

# ECOTOXICIDAD DE LOS AGROQUÍMICOS LINDANO Y CLORPIRIFOS SOBRE EL NEMATODO *Panagrellus*, LA MICROALGA *Chlorella* Y EL ENSAYO CON *Allium*<sup>1</sup>

## Ecotoxicity of agrochemicals lindane and chlorpyrifos on the nematode *Panagrellus*, the microalgae *Chlorella* and the *Allium*-test

José Iannacone O.<sup>2</sup> y Ana Gutiérrez S.<sup>2</sup>

### ABSTRACT

As part of the development of standardized ecotoxicology tests, the effects of soil agrochemicals lindane and chlorpyrifos and their vehicle, pirofilite, were tested on the survival, growth, maturation (total fitness: corrected average value) and the inhibition of alkaline phosphatase activity of the nematode *Panagrellus redivivus*; the gross and net photosynthesis and respiration of the microalgae *Chlorella vulgaris* and the root growth inhibition on onion (*Allium cepa*). *Panagrellus* and *Chlorella* were more sensitive to chlorpyrifos, whereas onion roots were more sensitive to lindane. Both lindane and chlorpyrifos affected *Panagrellus* maturation. *Panagrellus* and *Chlorella* bioassays revealed similar results for both agrochemicals, and none of the bioassays showed a more consistent response to the evaluated compounds.

**Key words:** Soil insecticide, bioassay, invertebrate, pesticide, plant, algae.

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad es imprescindible la reducción del uso de plaguicidas contaminantes, entre ellos lindano y clorpirifos, debido a su alta toxicidad, siendo responsables de intoxicaciones, muertes y provocar altos costos ambientales en Perú (Gomero y Rosenthal, 1997).

Entre las consecuencias deletéreas ambientales de los plaguicidas, tenemos el efecto sobre la biota acuática y terrestre, impactando negativamente a estas biocenosis (Johnson, 1973; Kogan y Lattin, 1993; Sujatha *et al.*, 1995). Su empleo generalizado ocasiona efectos adversos en los

organismos no destinatarios. La mayor parte de los plaguicidas del grupo de los organoclorados y organofosforados provocan interferencias en las funciones del sistema nervioso. Se cree que estos pesticidas neuroactivos conllevan efectos tanto sobre la transmisión de impulsos nerviosos, receptores de neurotransmisores como acetilcolina y acetilcolinesterasa (Connell y Miller, 1984; LaGrega *et al.*, 1996).

Es importante determinar el nivel de peligrosidad de estos dos plaguicidas sobre el ecosistema epicontinental acuático y en el suelo, utilizando biosensores o bioensayos (Burton, 1991; Fernández-Casalderry *et al.*, 1992). Entre éstos, el nematodo de vida libre *Panagrellus redivivus*, especie altamente sensible a químicos tóxicos (Samoiloff, 1990), la microalga *Chlorella vulgaris* (Iannacone *et al.*, 1997) y el ensayo con cebolla (*Allium cepa*) (Fiskejo, 1993; 1994).

<sup>1</sup>Recepción de originales: 09 de abril de 1998.

<sup>2</sup>Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Laboratorio de Ecofisiología. Calle San Marcos 383, Pueblo Libre, Lima, Perú. E-mail: fcnm@computextos.com.pe

Los plaguicidas organoclorados y organofosforados, como el lindano y clorpirifos respectivamente, afectan a las comunidades biológicas acuáticas y del suelo, que no son objeto del control, siendo más sensibles los invertebrados (Heckman, 1982; Mitchell, 1993; Pritchard, 1993; Crane *et al.*, 1995; LaGrega *et al.*, 1996).

La determinación de la toxicidad de estos dos plaguicidas permitirá contar con una batería de ensayos sencillos y prácticos para catalogar ecotoxicológicamente diferentes muestras ambientales, como aguas y suelos. De esta forma, se contribuirá a tomar medidas para disminuir la problemática del uso de agroquímicos (Kendall, 1992).

La presente investigación tecnológica tiene por objetivos detectar y medir la toxicidad del lindano y clorpirifos sobre la sobrevivencia, crecimiento y maduración de *Panagrellus redivivus*; la actividad específica de la fosfatasa alcalina de *P. redivivus*; la tasa de fotosíntesis y respiración de *Chlorella vulgaris*; y la inhibición del crecimiento de las raíces de cebolla (*Allium cepa*).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Procedimientos de los bioensayos

#### *Panagrellus redivivus*

El nematodo *P. redivivus* variedad bq1 fue obtenido de la National Water Research Institute, Ontario, Canadá. Este invertebrado presenta cinco estados de desarrollo en todo su ciclo biológico. Bajo condiciones estandarizadas la embriogénesis toma 20 h para producir el estado juvenil ( $J_1$ ) dentro del huevo. El primer estado libre nadador es denominado juvenil 2 ( $J_2$ ).

