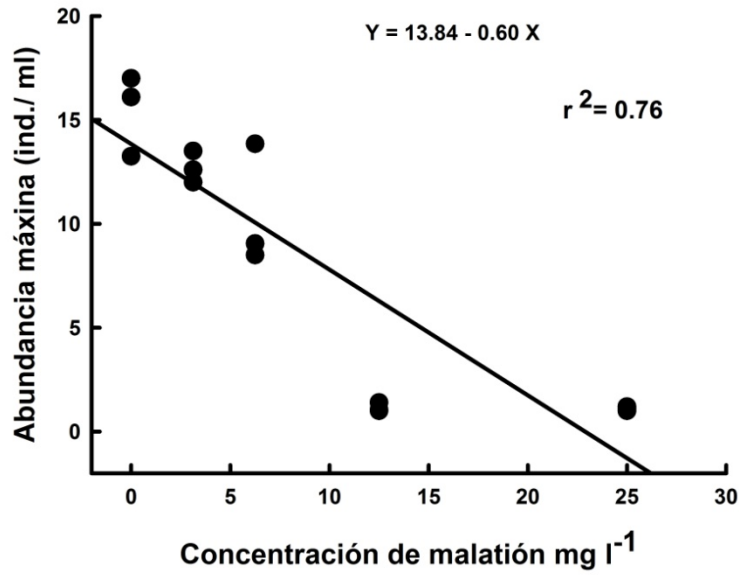
que el número de individuos en el control comenzó a crecer en la segunda semana de manera exponencial, esta tendencia también se presentó en las concentraciones 3.125 y 6.25 mg l<sup>-1</sup>; pero en las más altas (12.5 y 25 mg l<sup>-1</sup>) no hubo un aumento del número de individuos, ya que nunca alcanzaron una densidad mayor a 2 ind. ml<sup>-1</sup> y la población decayó durante los primeros cuatro días del experimento. La densidad máxima de rotíferos alcanzada por el control fue de 15 ind. ml<sup>-1</sup>.

El rango de abundancias máximas fue de 1 a 17 ind. ml<sup>-1</sup> dependiendo de la concentración del tóxico. Existe una relación significativa entre las densidades máximas y las concentraciones de malatión, de acuerdo al valor del coeficiente de correlación ( $r^2 = 0.76$ ,  $p < 0.05$ , Figura 9).

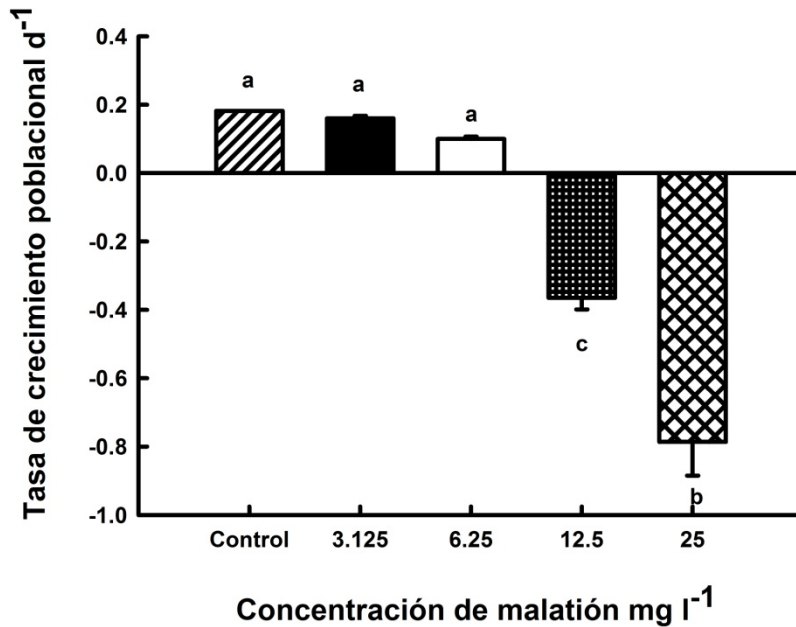
Los resultados de análisis de varianza para los valores de abundancias máximas en el control y diferentes concentraciones de malatión, demostraron que hubo una diferencia significativa entre los tratamientos ( $p < 0.001$ , ANDEVA, Tabla 2).



**Figura 6.** Curvas de crecimiento poblacional de *P. patulus* cultivadas en diferentes concentraciones nominales ( $\text{mg l}^{-1}$ ) de malatión. Los datos representan el promedio  $\pm$  error estándar basado en tres repeticiones.



**Figura 7.** Relación entre la abundancia máxima de *P. patulus* y la concentración ( $\text{mg l}^{-1}$ ) de malatión. Los datos están basados en tres repeticiones.



**Figura 8.** Tasa de crecimiento poblacional ( $r$ ) por día de *P. patulus* en relación a diferentes concentraciones de malatión. Los datos representan el promedio  $\pm$  error estándar basado en tres repeticiones. Las barras que tienen la misma letra, no son estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ , Tukey).

