

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS, DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**



TESIS DE GRADO

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA BIOACUMULACIÓN
DE COP'S Y DAÑO GENÉTICO EN HÍGADO DE
Goodea atripinnis Y *Pelycanous erythrorhyncus*
DEL LAGO DE CHAPALA Y DE LA LAGUNA DE SAYULA**

ARMANDO ARÉVALO HERNÁNDEZ

**DIRECTOR DE TESIS
DR. EN CIENCIAS DE LA SALUD. CARLOS ÁLVAREZ MOYA**

GUADALAJARA, JALISCO, JULIO DE 2008



Universidad de Guadalajara

**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y
Agropecuarias**

**DRA. LAURA GUZMÁN DÁVALOS
PRESIDENTA DE LA JUNTA ACADÉMICA
DEL POSGRADO EN CIENCIA BIOLÓGICA**

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado la tesis de doctorado **Estudio Comparativo de la Bioacumulación de COP'S y Daño genético en Hígado de *Goodea atripinnis* y *Pelycanous erythrorhyncus* del Lago de Chapala y de la Laguna de Sayula** realizada por el M en C. Armando Arévalo Hernández con código 82042598 para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas, ha quedado a nuestra entera satisfacción por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su debida impresión

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

**ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"**

Las Agujas, Zapopan., 10 de febrero del 2008.


**DR. CARLOS ALVAREZ MOYA
DIRECTOR DE TESIS**


DR. EULOGIO PIMIENTA BARRIOS


DRA. ANNE SANTERRE LUCAS


DR. ALFONSO ISLAS RODRÍGUEZ


DR. HUGO CASTAÑEDA VÁZQUEZ.

DEDICATORIA

A MIS PAPÁS:

MARÍA HERNÁNDEZ HURTADO (+)

MANUEL ARÉVALO BRIONES (+)

JUANA ARÉVALO BRIONES (+)

BERNARDINO VÁZQUEZ OROZCO (+)

A MI ESPOSA:

SILVIA TORRES LÓPEZ

A MIS HIJOS:

ITZCOATL MARIO ARMANDO

TLAKAELETL MANUEL DANIEL

A TODOS MIS HERMANOS:

DE LA FAMILIA ARÉVALO HERNÁNDEZ

DE LA FAMILIA VÁZQUEZ ARÉVALO

A DON MANUEL VILLAGÓMEZ RODRÍGUEZ

GRAN LUCHADOR SOCIAL Y DEFENSOR DEL LAGO DE CHAPALA.

AGRADECIMIENTOS

AL CREADOR, EL GRAN ARQUITECTO DEL UNIVERSO

A MI DIRECTOR DE TESIS
DR EN C. CARLOS ÁLVAREZ MOYA,

A QUIEN SIEMPRE ME TENDIO LA MANO
DRA. EN C. ANNE SANTERRE

A DOS COMPAÑEROS
FERNANDO ÁLVAREZ MOYA
MÓNICA REYNOSO SILVA

A LOS DOCTORES
ENRIQUE Y EULOGIO PIMIENTA BARRIOS

AL RECTOR GENERAL DE LA UDG
MTRO. CARLOS BRISEÑO TORRES

Y TODOS AQUELLOS QUE DE UNA FORMA U OTRA ME AYUDARON
EN LA REALIZACIÓN DE ESTE DOCTORADO

ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS, CUADROS, Y TABLAS.....	v
RESUMEN.....	ix
SUMMARY.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES:	2
CONTAMINACIÓN AMBIENTAL Y SUSTANCIAS MUGAGÉNICAS.....	2
MUTÁGENOS QUÍMICOS.....	2
PLAGUICIDAS.....	4
COP'S.....	7
PRUEBA DEL COMETA ALCALINO (PCA).....	9
LAGO DE CHAPALA.....	12
IMPORTANCIA BIOLÓGICA DEL LAGO DE CHAPALA.....	12
LOCALIZACIÓN Y EXTENSIÓN DEL LAGO DE CHAPALA.....	14
SAYULA.....	15
<i>Goodea</i> <i>atripinnis</i>	17
<i>Pelycanous</i> <i>erythrorhyncus</i>	18
AGUA CONTAMINADA PARA ABASTECER LA ZONA DE GUADALAJARA.....	20
JUSTIFICACIÓN.....	22
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	23
HIPÓTESIS.....	24
OBJETIVO GENERAL.....	25
OBJETIVOS ESPÉCIFICOS.....	26
METODOLOGÍA:	27
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	27
COLECTA DE MUESTRAS.....	27

<i>DETERMINACIÓN DE COP'S EN HÍGADO</i>	
<i>DE Goodea atripinnis y Pelycanous erythrorhyncus.....</i>	28
<i>PREPARACIÓN DE CÉLULAS.....</i>	29
<i>PRUEBA DEL COMETA ALCALINO.....</i>	29
<i>ANÁLISIS</i>	
<i>ESTADÍSTICO.....</i>	29
RESULTADOS.....	30
DISCUSIÓN.....	41
CONCLUSIONES.....	43
REFERENCIAS.....	44