Los cultivos masivos de nematodos se mantuvieron en envases de vidrio de un litro, conteniendo el medio de cultivo harina-agua: 15 g de agar (Oxoid® # 3) y 1 mL de solución de colesterol en 1 L de agua destilada. Para empezar un nuevo cultivo, fue necesario transferir una

población de nematodos en el medio Buffer fosfato  $M_9$  o  $M_9Y$  (este último incluye levadura Baker®) a una mezcla harina-agua. Nuevos cultivos masivos fueron preparados cada cuatro a seis semanas según la técnica descrita por Samoiloff (1990). Los cultivos utilizados en las pruebas se mantuvieron en placas petri de vidrio usando el medio de cultivo harina-agua.

#### **Sobrevivencia, crecimiento y maduración de *Panagrellus***

En los bioensayos, 10 mL de la muestra con plaguicida a evaluar se diluyeron hasta 100 mL del medio  $M_9Y$ . Las pruebas de toxicidad se realizaron usando los  $J_2$ . El día anterior al bioensayo, se prepararon placas de agar. Las hembras adultas se transfirieron del cultivo madre a las placas de agar. El cultivo de agar en placa se llenó con buffer  $M_9$ . Cada hembra produjo 10-20 recién nacidos ( $J_2$ ) en un período de 12 h. Los juveniles  $J_2$  se manipularon bajo el microscopio estereoscópico. En cada ensayo 10  $J_2$  fueron transferidos con la ayuda de una micropipeta a cada uno de los 10 envases de 2,0 mL por un período de 96 h. Las temperaturas de crecimiento fueron de 20-24°C. Después de 96 h, los envases fueron reabiertos y se registró el número de sobrevivientes, el número de  $J_3$ ,  $J_4$  y adultos, con la ayuda de un microscopio estereoscópico y un ocular micrométrico.

Se determinó la sobrevivencia (S), maduración (M) y crecimiento (G) de la población de *Panagrellus* al ser evaluados bajo la acción de estos plaguicidas. Se calculó el vigor total con el fin de catalogar toxicológicamente la muestra a partir de la siguiente fórmula:  $100 \times (4S + 2G + M)/7$  (Samoiloff, 1990).

#### **Actividad específica de la fosfatasa alcalina de *Panagrellus***

Se evaluó la actividad específica de la fosfatasa alcalina en el nematodo adulto, exponiéndolo 1 h a la acción del lindano y clorpirifos, los cuales se prepararon a dos concentraciones: 0,0016% y 0,04%. Para ello se realizó un homo-

genizado de adultos de 1 mL en buffer fosfato pH 7,4 y después de centrifugar a 3000 rpm se utilizó el sobrenadante. Se determinó la concentración de proteínas según el método de Micro-Lowry para expresar la actividad específica de la fosfatasa alcalina (Bradford, 1976).

### *Chlorella vulgaris*

La cepa fue obtenida del Laboratorio de Cultivos del Instituto del Mar del Perú (IMARPE). Para el mantenimiento de los cultivos se siguió la metodología de APHA (1989), que utiliza un medio a base de harina de pescado refinada en agua destilada, 1 g de harina de pescado disuelto en 1 L de agua destilada, filtrada y autoclavada, alcanzando a las 72-96 h una densidad poblacional de  $7 \times 10^6$  cel/mL, utilizando para su verificación una cámara de Newbauer.

### Determinación de la productividad primaria

Para medir la productividad primaria como un parámetro ecotoxicológico se utilizó el método de la botella clara y oscura. Se colocó la muestra del plaguicida en una proporción de 1:9, en una serie de tres botellas de vidrio de 300 mL, con el cultivo de algas en fase exponencial de  $5 \times 10^5$  (Iannacone, 1997). Se añadieron secuencialmente los reactivos de Winkler (sulfato de manganeso, solución alcali y ácido sulfúrico) a una de las botellas para hacer la determinación final de la concentración inicial de oxígeno de la muestra de cultivo con *Chlorella*. Otra de las botellas se oscureció, cubriéndola con papel aluminio, y junto con la tercera botella clara sin cubrir, se incubaron durante dos horas, después de los cuales cesó el metabolismo por la adición de los reactivos de Winkler, y se determinó el nivel de  $O_2$  (APHA, 1989). La disminución del nivel de oxígeno durante el período de incubación (el de la botella inicial menos el de la botella oscura) se tomó como una medida de la respiración (R) por las microalgas respecto al intervalo de tiempo de dos horas. El aumento de la cantidad de  $O_2$  (el de la botella clara menos el de la botella inicial) se tomó como medida de la fotosíntesis neta