La tasa de crecimiento poblacional vario de 0.2 a -0.7 d<sup>-1</sup> dependiendo de la concentración del medio, obteniendo el valor más alto de *r* en el testigo y en el resto de los tratamientos el *r* fue significativamente reducido o nunca creció como en las concentraciones superiores a 3.125 mg l<sup>-1</sup> donde además la tasa de crecimiento poblacional fue negativa (Figura 10).

Estadísticamente hubo diferencia significativa (p<0.001, ANDEVA) en densidades máximas y el *r* de *Plationus patulus* expuestos a diferentes concentraciones de malatión (Tabla 2).

**Tabla 2.** Resultados del ADEVA de un factor aplicado a la tasa de crecimiento poblacional y abundancia de *P. patulus*. GL = Grados de libertad; SC = Suma de cuadrados; PSM= Promedio suma de Cuadrados; F = Valor de Fischer. El nivel de significancia está indicado por: \*\*\* = p<0.001

<b>Estadístico de variación de los tratamientos aplicados a <i>Plationus patulus</i></b>					
<b>Fuente de variación</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>PSM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Abundancia máxima</b>					
<b>Entre grupos</b>	4	534.178	133.544	50.890	***
<b>Error</b>	10	26.242	2.624		
<b>Tasa intrínseca de crecimiento poblacional (<i>r</i>)</b>					
<b>Entre grupos</b>	4	2.157	0.539	82.144	***
<b>Error</b>	10	0.0657	0.00657		

Las densidades mayores de *Brachionus calyciflorus* y *Plationus patulus* fueron obtenidas en los controles (6 y 15 ind. ml<sup>-1</sup> respectivamente) y la densidad menor

(no mayor a 2 ind. ml<sup>-1</sup>) en las concentraciones más altas (3.125 y 6.25 mg l<sup>-1</sup> para *B. calyciflorus* y 12.5, 25 mg l<sup>-1</sup> para *P. patulus*). En ambas especies, comparado con el testigo, todos los tratamientos con malatión en el medio, disminuyeron su densidad de población.

Comparando las especies utilizadas, bajo las mismas concentraciones (3.125 y 6.25 mg l<sup>-1</sup>) se obtuvieron los valores que se presentan en la Tabla 3. Se observa que hubo una diferencia en la cantidad de días que tardaron ambas especies en tener un crecimiento exponencial. En los controles, para *B. calyciflorus* fue de 2 días, y para *P. patulus* fue de 8 días; en la concentración de 3 mg l<sup>-1</sup> para ambas especies, la población creció durante los 3 primeros días, pero en 6.25 mg l<sup>-1</sup> *B. calyciflorus* no tuvo un crecimiento poblacional ya que ésta solo se mantuvo dentro de la densidad inicial 1 ind. ml<sup>-1</sup>.

En las concentraciones 3.125 y 6.25 mg l<sup>-1</sup> la reducción de la densidad máxima fue de 71 a 76% para *B. calyciflorus* y de 32 a 42 % para *P. patulus* (comparado con sus respectivos controles). Por último, las tasas de crecimiento poblacional variaron de 0.058 a 0.097 por día en *B. calyciflorus* y de 0.099 a 0.18 por día en *P. patulus*, destacando que las tasas más altas fueron las de sus testigos y entre las dos especies *P. patulus* fue el organismo que tuvo la máxima tasa de crecimiento diario. La tasa de crecimiento por día fue el parámetro más sensible para ambas especies.

**Tabla 3.** Valores obtenidos para *Brachionus calyciflorus* y *Plationus patulus* en las concentraciones 3.125 y 6.25 mg l<sup>-1</sup>. DIFE = Día inicio fase exponencial; DMC = Densidad máxima de crecimiento; DDMC = Día, densidad máxima de crecimiento.

Características	<i>B. calyciflorus</i>			<i>P. patulus</i>		
	Control	3.125	6.25	Control	3.125	6.25
Concentración (mg l <sup>-1</sup> )						
DIFE	2	2	0	8	3	3
	5.8	1.68	1.38	14.98	10.16	8.75
DMC (ind. ml l <sup>-1</sup> )	=	=	=	=	=	=
	100%	28.96%	23.79%	100%	67.82%	58.41%
DDMC	5	3	6	18	17	18
	0.37	0.097	0.058	0.18	0.15	0.099
Tasa de crecimiento(d <sup>-1</sup> )	=	=	=	=	=	=
	100%	26.21%	15.67%	100%	83.33%	55%

Los resultados señalan que existe tolerancia distinta al plaguicida entre las dos especies de rotíferos. La especie *B. calyciflorus*, fue dos veces más sensible que *P. patulus*.

## DISCUSIÓN

En el presente estudio se observó un efecto significativo del malatión, sobre las características demográficas de *B. calyciflorus* y de *P. patulus*, como el crecimiento poblacional, la tasa de crecimiento poblacional, así como la densidad poblacional máxima, ya que son variables sensibles que responden al estrés por tóxicos (Buikema *et al.*, 1982; Halbach, 1984; Ferrando *et al.*, 1995), puesto que consideran el aumento de población máxima y el tiempo (Forbes y Calow, 1999).