ÍNDICE DE FIGURAS, CUADROS Y TABLAS

Figura 1. Acción del etilmetano sulfonato (EMS) sobre la guanina. La alquilación oxidativa de este compuesto convierte a la guanina en 6 etil guanina.....	3
cuadro 1. Pesticidas organoclorados, organofosforados, carbamatos y tiocarbamatos.....	6
Cuadro 2. Se muestra ventajas y desventajas de diversas pruebas que se utilizan para detectar daño genético.....	10
Figura 2. Visualización de la típica célula cometizada, la longitud de la cauda indica el grado de daño genético.....	11
Cuadro 3. Parámetros utilizados en la prueba del cometa alcalino.....	12
Figura 3. (a) Foto de la Laguna de Chapala, (b) mapa del mismo.....	13
Figura 4. La cuenca del Río Lerma, que lleva grandes cantidades de contaminantes y desechos industriales al Lago de Chapala.....	14
Figura 5. Laguna de Sayula. (a) foto, (b) mapa.....	16

Figura 6. <i>Goodea atripinnis</i>	17
Cuadro 4. Taxonomía del <i>Goodea atripinnis</i>	18
Figura 7. <i>Pelycanous erythrorhyncus</i> del Lago de Chapala y Laguna de Sayula.....	19
Cuadro 5. La taxonomía de <i>Pelycanous erythrorhyncus</i>	29
Figura 8. Miles de peces yacen muertos en la ribera del río Lerma en el poblado de Cuatro Milpas, en Guanajuato, por la gran contaminación.....	21
Tabla 1. Concentración de COP´S en muestras de agua del Lago de Chapala y la Laguna de Sayula a lo largo de 2 años, 2004 y 2005 (estiajes y lluvias).....	31

Tabla 2. Concentración de COP'S en hígado de *Goodea atripinnis* del lago de Chapala y Laguna de Sayula en la etapa 1 (sequía del 2004). Se presenta también la migración promedio de la cauda del cometa y en la parte inferior su comparación estadística..... 32

Tabla 3. Concentración de COP'S en tejidos de *Goodea atripinnis* del Lago de Chapala y la Laguna de Sayula en la etapa 2 (lluvias del 2004). Se presenta también la migración promedio de la cauda del cometa y su comparación estadística en la parte inferior.....33

Tabla 4. Concentración de COP'S en tejidos de *Goodea atripinnis* de Chapala y Sayula en la etapa 3 (sequía 2005). Se presenta también la migración promedio de la cauda del cometa y su comparación estadística en la parte inferior.....34

Tabla 5. Concentración de COP'S en tejidos de *Goodea atripinnis* de Chapala y Sayula en la etapa 4 (lluvias 2005). Se presenta también la migración promedio de la cauda del cometa y su comparación estadística en la parte inferior.....35

Tabla 6 Concentración de COP'S en tejidos de *Pelycanous erythrorhyncus* de Chapala y Sayula en la etapa 1 (sequía 2004). Se presenta también la migración promedio de la cauda del cometa y en la parte inferior su comparación estadística.....36

Tabla 7. Concentración de COP'S en tejidos de *Pelycanous erythrorhyncus* de Chapala y Sayula en la etapa 2 (lluvias, 2004). Se presenta también la migración promedio de la cauda del cometa y su comparación estadística en la parte inferior.....37

Tabla 8. Concentración de COP'S en tejidos de *Pelycanous erythrorhyncus* del Lago de Chapala y la Laguna de Sayula en la etapa 3 (sequía 2005). En la parte inferior se presenta también la migración promedio de la cauda y la comparación estadística entre ambas.....38

Tabla 9. Concentración de COP'S en tejidos de *Pelycanous erythrorhyncus* de Chapala y Sayula en la etapa 4 (lluvias 2005). En la parte inferior se presenta también la migración promedio de la cauda y su comparación estadística.....39

RESUMEN

La prueba del cometa alcalino es una herramienta muy poderosa para detectar y evaluar daño genético inducido por sustancias químicas en varias especies de animales entre ellos los pelicanos y los peces. En este trabajo se emplea con el propósito de detectar la existencia de este daño en dos especies de animales (*Pelycanous erythrorhycus* y *Goodea atripinnis*) del lago de Chapala y laguna de Sayula. Para ello, se estandarizó esta prueba para cada una de estas especies, y se diseñó una metodología para la obtención de núcleos de ambas (PCA).

Los compuestos órgano-persistentes (COP'S) son sustancias con capacidad mutagénica utilizados en la agricultura e industria. Se determinó presencia de COP'S en aguas del Lago de Chapala y la Laguna de Sayula tanto en época de sequía y de lluvias durante los años 2004 y 2005. Las lecturas indicaron muy bajas concentraciones y variaron de una a otra temporada. Destaca el incremento de metoxicloro, 2,4 D y DDT lo que indica que estos son arrastrados hasta los cuerpos de agua durante la temporada de lluvias.

El análisis cromatográfico de COP'S en hígado de *Goodea atripinnis* de Chapala y Sayula durante la época de sequía mostró también presencia de COP'S, sin embargo, el 2,4 D bioacumulado en el hígado de peces de Chapala se encuentra 10 veces más concentrado (0.02 ppm) con respecto a los de Sayula (0.002 ppm).

En la primera etapa se observó daño genético en los peces de ambos embalses, debido, probablemente al 2,4,D. En la segunda etapa hubo diferencia significativa ($P < 0.01$) en el *Goodea* de Sayula pero no para el *Goodea* de Chapala. El daño genético en Sayula se atribuye a otras sustancias con capacidad mutagénica diferentes a los COP'S.