(producción primaria neta, FN). El cambio total en el nivel de  $O_2$  (el de la botella clara menos el de la botella oscura) se utilizó como una medida de la fotosíntesis bruta (producción primaria bruta, FB). Para realizar la conversión a mg de C asimilado  $\times m^{-3} \times h^{-1}$ , se usó el cociente fotosintético promedio de 1,2 y un cociente respiratorio de 1,0 (Marshall, 1991).

### *Allium cepa*

Se escogieron bulbos de igual tamaño de cebolla (*Allium cepa*) de 4,5 cm de diámetro promedio, obtenidos del mercado local, requiriéndose cerca de 50 bulbos para el experimento; estos fueron descamados o pelados uno por uno y colocados en un envase de plástico de dos litros de capacidad con agua destilada, para evitar la desecación de las raíces primordiales. La desventaja potencial que las cebollas hubieran sido tratadas con herbicidas se compensó con los resultados obtenidos con el control. El ensayo de *Allium* se realizó en condiciones ambientales de laboratorio cercanas a 20-24°C, protegidas de la luz directa del sol. Se preparó un medio de crecimiento acuoso para las raíces de *Allium*, según lo indicado por Fiskejo (1993).

A 120 h de exposición, se observaron las diferencias entre las raíces tratadas con los dos plaguicidas y el control. Se analizaron las formas de las raíces (agujillas, espiral o tumores) al final del ensayo, pudiendo tal observación proporcionar información de la acción específica del plaguicida (Fiskejo, 1994). Por cada concentración del plaguicida evaluado se realizaron ocho repeticiones. El medio con los químicos y el control se cambió cada 24 h. Con una regla se midió la longitud de cinco raíces por bulbo de cebolla, ignorando las extremadamente cortas y largas.

### Sustancias químicas

Los plaguicidas lindano (Kuro wañuchi)®, clorpirifos (Lorsban)® y el vehículo Pirofilita 325 (vehículo con que se formulan estos dos

plaguicidas) fueron proporcionados por Productos Químicos SAUME S.A. (Lima, Perú). Este último también fue evaluado, pues se conoce que la formulación de un plaguicida influye en su toxicidad (Heckman, 1982; Flidner, 1996). Las tres sustancias químicas fueron disueltas al 1% en agua destilada, usando como solvente acetona en una concentración (0,5% v/v), que no causa efecto en los bioensayos (Calleja y Persoone, 1993; Crisinel *et al.*, 1994).

Para el bioensayo con *Panagrellus*, de sobrevivencia, crecimiento y maduración, así como de inhibición enzimática de la fosfatasa alcalina, se realizaron las evaluaciones preparando para los tres químicos una solución al 0,04% (lindano, 600 ug/L; pirofilita 40.000 ug/L y clorpirifos 1.000 ug/L) y 0,0016% (lindano, 24ug/L; pirofilita 1.600 ug/L y clorpirifos 40 ug/L) de producto comercial con el medio de cultivo para nematodos. Para el caso del ensayo ecotoxicológico con *Chlorella* se trabajó con una dilución al 0,004% (lindano 60 ug/L; pirofilita 4.000 ug/L y clorpirifos 100 ug/L). Para el caso del ensayo de *Allium* se trabajó al 0,1% (lindano 1.500 ug/L, pirofilita 100.000ug/L y clorpirifos 2.500 ug/L) en el medio de crecimiento para raíces.

### Análisis estadístico

#### *Panagrellus*

La sobrevivencia (S), crecimiento (G), maduración (M) y vigor total ( $V_T$ ) fueron contrastados con el control usando el análisis estadístico chi-cuadrado. Además se determinó el vigor total de la prueba y el vigor total comparativo (Samoiloff, 1990; Iannacone *et al.*, 1997). Para determinar las diferencias en la actividad enzimática específica de la fosfatasa alcalina (en nM/min/mg de proteína) de *Panagrellus* en tres repeticiones, entre los tres químicos y el control, se usó el análisis de varianza simple (ANDEVA) de una sola vía. En el caso de existir diferencias significativas se usó el estadístico de Tukey (Zar, 1984).