La tendencia fue que al incrementar la concentración del plaguicida malatión sobre el medio donde se encontraba la población de rotíferos ésta disminuía notablemente, de la misma manera, la tasa de crecimiento poblacional se vio afectada, disminuyendo desde un 30 hasta un 70% al aumentar, la concentración del plaguicida en el medio al 100%, esto también es reportado por autores como Gama-Flores *et al.* (2004), García-García *et al.* (2007) y Juárez-Franco *et al.* (2007), donde las especies de rotíferos en los controles tuvieron una curva de crecimiento exponencial evidente, sin embargo al aumentar la concentración de malatión en el medio, la curva de crecimiento no se presentó.

El crecimiento exponencial de las especies en los controles fueron comparables a los de otros miembros de la familia Brachionidae (Walz, 1995), del mismo modo las tasas de crecimiento poblacional observadas en esta investigación son similares a las referidas los braquionidos ya que en ausencia de

algún estrés tóxico, los rotíferos tienen rango de tasa de crecimiento poblacional que va de 0.1 a 2.0 por día (Sarma y Rao, 1987).

Con respecto a los niveles más altos de malatión (12.5 y 25 mg l<sup>-1</sup>), la población de *P. patulus* la población decayó durante los primeros días del experimento, coincidiendo con Sarma *et al.* (2000 a) quienes reportan para *P. patulus*, que a concentraciones de metil paratión mayores a 10 mg l<sup>-1</sup> tampoco hubo un aumento de la población. Generalmente las especies zooplanctónicas son más sensibles en las variables reproductivas que en las variables de supervivencia y aunque sobreviven un par de días en la concentración más alta no pueden reproducirse (Kammenga y Laskowski, 2000).

Por otro lado, a una concentración de malatión tan baja como 0.781 mg l<sup>-1</sup> fue suficiente para tener un efecto negativo sobre la densidad poblacional de *B. calyciflorus* reduciéndola un 50%, coincidiendo con los datos de Sarma *et al.* (2001a) y Gama- Flores *et al.* (2004) quienes obtuvieron a concentraciones tan bajas como 0.62 mg l<sup>-1</sup> de metil paratión, una disminución del 75% de la población del rotífero *P. patulus* y *B. angularis* respectivamente; por su parte Sarma *et al.* (2001b) reporta para otra especie de rotífero (*Euchlanis dilatata*) una disminución del 75% de su población al crecer en medio que contenía metil paratión a una concentración de 0.0625 mg l<sup>-1</sup>. A su vez Ferrando *et al.* (1995) reportan que la población de *B. calyciflorus* disminuye en un 75% con concentraciones superiores a 1.6 mg l<sup>-1</sup>. Mis resultados indican como los reportados previamente, que las



distintas especies que pertenecen a una familia, muestran distintas sensibilidades cuando son expuestos a toxinas (Snell y Janssen, 1995).

Aunque no se evaluó el crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* a las altas concentraciones, se asume que no hubiese sobrevivido, puesto que esta especie obtuvo una disminución de su población a concentraciones bajas de malatión contrarió a lo que ocurrió con *P. patulus* ya que este rotífero a sus bajas concentraciones utilizadas (3.125 y 6.25 mg l<sup>-1</sup>), que fueron las más altas manejadas para *B. calyciflorus*, tuvo un comportamiento similar a su control, no obstante su población también se redujo pero solo en un 30%, estos resultados coinciden con Pérez-Legaspi y Rico-Martínez (2001) que demostraron que hay grandes diferencias en la toxicidad entre los miembros del mismo género (por ejemplo, *Lecane*) o entre varios géneros (*Brachionus*, *Lecane*, *Asplanchna* etc).

También se destaca que hubo un efecto en el tiempo que tarda la población en obtener su máxima abundancia (Figura 5), ya que en comparación con el control, para *B. calyciflorus*, el resto de las concentraciones tardan más en alcanzar una máxima abundancia, esto también se obtuvo en Sarma *et al.* (2006) donde sus controles comenzaron a aumentar desde el primer día, mientras que en los tratamientos con el tóxico tuvieron un retraso para alcanzar la máxima abundancia ya que las poblaciones crecieron después de 4 días tras el inicio de los experimentos. En contraste, el tiempo que tardan los tratamientos en obtener su máxima abundancia para *P. patulus* fue más acelerado, es decir se presentó el

fenómeno de respuesta denominado hormesis, este mismo mecanismo se presentó en los trabajos publicados (Calabrese y Baldwin, 2003) donde mencionan que a bajas concentraciones del tóxico se puede promover un incremento en la reproducción.

Para *B. calyciflorus* no hay una relación significativa entre las densidades máximas de la población y las concentraciones de malatión (Figura 6), caso distinto es el de *P. patulus* cuya relación entre las densidades máximas y las concentraciones es inversa, es decir al haber un incremento en la concentración de malatión hay una disminución de la población. Los valores de día de crecimiento (tiempo que tardó en aumentar la población), concuerdan con Foster *et al.* (1994), quienes concluían que al aumentar las concentraciones tóxicas, efecto que se obtiene, es un retraso del crecimiento

Ahora bien, ambas especies obtuvieron sus densidades mayores en los controles y las densidades menores en las concentraciones más altas, destacando que en los tratamientos a los que se sujetaron ambas especies nunca llegaron a una abundancia máxima cercana a la del control, tendencia que coincide con los reportados por Gama-Flores *et al.* (2004), García-García *et al.* (2007) y Li-Xia *et al.* (2009).