SUMMARY

The Alkaline Comet Assay (PCA) is a powerful tool to detect and assess genetic damage induced by chemical substances in several kinds of animals among which fish and pelicans. In the present work, we used it in order to detect this kind of damage in *Pelycanous erythrorhycus* and *Goodea atripinnis* from Chapala Lake and Sayula lagoon. We standardized the assay for each one of these species, and designed a specific methodology for the acquisition of nucleus from both species.

The persistent organic compounds (COP'S) are substances with mutagenic ability, widely used in agricultural and industrial areas. Their concentration were determined in waters from Chapala lake and Sayula lagoon during rainy and drought seasons over a two years period. Experimental data showed very low concentrations of COP'S and their variation between dry and rainy seasons. Please notice the increase of metoxicloro, 2, 4 D, and DDT indicating that these compounds are probably washed away to the water bodies during rainy seasons.

The chromatographic analysis of COP'S in *Goodea atripinnis* liver from both Chapala Lake and Sayula Lagoon during the period of drought confirmed the presence of theses substances. The bioaccumulation of 2, 4, D was 10 times higher in liver of fish from Chapala (0.02 ppm) compared with samples from Sayula Lagoon (0.00 2 ppm).

During the first sampling period genetic damage was observed in fish from both lakes, probably due to 2,4 D. During the second period significant differences ($p < 0.01$) were obtained in samples from Sayula but not for Chapala, indicating the presence of different mutagenic substances other than COP'S between both lakes.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos orgánicos persistentes (COP'S) son sustancias químicas a base de carbono que incluyen químicos industriales como los bifenilos policlorados (PCB'S), dioxinas y plaguicidas, en el último caso: DDT, aldrín, dieldrín, mirex, toxafeno, clordano, heptacloro. Estas sustancias provocan diversos efectos: daño al sistema nervioso central y periférico, desordenes reproductivos, quebrantamientos en el sistema inmunológico, malformaciones en el nacimiento y hasta la muerte. Algunos de ellos poseen actividad mutagénica y carcinogénica y se tienen reportes de su presencia en aguas del Río Lerma-Santiago y el lago de Chapala, donde habitan una gran cantidad de organismos que obviamente los consumen, más aún, de este lago se extrae el agua para consumo de los habitantes de Guadalajara. La Laguna de Sayula, pertenece a la misma zona hidrológica pero no hay estudios precisos sobre su nivel de contaminación.

Una de las características más importante de los COP'S es su capacidad para bioacumularse en tejidos animales lo que lleva a un incremento de su concentración hasta diez veces mayor con respecto al medio y se incrementa nuevamente diez veces por cada nivel trófico, por ello se magnifica su presencia en el hígado de los peces que los consumen. El hombre no está exento de este peligro y el consumo de organismos contaminados constituye un riesgo a la salud. A la fecha, no existen evaluaciones sobre la relación bioacumulación y daño genético por exposición crónica a estos compuestos.

El pez *Goodea atripinnis* y el ave *Pelycanous erythrorhyncus* son dos especies que habitan el lago de Chapala y la laguna de Sayula si bien el segundo lo hace sólo temporalmente y ambos pueden ser monitores importantes para detectar bioacumulación y daño genético. En el presente estudio se determinó la concentración de COP'S en ambos cuerpos de agua y en hígado de las especies mencionadas, asimismo, se cuantificó el daño genético en ese tejido. El agua e hígado se colectaron en dos épocas del año durante dos años consecutivos (2004 y 2005). La información generada a partir de estos estudios es de gran importancia ecológica y permitirá a las autoridades correspondientes la toma de decisiones pertinentes.

ANTECEDENTES

CONTAMINACION AMBIENTAL Y SUSTANCIAS MUTAGÉNICAS

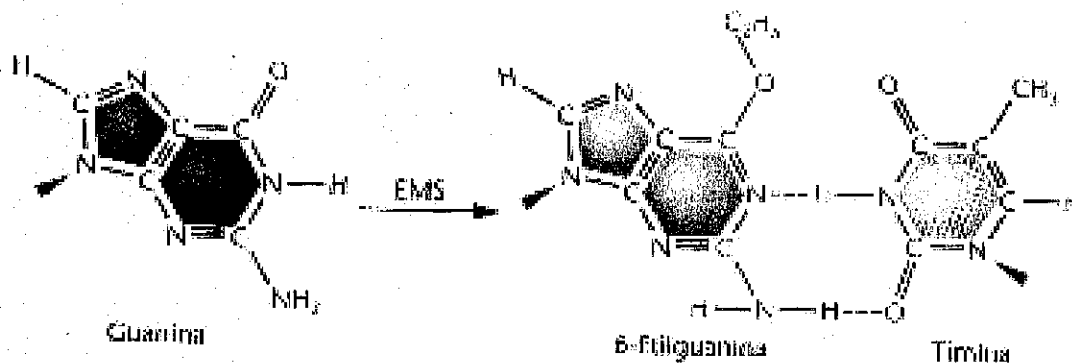
El desarrollo de las sociedades humanas se acompaña el uso y desecho de gran cantidad de compuestos químicos (Grimmer, 1983). Existen algunas sustancias que pueden causar daño fisiológico e incluso alterar nuestro ADN, cuando esto último ocurre se dice que es mutagénica. Esta entra a través de la membrana celular y llega al núcleo donde puede inducir mutaciones puntuales o aberraciones cromosómicas entre otras (Heflich, 1991). Nuestros hábitos y un ambiente cargado de contaminantes físicos, químicos y hasta biológicos, pueden afectar nuestro organismo. Se calcula que en la actualidad existen aproximadamente 10 millones de diferentes compuestos y la velocidad con la que se diagnostica su peligrosidad genética es notablemente inferior a la cantidad de nuevas sustancias producida. Los reportes indican que un ser humano común puede estar expuesto de manera cotidiana a un promedio de 100,000 agentes químicos diferentes (Albert, 1990). Existen varios grupos de sustancias químicas potencialmente peligrosas desde el punto de vista genético, por ejemplo: las farmacéuticas, los plaguicidas y las emisiones gaseosas.