#### *Chlorella*

Se determinaron los valores diferenciales de la FB, FN y R entre el control y los tres químicos evaluados, usando la prueba estadística Chi-cuadrado (Zar, 1984). La prueba se consideró positiva cuando por lo menos dos de los tres valores calculados obtuvieron diferencias del 20% respecto al control (Iannacone, 1997).

#### *Allium*

Se determinaron los promedios, valores mínimos, máximos y desviaciones estándares de las longitudes de las raíces de bulbos de cebolla de las ocho repeticiones por muestra y concentración de los químicos evaluados. Se realizó un ANDEVA simple, para comparar las diferencias existentes entre los promedios obtenidos. En el caso de existir diferencias significativas, se usó el estadístico de Tukey (Zar, 1984). Además se compararon los promedios del número de raíces por bulbo entre los tres tratamientos y el control.

### Evaluación ecotoxicológica comparativa

Se realizó un análisis estadístico usando el coeficiente de concordancia de Kendall (1992) para mostrar cuál de los tres químicos evaluados producía mayor toxicidad. Se llevó a cabo una matriz de correlación entre los cuatro bioensayos empleados, considerando el vigor total de *Panagrellus* (0,0016%), actividad de la fosfatasa alcalina de *Panagrellus* (0,0016%), valor inverso del porcentaje diferencial del promedio de FB, FN y R con *Chlorella* (0,004%) y valor complementario del porcentaje de inhibición de *Allium* (0,1%) (Zar, 1984).

## RESULTADOS

### *Panagrellus*

El Cuadro 1 muestra los valores de sobrevivencia, crecimiento y maduración para *Panagrellus redivivus* a 96 horas de exposición a los tres químicos. Para los tres tóxicos, a concentración del 0,04%, la sobrevivencia no sobrepasó el

10%. A la concentración de 0,0016%, el Cuadro 1 muestra el siguiente orden de toxicidad: clorpirifos, pirofilita y lindano. Los valores de vigor total comparativos fueron de 55,36; 37,20; y 20,45 para el lindano, pirofilita y clorpirifos, respectivamente. En el caso del parámetro crecimiento, el más tóxico resultó ser la pirofilita, luego clorpirifos y en menor grado el lindano. Siendo para todos los casos los resultados estadísticamente significativos ( $X^2 > 5$ ,  $P < 0,05$ ). El clorpirifos mostró un indicio de efecto genotóxico marcado, a ambas concentraciones,

al producir que ningún  $J_4$  lograra alcanzar el estado adulto.

La Figura 1 muestra comparativamente la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina en adultos de *Panagrellus*, observándose una mayor inhibición en el clorpirifos, pirofilita y finalmente lindano, para ambas dosis (0,0016% y 0,04%). El ANDEVA muestra que existen diferencias entre el control y los tres químicos ( $P < 0,05$ ), produciéndose una disminución de la actividad enzimática a mayor concentración del tóxico.

**Cuadro 1. Comparación de los valores porcentuales de Supervivencia (S), Crecimiento (G), Maduración (M) y Vigor total (Vt) para el bioensayo con *Panagrellus* a 96 h de exposición a lindano y clorpirifos**

**Table 1.- Relative values of Survival (S), Growth (G), Maturation (M) and Total Fitness (Vt) for the *Panagrellus* bioassay after a 96-h exposure to lindane and chlorpyrifos**

Parámetro	Control	Lindano		Clorpirifos		Pirofilita	
		0,04%	0,0016%	0,04%	0,0016%	0,04%	0,0016%
Sobrevivencia	100	6	58	0	13	2	42
Crecimiento	97	51,54	65,76	0	45,58	103,09*	39,27
Maduración	90	0	24,02	0	0	55,55	13,88
Vigor total	97,71	18,53	55,36	0	20,45	38,53	37,2

\*Valores estadísticamente no diferentes del control.