La diferencia radica en el tiempo que tardaron en tener un crecimiento exponencial, mientras que para *B. calyciflorus* fue durante la primera semana, para *P. patulus* fue en la segunda, este retardo en tener la fase exponencial

también se reporta en Gama-Flores *et al.* (1999). Al comparar las especies bajo las mismas concentraciones 3.125 y 6.25 mg l<sup>-1</sup> hubo una diferencia en la densidad máxima ya que hubo una reducción del 75% en la población de *B. calyciflorus* y de 42% para *P. patulus* y las tasas de crecimiento poblacional variaron de 0.097 a 0.37 y de 0.099 a 0.18, respectivamente. Los valores de crecimiento poblacional (*r*) están significativamente correlacionados con el tamaño corporal (Stemberger y Gilbert, 1985), por lo que el mayor valor de *r* de *B. calyciflorus* con respecto a *P. patulus* concuerdan con lo señalado por Bennet y Boraas (1989), Ferrando *et al.* (1995) y García-García *et al.* (2007).

El experimento demostró que *B. calyciflorus* fue la especie más sensible al malatión y *P. patulus* fue la más resistente a alta concentraciones del tóxico. Sin embargo, estos datos difieren de los reportados por Sarma *et al.* (2000b) que mencionan que *P. patulus* es más sensible que *B. calyciflorus* a metales pesados, como cadmio, así mismo Sarma *et al.* (2006) reportan que *B. calyciflorus* a una concentración de 8.0 mg l<sup>-1</sup> de cromo, otro metal pesado, aún presenta reproducción, mientras que para *P. patulus* la reproducción era inhibida con 4 mg l<sup>-1</sup>.

En cuanto a metil paratión *B. calyciflorus* tiene una mayor resistencia ya que la población aun se mantiene a concentraciones como 5 mg l<sup>-1</sup> (Gama-Flores *et al.*,1999) mientras que *P. patulus* a concentraciones de 1.25 mg l<sup>-1</sup> no tenía ya un crecimiento (Sarma *et al.* 2001 a). Huang *et al.* (2007) encuentra que a

concentraciones mayores a  $1.28 \text{ mg l}^{-1}$  de aldrín *B. calyciflorus* tiene un efecto negativo en su población, recordemos que los insecticidas organoclorados son muy tóxicos, por tal razón están prohibidos. Por lo tanto, se demuestra lo especificado por Slooff *et al.* (1986) que indican que la sensibilidad inter específica depende la posición taxonómica y del tipo de sustancia química de que se trate, es decir, que una misma especie puede tener una sensibilidad inconsistente para una amplia gama de tóxicos, además es importante señalar que dos especies pueden tener una  $LC_{50}$  idéntica, pero sus respuestas a concentraciones subletales pueden ser muy diferentes.

Si bien hubo un efecto negativo en las características de la población en ambas especies, el uso de *B. calyciflorus* por ser más sensible permite obtener una respuesta de plaguicidas a concentraciones muy bajas. Aunque no se demerita el utilizar ambos rotíferos, pues así se tiene un rango de concentraciones a las cuales se obtiene un efecto, es decir con la evaluación de una especie sensible y una especie tolerante en estudios de ecotoxicidad nos permite derivar las concentraciones seguras y la concentración máxima aceptable de sustancias tóxicas.

En este experimento no fue considerado el alimento como factor importante, sin embargo estudios anteriores (Rao y Sarma, 1990; Sarma, 2001 a, b; Gama-Flores *et al.*, 2004) reportaron que la densidad de alimento es una variable importante en la respuesta del individuo. En este sentido la concentración de

alimento interactúa con las toxinas y la resistencia que presenten las especies, podría ser elevada (Halbach, 1984).

Tomando en cuenta que el límite de la suma de pesticidas presentes en el agua de superficie es de 1-3  $\mu\text{g l}^{-1}$  establecido por la Comunidad Europea (Aguilar *et al.*, 1996), las concentraciones de malatión usadas en este trabajo son mayores, sin embargo éstas pueden ser encontradas en los puntos cercanos de la aplicación del plaguicida (zonas agrícolas). Ahora bien, se utilizaron concentraciones subletales, considerando que el malatión, se encuentra en concentraciones mínimas al llegar a los cuerpos de agua, ya que al ser poco persistente se degrada rápidamente.

Aunque no se tienen reportes oficiales de las concentraciones de malatión en cuerpos de agua mexicanos, ni en la NOM-127-SSAI-1994, ni en el catálogo de la CICLOPLAFEST, se asume que se podría encontrar en concentraciones iguales o mayores de 1mg  $\text{l}^{-1}$ , como lo reporta De la Vega-Salazar *et al.* (1997), para otro plaguicida, paratión metílico, que es un plaguicida organofosforado y éstos tienen características comunes.