Mutágenos químicos

Los mutágenos químicos ocasionan inestabilidad general que produce cambios químicos en el ADN; cambian químicamente las bases y causan errores de apareamiento. Existen diferentes tipos de mutágenos químicos: los agentes alquilantes son un grupo de sustancias químicas que metilan o etilan a las bases de los ácidos nucleicos. Todos los nitrógenos y oxígenos de las bases pueden ser alquilados y la alquilación conduce a diferentes productos (Wiley, 1990); algunos ejemplos de agentes alquilantes son: fosfamida, melfalán, thiotepa, clorambucil, bisulfán (kirkland, 1993). Se ha demostrado que el daño al ADN producido en hojas de tabaco por algunos agentes alquilantes no puede ser reparado y persisten por

más de cuatro semanas (Gichner *et al.*, 2000). Otro tipo de mutágenos químicos son los análogos de base como 6 mercaptopurina, arabinosa c (Zúñiga *et al.*, 1998), clastógenos como ciclofosfamida (Kirkland, 1993) y colchicina (Zúñiga *et al.*, 1998), anauplodógenos (Asano *et al.*, 1989), etc.; estas sustancias ocasionan diversas alteraciones como rompimientos cromosómicos, aneuploidías, inserciones equivocadas por similitud con las bases, etc. (Lewin, 2000). Otros mutágenos químicos son: gas mostaza, etilmetano sulfonato (fig.1), fenol, formaldehído 5 bromouracilo, methotrexate, hexano y otras sustancias químicas (Heddle *et al.*, 1978; Kasahara *et al.*, 1992; Scott *et al.*, 1991; Egali *et al.*, 2000). Los mutágenos químicos pueden encontrarse también como componentes de la dieta, carcinógenos industriales y desechos tóxicos (Guizar, 1994), el furano, solvente de resinas y lacas, componente del smog y cigarros (Wilson, 1992), así como los insecticidas (Herrera, 1992) y pesticidas (Antonucci y Syllós, 2000; Garaj Vrvac y Zeljezic, 2000).

Figura 1. Acción del etilmetano sulfonato (EMS) sobre la guanina. La alquilación oxidativa de este compuesto convierte a la guanina en 6 etil guanina.



Algunos mutágenos son análogos de bases con propiedades de apareamiento ambiguas (como el bromouracilo) y su acción mutagénica resulta de su incorporación al ADN en lugar de una de las bases regulares produciendo futuras rupturas en la hebra de ADN. La creación de sitios apurínicos o apirimidínicos por eliminación de las bases correspondientes es otro tipo de lesiones producidas tanto por radiación como por mutágenos químicos como el óxido de propileno (Murray *et al.*, 1992; Ríos Blanco *et al.*, 2000).

Las hormonas también ocasionan daño genotóxico, se sabe que la terapia con estrógenos para controlar los síntomas menopáusicos incrementa el riesgo de cáncer de endometrio (Bali *et al.*, 1990; Nagae *et al.*, 1991; Lang y Reimann, 1993; Dhillon *et al.*, 1995).

Plaguicidas

Con el incremento de la contaminación por pesticidas aumentó la necesidad de la población por conocer los efectos causados por dichas sustancias (Carrillo y Velez, 1996). Los plaguicidas son ampliamente utilizados en todo el mundo a pesar del daño ecológico que muchos han provocado debido a su baja tasa de biodegradabilidad (DDT, aldrín, dieldrín). Muchos de estos compuestos están prohibidos pero algunos otros continúan utilizándose (Martínez, 1994). Ejemplos: en 1985, en la república mexicana hubo un incremento en el número de muertos de 1 a 7.3 por cada 100 intoxicados debido al contacto con pesticidas y se reportaron 725 intoxicaciones crónicas ocupacionales, 10,000 no ocupacionales y 200,000 casos de cáncer relacionados con residuos de plaguicidas en los alimentos (Palacios *et al.*, 1999). En el cuadro 1 se presentan varios nombres de los tipos de plaguicidas más empleados.

De acuerdo con Martínez (1994) en México los principales plaguicidas organoclorados que contaminan las aguas subterráneas y superficiales son: DDT, HCH, lindano, clordano, heptacloro, metoxicloro, toxafeno, endrín, aldrín y dieldrín por su persistencia en el medio. Todos pasan al suelo de donde pueden ser lixiviados al sistema acuífero. En México se detectaron plaguicidas organoclorados en aguas de riego en el Valle de Mexicali (Carrillo y Vélez, 1996). Varios tipos de

pesticidas fueron encontrados en camarón de granjas acuícolas del centro de Sinaloa y el Puerto de San Blas, Nayarit (Martínez, 1994).

cuadro 1. Pesticidas organoclorados, organofosforados, carbamatos y tiocarbamatos.