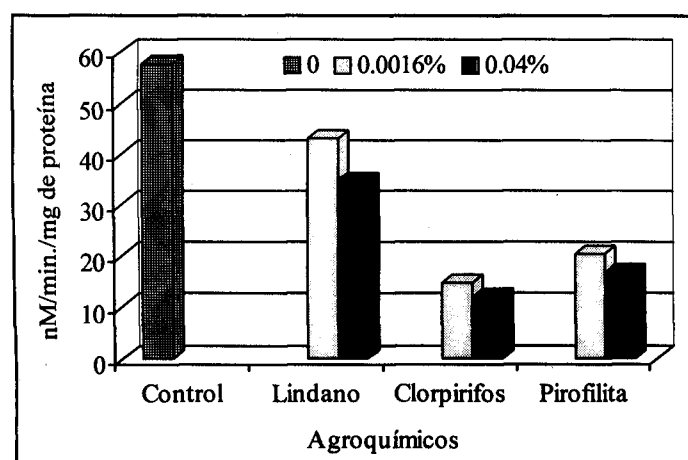


Figura 1. Comparación de la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina en *Panagrellus redivivus* expuesta a lindano y clorpirifos.

Figure 1. Inhibition of alkaline phosphatase activity in *Panagrellus redivivus* exposed to lindane and chlorpyrifos.

### Chlorella

El Cuadro 2 muestra los valores de FB, FN y R obtenidos para el control y para los tres químicos evaluados, observándose que para la concentración evaluada de 0,04%, los valores porcentuales para los tres químicos son mayores al 20% en por lo menos dos valores, en FN y R. El orden descendente de toxicidad es clorpirifos, pirofilita y lindano.

### Allium

El Cuadro 3 muestra los valores de estadística descriptiva para el control y los tres productos químicos. Se observa que el mayor porcentaje de inhibición de crecimiento

**Cuadro 2. Comparación de los valores de Fotosíntesis Bruta (FB), Fotosíntesis Neta (FN) y Respiración (R) para el bioensayo con *Chlorella* a dos h de exposición a lindano y clorpirifos**

**Table 2. Gross (FB) and net (FN) photosynthesis and respiration (R) values of the *Chlorella* bioassay after a 2-h exposure to lindane and chlorpyrifos**

Parámetro	Control	Lindano	Clorpirifos	Pirofilita
		0,04% C asimilado m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup>		
FB	956,62	862,97	1.069,71	1.699,33*
FN	556,96	62,94*	1.429,94*	89,27*
R	430	75,18*	2.999,68*	2.146,39*

\*Valores diferentes al control.

**Cuadro 3. Valores comparativos del promedio de las longitudes (cm) de las raíces de cebolla en el bioensayo con *Allium* a 120 h de exposición a lindano y clorpirifos**

**Table 3. Average root growth (cm) in the *Allium* test after a 120-h exposure to lindane and chlorpyrifos**

Parámetro (cm)**	Control	Lindano	Clorpirifos	Pirofilita
		0,10%		
Promedio	4,74	1,48*	3,66*	4,62
Mínimo	1	0,5	1	2,7
Máximo	7,4	2,7	6,1	6,7
Desviación estándar	1,73	0,51	1,43	0,89

\*Valores diferentes al control.

\*\*Número de raíces = 40, en ocho bulbos de *Allium*.

de raíces se produce a la dosis de 0,1%, para el lindano con 68,78%; seguido de clorpirifos con 22,78% y finalmente de pirofilita con 2,54%. El ANDEVA y la prueba de Tukey muestran que existen diferencias entre el control, el lindano y clorpirifos, pero no con la pirofilita ( $P < 0,05$ ). El análisis del número de raicillas por bulbo de cebolla, según el Cuadro 4, muestra que no existen diferencias significativas entre el control y ninguno de los tres químicos ( $P < 0,05$ ). Las características morfológicas de las raíces expuestas al lindano, muestran un ápice notoriamente grueso, con presencia de nódulos y encorvadas; en clorpirifos se presentan raíces largas y delgadas,

siendo algunas encorvadas; finalmente en la pirofilita se presentan raíces de longitud variable, encorvadas y con nódulos.

**Evaluación ecotoxicológica comparativa**

El Cuadro 5 muestra el estadístico de concordancia de Kendall, confirmando que de los tres bioensayos evaluados, el clorpirifos presenta mayor toxicidad que la pirofilita y el lindano. La matriz de Correlación de Pearson muestra que los dos bioensayos con *Panagrellus* están correlacionados positivamente con el ensayo con *Chlorella* ( $P < 0,05$ ) (Cuadro 6).

**Cuadro 4. Valores comparativos del número promedio de raíces de cebolla en el bioensayo con *Allium* a 120 h de exposición a lindano y clorpirifos**

**Table 4. Average root number in the *Allium* test after a 120-h exposure to lindane and chlorpyrifos**

	Control	Lindano	Clorpirifos	Pirofilita
		0,10%		
<b>Parámetro (cm)**</b>				
Promedio	20,12	21,62	17,62	19,75
Mínimo	8	7	7	8
Máximo	36	42	30	32
Desviación estándar	11,55	12,08	9,02	8,9

\*Número de bulbos de cebolla = 8.