Dentro del rango de las concentraciones seleccionadas para el plaguicida, el nivel tan bajo como 0.781 mg  $\text{l}^{-1}$  causó una disminución de la población de *B. calyciflorus* del 50%, concordando con los reportes de Mulla *et al.* (1979) y Mulla y Mian, (1981) que demuestran que el malatión es tóxico para organismos acuáticos desde concentraciones que van de 0.01 a 1.00 mg  $\text{l}^{-1}$ .

Por otro lado Relyea (2008) demostró que concentraciones subletales de los plaguicidas (en particular los que inhiben la acetilcolinesterasa), pueden alterar el comportamiento de los depredadores y presas por ejemplo: provocar la disminución de la capacidad de captura de los depredadores y la disminución del movimiento de las presas; causar reducción en las tasas de depredación, entre otros efectos.

Aunque existen varios trabajos usando otros organismos zooplanctónicos como *Daphnia magna*, los resultados no son comparables a las condiciones de cuerpos de agua mexicanos, ya que *D. magna* es una especie templada y no se ha reportado en cuerpos de agua mexicanos, pero las dos especies de rotíferos utilizadas en este trabajo, son fáciles de encontrar en lagos dulceacuícolas, de esta manera los resultados obtenidos podemos utilizarlos como una base para los trabajos futuros.

Este tipo de bioensayos nos pueden ayudar a establecer normas de control de la presencia de contaminantes, las cuales deben ser muy estrictas para lograr evitar daños a los organismos zooplanctónicos en cuerpos de agua dulceacuícolas. De esta manera podemos hacer predicciones acerca de qué especies tienen un efecto directo al tener contacto con una sustancia tóxica como el malatión.

## CONCLUSIONES

- ✓ Las especies de rotíferos, *B. calyciflorus* y *P. patulus* mostraron un incremento en su densidad inicial cuando fue alimentado con *Chlorella* a  $1 \times 10^6$  cél. ml<sup>-1</sup>, que es una condición adecuada para el crecimiento poblacional de los rotíferos.
- ✓ El plaguicida malatión tiene un efecto significativo y adverso sobre el crecimiento poblacional de los rotíferos *Brachionus calyciflorus* y *P. patulus*, incluso en las concentraciones más bajas.
- ✓ Hay una relación inversa entre las abundancias máximas poblacionales y el incremento de la concentración de malatión, ya que estas fueron menores en las altas concentraciones.
- ✓ Existe una relación inversa entre la tasa de crecimiento poblacional de ambas especies de rotíferos y la concentración del tóxico.
- ✓ *B. calyciflorus* fue más sensible que *P. patulus* a las concentraciones expuestas de malatión.

Por lo cual es importante monitorear los efectos que tienen los plaguicidas organofosforados sobre los organismos acuáticos

## REFERENCIAS

- Aguilar C., Borrull, F. y Marcé, R. 1996. On-line and off-line solid-phase extraction with styrene-divinylbenzene-membrane extraction disks for determining pesticides in water by reversed-phase liquid chromatography-diode-array detection. *J. Chromatogr.* **754**: 77-84.
- Albert, L. 2005. Panorama de los plaguicidas en México. Servicios de salud de Nayarit y Comisión Federal de Protección contra riesgos Sanitarios (COFEPRIS). Nayarit, México. 17 pp.
- APHA. 1998. American Public Health Association. Standard Methods for Examination of wastewater. 12<sup>a</sup> Ed. N.Y.
- Bennett, W. N. y Boraas, M. E. 1989. A demographic profile of the fastest growing metazoan: a strain of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Oikos* **55**: 365-369
- Bondarenko, S. y Gan, J. 2004. Degradation and sorption of selected organophosphate and carbamate insecticides in urban stream sediments. *Environ Toxicol Chem* **23**: 1809-1814
- Borowitzka, M. A. y Borowitzka, L. J. 1988 .Micro-Algal Biotechnology. Cambridge University Press, Cambridge, 477 pp.
- Botello, A. V., Rendón von O, J., Gold-Bouchot, G. y Agraz-Hernández, C. 2005. Golfo de México, contaminación e impacto ambiental: Diagnóstico y tendencias. Centro EPOMEX, Universidad Autónoma de Campeche, México. 695 pp
- Buikema, A. L., Niederlehner, B. R. y Cairns, J. Jr. 1982. Biological monitoring. Part IV. *Toxicity testthig. Water Res.* **16**: 239-262.
- Cal, C. y Liang, M. 1995. *Chromatography*, **40** (718): 417-420.