ORGANOCLODRADOS	ORGANOFOSFORADOS	CARBAMATOS Y TIOCARBAMATOS
CLOROFENOTANO	PARATION	
ALDRIN	MALATION	DIMETANO
DIELDRIN	METIL-PARATION	CARBARIL
CLORDANO	BROMOFOS	ISOLAN
HEPTACLORO	ETIL-BROMOFOS	ALICARB
TOXAFENO	FENITROTHION	COMPUESTOS DINITRO DNOC (DINITRO-ORTO-CRESOL) DNBP (DINITRO-BUTIL-FENOL)
ENDUSOLFAN	DIMETOATO	DINOSEB, ACETAT
METOXICLORO. PEROXICARBÓNICO 2,4,	CLOROTHION	NITROBENZOLAS SUSTITUIDOS
MCPA AC. METOXICLORFENOXIACÉTICO) 2,4,5-T	DIAZINON	QUINTOZEN
HEXACLOROBENZOL	DEMETON	COMPUESTOS DIFIRINA
PCB (PBB)	DEMETON S-METIL	PARAQUIAT
CUMAROL- DERIVADOS	DICLORFOS	DERIVADOS DE UREA
CUMACLOR	MEVINFOS	ALFA NAFTIL TIOUREA
CUMATETRALYL	DIBROM	COMPUESTOS HETEROCÍCLICOS
WARFARINA	FOSFAMIDÓN	NITROGENADOS
AC. CARBÓNICOS CLORADOS	TRICLORFON	DIAZINA
	FENCLORFOS	TRIAZINA
	AZINFOS	TRIAZOLES
	COUMAFOS	

COP'S

Entre los contaminantes ambientales más peligrosos se encuentran los COP'S los cuales son altamente tóxicos (Guillette 1994; Guillette *et al.*, 1994) y provocan enfermedades como: cáncer (Guillette, 1994), alergias e hipersensibilidad, daños al sistema nervioso central y periférico, desórdenes reproductivos, "quebrantamientos" en el sistema inmunológico (Guillette, 1994; Guillette *et al.*, 1994; Guruge *et al.*, 2001; Lombardi, 1998) malformaciones en el nacimiento y hasta la muerte, tanto en humanos como en animales. Las Naciones Unidas en colaboración con otros organismos internacionales seleccionaron dentro de su programa ambiental (United Nations Environmental Programme, UNEP) los doce COP'S de mayor peligro que incluyen ocho pesticidas: aldrín, clordano, DDT, dieldrín, endrín, heptacloro, mirex, y toxafeno; dos químicos industriales PCB'S y hexaclorobenzeno y dos productos derivados no deseados de procesos de combustión industrial como dioxinas y furanos (Lombardi, 1998). Estas sustancias son altamente estables, pueden durar años o décadas antes de que desaparezcan. Circulan en forma global a través de un proceso conocido como "efecto saltamontes": Los COP'S liberados en una parte del mundo pueden, por evaporación, ser transportados a regiones lejanas. Son absorbidos por tejidos grasos de los animales (Borga *et al.*, 2001; Pietrapiana *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 1999) donde las concentraciones pueden llegar a ser hasta de 70 mil veces superiores que los niveles ambientales (proceso llamado bioacumulación) (Guillette, 1996) y según el nivel trófico que ocupan dentro de una cadena alimenticia, acumulan mayores cantidades de estos químicos (Sun *et al.*, 2002; Lippman, 1999; Zhou *et al.*, 1999). Se pueden encontrar en personas y animales que viven en regiones como el Ártico, lejos de cualquier fuente importante de contaminación (Corsolini *et al.*, 1995). Algunos COP'S tienen, aún en cantidades muy pequeñas, actividad estrogénica antagonista o agonista e intervienen con el sistema endocrino, lo cual afecta la reproducción (Dunier, 1994; Guillette, 1996; Guillette *et al.*, 2001; Guillette, 1996; Guillette y Uribe, 2001; Lombardi, 1998). Aunado a lo anterior, Guillette *et al.* (2001) reportaron un efecto sinérgico de estos xenobióticos que potencia su acción de 160 a 1,600 veces. Recientemente investigadores de la Universidad de Guadalajara (Gaceta Universitaria, 2002) detectaron residuos de plaguicidas organoclorados en concentraciones mayores a las recomendadas por la OMS en leche consumida en el área metropolitana de

Guadalajara, lo cual, representa un riesgo potencial a la salud por la exposición de estas sustancias.

En nuestro país las normas de control del uso de los agroquímicos son poco respetadas. La comisión intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas (Cicoplafest) se limita a controlar y normalizar la comercialización de estos productos con la finalidad de evitar su aplicación indiscriminada (Jiménez, 2001).