**Cuadro 5. Análisis estadístico comparativos de concordancia de Kendall con los cuatro bioensayos empleados para evaluar la toxicidad de plaguicidas del suelo**

**Table 5. Statistical analysis with the Kendall's concordance test of four bioassays used to assess the toxicity of soil pesticides evaluated**

Bioensayo/Orden	Lindano	Clorpirifos	Pirofilita
	Orden		
Vt en <i>Panagrellus</i> *	3	1	2
Inhibición enzimática	2,5	1	2,5
<i>Chlorella vulgaris</i> **	3	1	2
Inhibición de raíces de <i>Allium</i>	1	2	3
Sumatoria	9,5	5	9,5
Orden de toxicidad	2	1	2

\*Valor total ponderado del ensayo de sobrevivencia, crecimiento y maduración.

\*\*Valor promedio de fotosíntesis bruta, fotosíntesis neta y respiración.

**Cuadro 6. Matriz de correlación entre las cuatro pruebas ecotoxicológicas evaluadas a lindano y clorpirifos**

**Table 6. Correlation matrix of four ecotoxicological assays used to study lindane and chlorpyrifos**

	Vt en <i>Panagrellus</i>	Inh. enzimática	<i>Chlorella vulgaris</i>	Inh. raíces de <i>Allium</i>
Vt en <i>Panagrellus</i> **				
Inh. enzimática	0,952*			
<i>Chlorella vulgaris</i>	0,989*	0,987*		
Inh. de raíces de <i>Allium</i>	0,694*	0,881	0,795	

\*Valores de correlación significativa (P < 0,05).

\*\*Valor total ponderado del ensayo de sobrevivencia, crecimiento y maduración.

## DISCUSIÓN

Las semillas acuáticas, las algas y los protozoarios son considerablemente menos sensibles a los organoclorados que los artrópodos y peces (Bodestein, 1972). Las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas reinhardtii* han mostrado que metabolizan el lindano en el agua muy rápidamente, mostrando poca influencia en la productividad y teniendo capacidad de degradación de compuestos orgánicos y bioacumulación de organoclorados como el lindano (Kobayashi y Rittman, 1982). En nuestro caso la fotosíntesis bruta de *Chlorella* no es afectada significativamente respecto al control a 60 ug/L frente a este organoclorado, presentando menor sensibilidad al lindano que al clorpirifos (Cuadro 2).

Bodestein (1972) ha mostrado en un estudio comparativo del lindano y de los organofosforados, que el lindano tiene un menor efecto en los gusanos de tierra y diplopodos que los organofosforados. De igual forma el organofosforado clorpirifos tuvo un mayor efecto en la sobrevivencia del nematodo de suelo *Panagrellus* que el lindano, sin embargo su notable efecto en la maduración de *Panagrellus* es del mismo orden de magnitud que el clorpirifos (Cuadro 1). El lindano no muestra una apreciable influencia en la sobrevivencia de nematodos de suelo, tubificidos y planarias. El bioensayo con partículas mitocondriales muestra una mayor toxicidad del clorpirifos frente al lindano (Knobeloch *et al.*, 1990). El lindano es un fuerte estimulante enzimático (Bodestein, 1972), lo que se puede apreciar en la Figura 1, que muestra una menor inhibición enzimática que el clorpirifos.

Los resultados del ensayo con *Allium* muestran un notable efecto mitógeno del lindano al 0,1%, al inhibir fuertemente el crecimiento de las raíces de cebolla (Cuadro 3). Además el índice mitótico disminuyó cerca del 50% (observación personal). Wangberg *et al.* (1995) muestran que la sensibilidad de una prueba depende de su punto final y de como es interpretada. La prueba de *Allium* muestra una sensibilidad intermedia,

frente a los ensayos con algas, con el microcrustáceo *Nitocra* y *Ceriodaphnia*, y el ensayo Microtox® (Wangberg *et al.*, 1995). En nuestro caso presentó una inhibición cercana al 69% para el lindano, y 23% para el clorpirifos.

Los resultados del Cuadro 5 muestran algunas diferencias en la sensibilidad a los tres químicos ensayados, estando en concordancia con otros estudios, en los cuales se analizaron diferencias en la sensibilidad a químicos puros (Blank, 1984; Wangber *et al.*, 1995). Los resultados muestran sorprendentemente una toxicidad para los tres bioensayos con la pirofilita 325, vehículo para la formulación del clorpirifos y el lindano (Benjamín Rey, comunicación personal). Sin embargo las dosis empleadas son extremadamente altas.