- Calabrese, E. J. y Baldwin, L. A. 2003. Inorganics and hormesis. *Critical Reviews in Toxicology* **33**: 215-304
- Calow, P. 1993 *Handbook of ecotoxicology*. Blackwell Sci Publ. London
- Case, T. J. 2000. *An Illustrated Guide to Theoretical Ecology*. Oxford University Press, London, 464 pp.
- Centeno, M. C., Brendock, L. y Persoone, G. 1993. Cyst-Based toxicity test. III. Development and standardization of an acute toxicity test with the freshwater anostracan crustacean *Streptocephalus proboscideus*. En Soares, A. M. V. y Calow, P. (eds) *Progress in standardization of aquatic toxicity tests*. Lewis Publishers. Boca ratón, Florida. p 37-55.
- Cheminova. 1988. Product chemistry - Fyfanon technical; no.63 Physical and chemical characteristics. Malathion registration standard, A/S Cheminova, Lenvig, Denmark.
- CICOPLAFEST. 2004. Comisión Intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas. Catálogo oficial de plaguicidas. México, 111 pp.
- De la Vega-Zalazar, M. Y., Martínez-Tabche, L. y Macias-García, C. 1997. Bioaccumulation of methyl parathion and its toxicology in several species of the freshwater community in Ignacio Ramírez dam in México. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **38**:53-62
- Dumont, H. J. 1977 Biotic factors in the population dynamics of rotifers. *Arch. Hydrobiol. Beih* **8**: 98-112.
- Elissa, B. L., Salibian, A., Ferrari, L., Porta, P. y Borgnia, M. 2003. Evaluación ecotoxicológica no invasiva del cadmio: modificaciones de biomarcadores conductuales en *Cyprinus carpio*. *Biología acuática* **20**: 221.

- Espina, S. y Vanegas, C. 1996. Ecotoxicología y contaminación. En: Contaminación e impacto ambiental: Diagnóstico y tendencias. A. V.
- Faria, I. R., Palumbo, A. J., Fojut, T. L. y Teerdema, R. S. 2010. Water quality criteria report for malation. Phase III: Application of the pesticide water quality criteria methodology. Report prepared for the central Valley Regional Water Quality Control Board.
- Fernández-Casalderry, A., Ferrando, M. D. y Andreu-Moliner, E. 1992. Acute toxicity of several pesticides to the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **48**: 14-17.
- Ferrando, M. D., Sancho, E. y Andreu-Moliner, E. 1995. Chronic toxicity of fenitrothion to an algae (*Nannochloris oculata*), a rotifer (*Brachionus calyciflorus*), and the cladoceran (*Daphnia magna*) *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **35**: 112-120.
- Ferrero, A. A., Gutiérrez, M. M. y Cervellini, M. P. 2001. Evaluación en laboratorio de la toxicidad aguda de los insecticidas malatión y deltametrina en *Chasmagnathus granulata* Dana (Crustacea, Brachyura, Grapsidae). *Invest. Mar. Valparaíso* **29**: 107-111.
- Flores-Burgos, J., Sarma, S. S. S y Nandini, S. 2003 Population growth of zooplankton (rotifers and cladocerans) fed *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* in different proportions. *Acta Hydrochim et Hydrobiol.* **31** (3): 1-9.
- Forbes, V. E. y Calow, P. 1999. Is the per capita rate of increase a good measure of population-level effects in ecotoxicology? *Environ. Toxicol. Chem.* **18**: 1544-1556.
- Fores, E. y Comin, F. A. (2004) Action of malathion plus lindane pesticide on crustacean populations. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **15**, 180-185.

- Foster, S. C., Burk, S. L., Fort, D. J.; Stover, E. L. y Matlock, M. D. 1994. Development and evaluation of a non destructive measure of fish growth for sublethal toxicity assessment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **53**: 85-90.
- Gama-Flores, J. L., Sarma, S. S. S. y Fernández-Araiza, M. A. 1999. Combined effects of *Chlorella* density and methyl parathion concentration on the population growth of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Environ. Contam. Toxicol.* **62**: 769-775
- Gama-Flores, J. L., Sarma, S. S. S. y Nandini, S. 2004. Acute and chronic toxicity of the pesticide methyl parathion to the rotifer *Brachionus angularis* (Rotifera) at different algal (*Chlorella vulgaris*) food densities. *Aquatic Ecol.* **38**: 27-36
- García, A. R. 1997. Evaluación de la toxicidad relativa del DDVP (vapona) mediante bioensayos en siete especies de organismos acuáticos. Tesis de doctorado. Facultad de ciencias. UNAM. México, 149 pp.
- García-García, G., Picazo-Paez, E. A., Nandini, S. y Sarma, S. S. S. 2007. Combined effects of sediment and lead (PbCl<sub>2</sub>) on the demography of *Brachionus patulus* (Rotifera: Brachionidae). *Hydrobiologia* **593**: 209-218
- Gilbert, J. J. y Bodgan, K. G. 1984. Rotifer grazing: in situ studies on selectivity and rates. En: Meyers, D. G. y Strickler, J. R. (eds) *Trophic interactions within aquatic ecosystems*, **85**: 97-133.
- Halbach, U. 1984. Population dynamics of rotifers and its consequences for ecotoxicology. *Hydrobiología* **109**: 79-96.
- Hanazato, T. 1998. Response of a zooplankton community to insecticide application in experimental ponds: a review and the implications of the effects of chemicals on the structure and functioning of freshwater communities. *Environ. Pollut.* **101**: 361-373.