Jalisco ocupa el tercer lugar en cuanto al uso de agroquímicos no recomendados y los estados vecinos también utilizan estas sustancias e incluso aquellas prohibidas en nuestro país y otros países. Algunas investigaciones demostraron la alta contaminación en cuerpos de agua por pesticidas y metales pesados que provienen de la industria (Dunier, 1994; Guillette, 1996; Sun *et al.*, 2002), por lo tanto, el riesgo de exposición a mezclas de varios plaguicidas a través de los cuerpos de agua dulce es muy grande (Jiménez, 2001; Martínez, 1994). Los monitoreos ambientales para evaluar la calidad del agua en México se hacen con normas internacionales por parte de la Comisión Nacional del Agua (CNA) pero estos no contemplan el análisis de pesticidas y agroquímicos de forma periódica y directa (Gaceta Universitaria, 2002), por ello, no son detectados y se desconocen las concentraciones de COP'S y su genotoxicidad en los organismos expuestos, por ejemplo, peces y aves que habitan el Lago de Chapala. Este lago proporciona pescado fresco para los poblados de la ribera, pese al grave problema de contaminación debido a descargas urbanas-industriales de los parques industriales de Santiago Tianguistenco, Lerma-Toluca, así como las aguas residuales urbanas de las poblaciones de Toluca, Lerma, Atlacomulco y otras del estado de México (Conabio.com 2002).

Torres (1991) y Zhou *et al.* (1999) demostraron que la bioacumulación de compuestos organoclorados en los tejidos de peces está relacionada con su forma de alimentación. Los COP'S por su naturaleza hidrofóbica se acumulan en la superficie, por lo que los organismos de alimentación superficial presentan una mayor exposición. Sun *et al.* (2002) reportaron un aumento en la concentración de COP'S en el agua en época de sequía, que disminuye en época de lluvias. Borga y colaboradores (2001) reportaron biomagnificación ascendente de compuestos organoclorados a través de una cadena alimenticia con la más alta contaminación de DDT y PCB'S. Guruge *et al.* (2001) reportan la existencia de un patrón diferencial de

acumulación de COP'S en 8 especies de albatros estudiadas, relacionada con su forma de alimentación, migración y edad y señalan que la bioacumulación de PCB'S en tejido graso subcutáneo fue mayor en aves maduras en la región sureste del Pacífico. Karlson *et al.* (2000) reportaron una concentración de PCB'S de 3 a 5 veces mayor en tejido hepático que en músculo en mamíferos marinos, en los polluelos de gaviota de pico negro del Golfo de Finlandia, más una visible degeneración del hígado y otros órganos asociada con su alta mortalidad durante 1991-1993.

En aguas del Lago de Chapala y Laguna de Sayula habita el pez *Goodea atripinnis* de alimentación superficial, encontrado en aguas poco profundas, lodosas y ricas en vegetación en aguas lacustre. El pelicano blanco que en su migración llega a Chapala y a Sayula, se alimenta de este pez, de ahí que al estar expuesto el pez a los COP'S, podría presentarse bioacumulación y biomagnificación en esta ave.

Se desconoce si la bioacumulación por COP'S, representa un riesgo para el ADN y con ello se propicie el desarrollo de cáncer en los organismos que participan en la cadena trófica.

PRUEBA DEL COMETA ALCALINO

El cáncer y los efectos tarotogénicos son algunos de los peligros debidos a la exposición de sustancias durante largos plazos (Montesano y Tomatitis 1977). Por lo anterior, es necesario el uso de indicadores biológicos para evaluar la calidad del ambiente, por ello, se desarrollaron diferentes sistemas de prueba o biensayos para detectar daño genético inducido por agentes químicos y físicos en plantas (Graf *et al.*, 1984; Ichikawa, 1992; Grant *et al.*, 1992; Grant y Salomone, 1994; Grant, 1994; Álvarez *et al.*, 2002), en insectos (Graf y Singer, 1992;) y en bacterias (Ames *et al.*, 1973). Los sistemas de prueba poseen ventajas y desventajas que deben ser consideradas seriamente para obtener los resultados necesarios para poder evaluar el riesgo potencial de dichos agentes (Cuadro 2).