El uso de una batería con diferentes rangos de sensibilidad reduce el riesgo de sobrestimar la toxicidad potencial para una sustancia o mezcla de sustancias que ingresan a un ecosistema (Blank, 1984).

## CONCLUSIONES

1. Una batería multitrófica compuesta por un invertebrado, una microalga, una planta superior y un ensayo bioquímico, permite catalogar más apropiadamente el riesgo potencial de un agroquímico en el medio ambiente.
2. El clorpirifos presentó mayor toxicidad en el bioensayo con *Panagrellus redivivus* y con *Chlorella vulgaris*; en cambio en el bioensayo con *Allium cepa*, el lindano presentó mayor efecto sobre la inhibición del crecimiento de raíces.
3. El lindano y el clorpirifos presentan un notable efecto sobre la maduración de *Panagrellus redivivus*.
4. Se observa una correlación positiva entre el bioensayo con *Panagrellus redivivus* y la productividad primaria con *Chlorella vulgaris*.



## RESUMEN

Como parte del desarrollo de pruebas ecotoxicológicas estandarizadas, se evaluó el efecto de dos agroquímicos de suelo, lindano y clorpirifos, y el vehículo de ambos, la pirofilita. Fueron probados en la sobrevivencia, crecimiento y maduración (vigor total: valor promedio ponderado) y en la inhibición de la actividad de la fosfatasa alcalina del nematodo *Panagrellus redivivus*; en la fotosíntesis neta y bruta y en la respiración de la microalga *Chlorella vulgaris* y efectos inhibitorios en el crecimiento de la raíz de la cebolla (*Allium cepa*). Los bioensayos con *Panagrellus* y con *Chlorella* fueron más sensibles al clorpirifos. El ensayo con *Allium* fue más sensible al lindano. El lindano y el clorpirifos tuvieron un efecto en la maduración de *Panagrellus*. Los ensayos con *Panagrellus* y *Chlorella* mostraron resultados comparables para los agroquímicos investigados. Sin embargo, ningún ensayo fue consistentemente el más sensible a todos los compuestos evaluado.

**Palabras claves:** Insecticida de suelo, bioensayo, invertebrado, plaguicida, planta, alga.

## AGRADECIMIENTOS

A la Bióloga Lorena Alvarino F. (UNFV-SEDAPAL), por el apoyo en la obtención de la cepa de *Panagrellus*. A los estudiantes de biología Anita Arrascue L., por su contribución en el manejo y evaluación ecotoxicológica de *Chlorella vulgaris*; Marcella Dionisio T., por el manejo del ensayo de *Allium*; Kenneth Velásquez R. y Javier Sánchez E., por el manejo del cultivo de *Panagrellus redivivus*.

Esta investigación fue financiada por la Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA) en 1997.

## LITERATURA CITADA

- APHA. 1989. Standard methods for examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 17 th. ed. American Health Association. Washington, D.C. 1345 p.
- BLANK, H. 1984. Species dependent variation among aquatic organism in their sensitivity to chemicals. Ecol. Bull. 36: 107-119.
- BODESTEIN, G. 1972. Lindane in the environment. In: Lindane. Centre International D'Studies du Lindane (CIEL). (Ed.). Bruselles. Belgium. 422 p.
- BRADFORD, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.
- BURTON, G.A. JR. 1991. Assessing the toxicity of freshwater sediments. Environ. Toxicol. Chem. 10: 1585-1627.
- CALLEJA, M.C. AND PERSOONE, G. 1993. The influence of solvents on the acute toxicity of some lipophilic chemicals to aquatic invertebrates. Chemosphere 26: 2007-2022.
- CONNELL, D.W. AND MILLER, G.J. 1984. Chemistry and Ecotoxicology of Pollution. New York, USA. John Wiley & Sons. 489 p.
- CRANE, M.; DELANEY, P.; MAINSTONE, C. AND CLARKE, S. 1995. Measurement by *in situ* bioassay of water quality in an agricultural catchment. Wat. Res. 29: 2441-2448.