- Hellawell, J. M. 1986. Biological indicators of freshwater pollution and environmental management. Elsevier, London. 518 pp
- Huang, L., Xi, Y. L. y Zhao, L. L. 2007. Effect of aldrin on life history characteristics of rotifer *Brachionus calyciflorus* (Pallas). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **79**: 524-528.
- Juárez-Franco, M. F., Sarma, S. S. S. y Nandini, S. 2007. Effect of cadmium and zinc on the population growth of *Brachionus havanaensis* (Rotifera: Brachionidae). *Journal of Environmental Science and Health Part A* **42**: 1489–1493.
- Kammenga, J. y Laskowski, R. 2000. Demography in Ecotoxicology. John Wiley y sons, Ltd. England.
- Khadka, R. B. y Rao, T. R. 1986. Prey selection by common carp (*Cyprinus carpio* var, *Communis*) larvae in relation to age and prey density. *Aquaculture* 54: 89-96
- Klaasen, C. D. 1999. Manual de Toxicología. Ed Mc Graw-Hill. México.
- Koste, W. 1978. Rotatoria. Die Rädertiere Mitteleuropas. Borntraeger, Berlin, Stuttgart. Vol.1 673 pp.
- Krebs, C. J. 1985 Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance. Harper and Row, New York. 789 p.
- Li-Xia, Ke., Yi-Long, Xi., Chun-Wang, Zha y Li-Li, Dong. 2009. Effects of three organophosphorus pesticides on population growth and sexual reproduction of rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. College of Life Sciences. *Acta Ecologica Sinica* **29**: 82-185.
- LGS Ley General de Salud. 2011. México.

- Mackay, D. 2006. Handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals, Taylor y Francis, Boca Raton
- Margalef, R. 1983. Limnología. Ediciones Omega. Barcelona, 1010 pp.
- Martínez-Tabche, L., Galar, M. M., Olvera, H. E., Cheue, R.A., López-López, E., Gómez-Oliván, L. y Terron-Sierra, O. 2002. Toxic effect and bioavailability of malathion spiked in natural sediments from the Ignacio Ramírez Dam on the snail *Stagnicola* sp. *Ecotoxicol. Environ. Saf* **52**: 232-237
- Massoulie, J. y Bon, S. 1982. The molecular forms of cholinesterase and acetylcholinesterase in vertebrates. *Annu. Rev. Neurosci* **5**: 57-106.
- Moreno, G. 2003. Toxicología ambiental evaluación de riesgo para la salud humana, Mc Graw Hill, España, 370 pp.
- Moutschen-Dahmen, J., Moutschen-Dahmen, M. y Degraeve, N. 1984. Mutagenicity, carcinogenicity, and teratogenicity of insecticides. En: Mutagenicity, Carcinogenicity, and Teratogenicity of Industrial Pollution (M. Kirsch-Volders, Ed.). Chap. 3. Plenum Press. New York. pp. 127-203.
- Mulla, M. S., Majory, G. y Arata, A. A. 1979. Impact of biological and chemical mosquito control agents on non target biotin aquatic ecosystems. *Residue Reviews* **71**: 121-173.
- Mulla, M. S. y Mian, L. S. 1981. Biological and environmental impacts of the insecticides malathion and parathion on non target biota in aquatic ecosystems. *Residue Review* **78**: 101-135.
- NOM, 1994. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamiento a que debe someterse el agua para su potabilización.

Norma publicada en el Diario oficial de la federación el 22 de noviembre del año 2000.

O'connor, D. 1994. Toxic Pollution and its impacto on receiving waters. In: Water quality prevention identification and management of diffuse pollution. New York, E.U. 1054 pp.

Pérez-Legaspi, I. A. y Rico-Martínez, R. 2001. Acute toxicity test on three species of the genus *Lecane* (Rotifera: Monogononta) *Hydrobiol.* 446/447: 375-381.

Perry A. S., Yamamoto, T., Ishaaya, I. y Perry, R. Y. 1998. Applied Agriculture. Insecticides in Agriculture and Environment. Retrospects and prospects. Springer-Verlag, Nueva York, 261 pp.

Planes, S. y Carero, J. M. 1995. Plagas del campo. Editorial Mundi-Prensa. España. 550 pp.

Rao, T. R. y Sarma, S. S. S. 1990. Interaction of *Chlorella* density and DDT concentration on the population dynamics of the rotifer, *Brachionus patulus* (Rotifera). *Indian J. Environ. Health* **32**: 157-160.

Reigart, J. R. y Roberts, J. R. 1999. Organophosphate Insecticides. Recognition and Management of Pesticide Poisonings, 5<sup>th</sup> ed.; U.S Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, Office of Pesticide Programs, U.S. Government Printing Office: Washington, pp 34-47.

Relyea, R. A. 2004. A synergistic impacts of malathion and predatory stress on six species of north american tadpole. *Environ Toxicol Chem.* **4**(23): 1080–1084

Relyea, R. A. 2005. The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities. *Ecol. Appl.* **15** (2): 618-627.