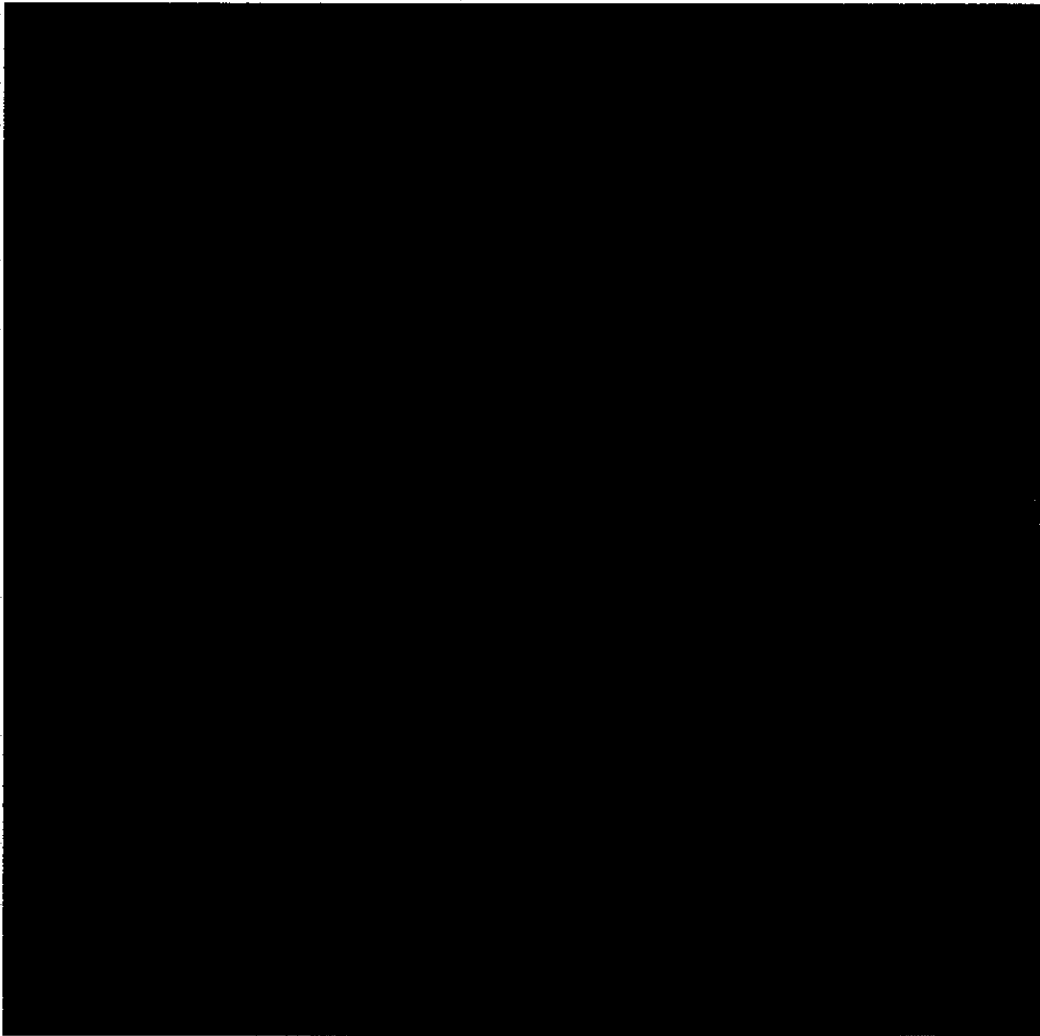
Cuadro 2. Se muestra ventajas y desventajas de diversas pruebas que se utilizan para detectar daño genético.

PRUEBA	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Cariotipo	Muy precisa y sencilla	*Es necesario conocer la morfología de los cromosomas de las especies en estudio. *Muchas especies presentan complejos macro y microsómicos
Prueba de Ames	Económica y rápida	Resultados no siempre extrapolables a mamíferos.
Intercambio de cromátides hermanas	Alta sensibilidad	Requiere de sustancias que inducen la reparación excisión del ADN para ser óptima.
Cometa alcalino	Eficiencia, rapidez y reproducibilidad, se requieren pocas células.	Requiere de microscopio de epifluorescencia y material costoso.
Micronúcleos	Sencillez y eficacia	No siempre se puede aplicar a todas las células de animales y vegetales.

Una de las más recientes y utilizadas por su eficiencia es la prueba del cometa alcalino (PCA) desarrollado por Singh en 1988. Esta prueba detecta rompimientos de las hebras de ADN, entrecruzamiento, sitios alcalinos y sitios de reparación incompletos (Álvarez *et al.*, 2003; Belpaeme *et al.*, 1998; Kammann *et al.*, 2001; Nacci *et al.*, 1996).

Si las células expuestas se someten a electroforesis, los fragmentos del ADN migran hacia el electrodo negativo (ánodo). Cuando se tiñe el ADN y se observa al microscopio el típico cometa (Fig. 2).

Figura 2. Visualización de la típica célula cometizada, la longitud de la cauda indica el grado de daño genético.



Una ventaja de esta técnica es que permite observar células individuales y se requieren relativamente pocas. Recientemente este método se utilizó en células de peces como bioindicador de daño genético por contaminantes ambientales (Kammann *et al.*, 2001; Nacci *et al.*, 1996), plantas (Álvarez *et al.*, 2001) y diversos tejidos humanos (Álvarez *et al.*, 2001) y a últimas fechas se le han dado infinidad de aplicaciones (Álvarez *et al.*, 2003). En el cuadro 3 se describen los parámetros utilizados en la prueba del cometa alcalino.

Cuadro 3. Parámetros utilizados en la prueba del cometa alcalino.

LONGITUD DE LA CAUDA (TAIL LENGHT)	MEDICIÓN DE LA LONGITUD DE LA CAUDA EXCEPTUANDO EL NÚCLEO
MIGRACIÓN DEL % DEL ADN	PORCENTAJE DE ADN QUE MIGRÓ
MOMENTO DE CAUDA	PORCENTAJE DEL ADN MIGRADO POR LA LONGITUD DE LA CAUDA
MOMENTO DE LA COLA DE OLIVE	PORCENTAJE DEL ADN MIGRADO POR LA LONGITUD DE LA CAUDA