- CRISINEL, A.; DELAUNAY, L.; ROSEL, D.; TARRADELLAS, J.; MEYER, H.; SAIAH, H.; VOGEL, P.; DELISIE, C. AND BLAISE, C. 1994. Cyst-based ecotoxicological tests using anostracans: comparison of two species of *Streptocephalus*. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 9: 317-326.
- FERNÁNDEZ-CASALDERRY, A.; FERRANDO, M.D. AND ANDREU, E. 1992. Acute toxicity of several pesticides to rotifer (*Brachionus calyciflorus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 48: 14-17.
- FISKEJO, G. 1993. A 2-3 days plant test for toxicity assessment of various chemicals by measuring the mean root growth of a series of onions (*Allium cepa* L.). *Environ. Toxicol. Water Qual.* 8: 461-470.
- FISKEJO, G. 1994. *Allium* Test II: Assessment of a chemical's genotoxic potencial by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in root tips of *Allium cepa* L. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 8: 461-470.
- FLIEDNER, A. 1996. Effects of lindane on the planktonic community in freshwater microcosms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 33: 228-235.
- GOMERO, O.L. Y ROSENTHAL, R. 1997. Plaguicidas en América Latina: participación ciudadana en políticas para reducir el uso de plaguicidas. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina (RAPAL). Lima, Perú. 464 p.
- HECKMAN, C.H. 1982. Pesticide effects on aquatic habitats. *Environ. Sci. Technol.* 16: 48A-57A.
- IANNAZONE, J.A. 1997. Efecto de los residuos tóxicos en la determinación de la productividad primaria de la microalga *Chlorella vulgaris*. *En: Guía Práctica del curso Participación Microbiana en Eventos de Impacto Ambiental e Industrial.* Cocha, J.M.; Ramírez, P.S.; Aurazo, M.; Iannacone, J. y Cañari, A. (Eds.). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Ciencias Biológicas. Lima, Perú. p. 32-37.
- IANNAZONE, J.A.; GUTIÉRREZ A.I. Y VARGAS, N.N. 1997. Ecotoxicidad de la Cuenca Alta del río Rímac (Tamboraque y Perubar) utilizando al nematodo *Panagrellus redivivus* y a la microalga *Chlorella vulgaris*. *Hipótesis* 8: 42-49.
- JOHNSON, D.W. 1973. Pesticide residue in fish. *In: Edward, C.A. (Ed.). Environmental Pollution by Pesticides.* Plenum Press. New York, USA. p. 181-212.
- KENDALL, R.J. 1992. Farming with agrochemicals: the response of wildlife. *Environ. Sci. Technol.* 26: 239-245.
- KNOBELOCH, L.M.; BLONDIN, G.A. AND JARKIN, J.M. 1990. Use of submitochondrial particles for prediction of chemical toxicity. *Bull. Environ. Toxicol.* 44: 661-668.
- KOBAYASHI, H. AND RITTMANN, B.E. 1982. Microbial removal of hazardous organic compounds. *Environ. Sci. Technol.* 16: 170A-182A.
- KOGAN, M. AND LATTIN, J.D. 1993. Insect conservation and pest management. *Biodiversity and Conservation* 2: 242-257.
- LAGREGA, M.D.; BUCKINGHAM, P.L. Y EVANS, J.C. 1996. Gestión de residuos tóxicos: tratamiento, eliminación y recuperación de suelos. Volumen I. Madrid, España. McGraw-Hill/Interamericana. 634 p.

- MARSHALL, W.D. 1991. *Biología de las Algas: Enfoque Fisiológico*. México D.F. Editorial Limusa. 236 p.
- MITCHELL, G.C. 1993. Effect of lindane on macro-invertebrates and periphyton in outdoors artificial streams. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 25: 90-102.
- PRITCHARD, J.B. 1993. Aquatic toxicology: past, present, and prospects. *Environ. Health Persp.* 100: 249-257.
- SAMOILOFF, M.R. 1990. The nematode toxicity assay using *Panagrellus redivivus*. *Biol. Assess.* 5: 309-318.
- SUJATHA, C.H.; NARI, S.M. AND CHICKO, J. 1995. Tissue lipid levels of the Clam, *Villorita cyprenoides var. cochinchinensis*, following exposure to endosulfan, malathion, and methyl parathion. *Environ. Toxicol. Wat. Qual.* 10: 231-235.
- WANGBERG, S.A.; BERGSTROM, B.; BLANK, H. AND SVANBERG, O. 1995. The relative sensitivity and sensitivity patterns of short-term toxicity tests applied to industrial wastewaters. *Environ. Toxicol. Wat. Qual.* 10: 81-90.
- ZAR, J. 1984. *Bioestatistical analysis*. New Jersey, USA. Prentice-Hall. 718 p.