- Relyea, R. A. y Hoverman, J. T. 2008. Interactive effects of predators and a pesticide on aquatic communities. *Oikos* **117**: 1647-1658.
- Restrepo, I. 1992. Los plaguicidas en México. Comisión Nacional de Derechos Humanos, 2° Ed. Editorial Amanuense, México. 296 pp.
- Sarma, S. S. S. 1991. Rotifers and aquaculture. *Environment y Ecology*. **2**: 414-428.
- Sarma, S. S. S. y Rao, T. R. 1987. Effect of food level on body size and egg size in a growing population of the rotifer *Brachionus patulus* Müller. *Arch. Hydrobiol.* **111**: 245-253.
- Sarma, S. S. S. 2000 a. The use of rotifers for ecotoxicological studies in Mexico. En Ríos-Jara, E. *et al.* (eds). Estudios sobre plancton en México y el Caribe. Sociedad Mexicana Planctología, Universidad de Guadalajara, México, pp. 8-11.
- Sarma, S. S. S., Ramírez-Pérez, T. y Nandni, S. 2000 b. Comparison of the sensitivity of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera) to selected heavy metals under low and high food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Bull. Environ. Contam. Toxicol* **64**: 735-739.
- Sarma, S. S. S., Nandini, S. y Gama-Flores, J. L. 2001 a. Effect of methyl parathion on the population growth of the rotifer *Brachionus patulus* (O.F. Müller) under different algal food (*Chlorella vulgaris*) densities. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **48**: 190-195.
- Sarma, S. S. S., Nandini, S., Gama-Flores, J. L. y Fernández-Araiza. M. A. 2001b. Population growth of *Euchlanis dilatata* (Rotifera): Combined effects of methyl parathion and food (*Chlorella vulgaris*). *J. Environ Sci. Health, B* **36**: 43-54.

- Sarma, S. S. S. y Nandini, S. 2006 Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans. *J. Environ. Sci. Health, Part B* **41**: 1417-1430
- Sarma, S. S. S.; Martínez-Jerónimo., Ramírez- Pérez, T. y Nandini, S. 2006. Effect of cadmium and chromium toxicity on the demography and population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). *J. Environ. Sci. Health, Part A* **41**: 543-558.
- Sarma S. S. S., Franco-Téllez, J. L. y Nandini, S. 2008 Effect of algal food (*Chlorella vulgaris*) concentration and inoculation density on the competition among three planktonic Brachionidae (Rotifera: Monogononta). *Hidrobiologica* **18**: 123-132
- Seale, D. B., Boraas, M. E. y Buchholz, L. E. 1993. Application of rotifer continuous cultures to ecotoxicology. En Walz, N. (ed). Plankton regulation dynamics. experiments and models in rotifer continuous cultures. *Springer Verlag*. N.Y. Ecological studies **98**: 243-252.
- Sládeček, V. 1983. Rotifers as indicators of water quality. *Hydrobiologia* **100**: 169-201.
- Slooff, W., Vanoers, J. A y De Zwart, D. 1986. Margins of uncertainty in ecotoxicological hazard assesment. *Environ. Toxicol. Chem.* **5**: 841-852.
- Snell, T. W. y Janssen, C. R. 1995. Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologia* **313**: 231-247.
- Sogorb, M. A. y Vilanova, E. 2002. Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *Toxicol. Lett.* **128**: 215-228.
- Sokal, R. R. y Rohlf, F. J. 2000. Biometry. W.H. Freeman and Company, San Francisco.



- Stemberger, R. S. y Gilbert, J. J. 1984. Spine development in the rotifer *Keratella cochlearis* induction by cyclopoid copepods and *Asplanchna*. *Freshwat. Biol.* **14**: 639-648.
- Sultatos, L. G. 1994. Mammalian toxicology of organophosphorus pesticides. *Toxicol. Environ. Health* **43**: 271-289.
- Tavera, B. K. 2004. Efecto de la densidad y tipo de alimento (*Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus*) sobre la dinámica poblacional de *Daphnia ambigua* (Crustacea: Cladocera). Tesis de licenciatura.UNAM. Facultad de Estudios Superiore Iztacala. México, 43 pp.
- Tomlin, C. D. S. 2006. The pesticide manual, a world compendium. 14th ed.; British Crop Protection Council: Alton, Hampshire, UK, pp: 642-643.
- Wallace, R. L., Snell, T. W., Ricci, C. y Nogrady, T. 2006. Rotifera vol. 1: Biology, ecology and systematics (2<sup>da</sup> edición). En Segers, H. y Dumont, H. J. (eds), Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world, 23. Kenobi Productions, Gent, Belgium and Backhuys Academic Publishing BV. TheHague, The Netherlands. 299 pp.
- Walz, N. 1995. Rotifer populations in plankton communities: Energetics and life history strategies. *Experientia* **51**: 437-453.
- Wang, T. 1991. Assimilation of malathion in the Indian River estuary, Florida. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **47**: 238-243.
- Weber, C. I. 1993 Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. 4th ed. United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, EPA/600/4-90/027F, xv + 293 pp.
- Wetzel, R. G. 2001. Limnology.Academic Press, London, 1006 pp.

WHO. 1986. World Health Organization. Environmental Health Criteria 63. Organophosphorus insecticides: A general introduction. World Health Organization. Ginebra, Suiza.

Wong, C. K., Chu, K. H. y Shum, F. F. 1995. Acute and chronic toxicity of malathion to the freshwater cladoceran *Moina macrocopa*. *Water, Air, Soil Pollut.* **84**: 399-405.

Yanggen, D., Crissman, C. y Espinosa, P. 2003. Los plaguicidas: Impactos en producción, salud y medio ambiente en Carchi, Ecuador. CIP e INIAP.