LAGO DE CHAPALA

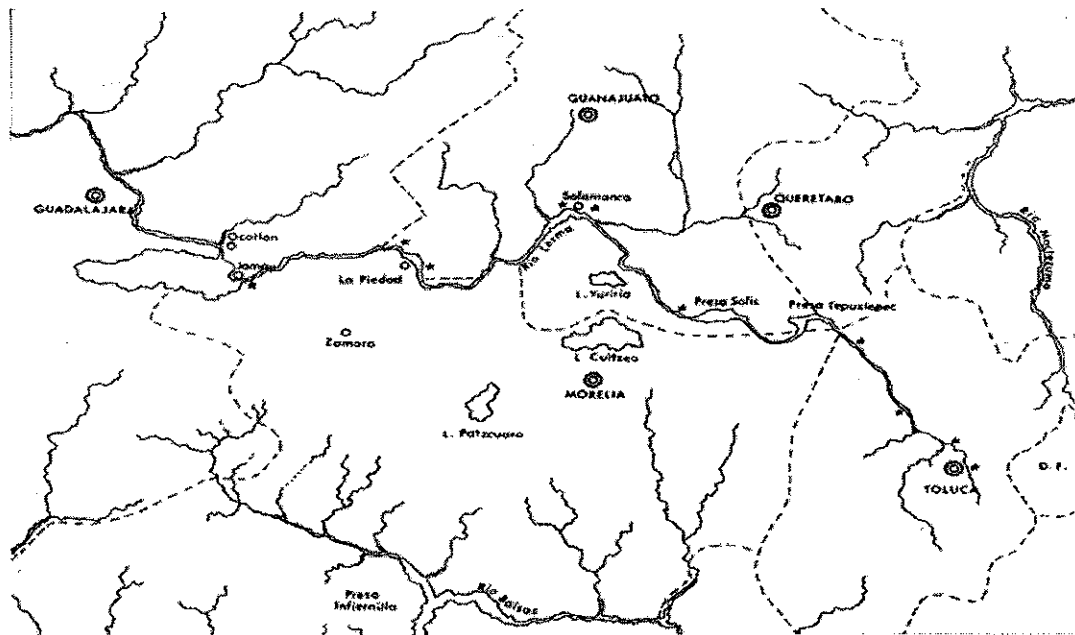
Importancia biológica

El lago de Chapala (Fig. 3 a y b) tiene una superficie total de 7,355.28 kilómetros cuadrados, de los cuales 52% aproximadamente corresponden al estado de Jalisco y el resto a Michoacán. El lago de Chapala permitió una pesca rica, variada y segura desde años antes de que la agricultura fuera realmente rentable, permitiendo un modo de vida estable para los primeros pobladores ribereños (Guzmán, 2003). El lago presenta gran variedad de organismos, una ictiofauna compuesta por 39 especies agrupadas en nueve familias. De ellas 4 familias y 15

Localización y extensión

La cuenca directa e inmediata del lago de Chapala ocupa en la parte centro-este del estado de Jalisco y la porción norte-noreste del estado de Michoacán, entre los 19°45' y 20°55' de longitud norte, 101°50' y 103°00' de longitud oeste. Comprende la llamada ribera y ciénega de Chapala correspondientes a la cuenca directa del embalse, así como las cuencas de los ríos Zula al noreste y la del Duero al sureste, ambas consideradas como cuencas inmediatas, asimismo el Río Lerma (Fig. 4) alimenta al Lago de Chapala (naciendo en Lerma, Estado de México, y desembocando en Chapala para posteriormente fluir como Río Santiago Hacia San Blas, Nayarit). (Guzman, 2003).

Figura 4. La cuenca del Río Lerma, que lleva grandes cantidades de contaminantes y desechos industriales al Lago de Chapala

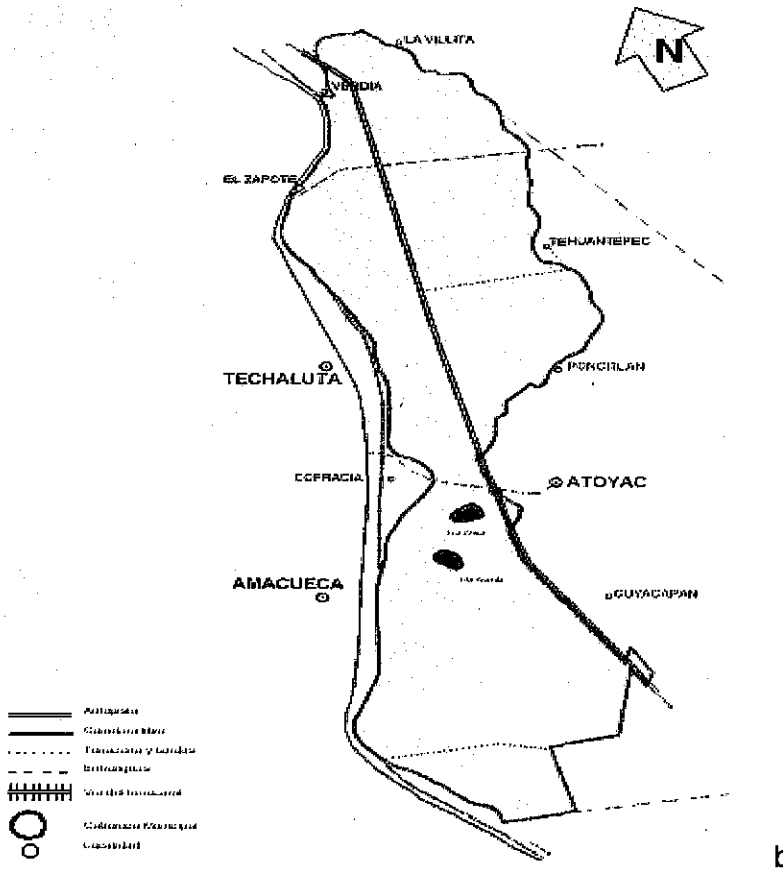
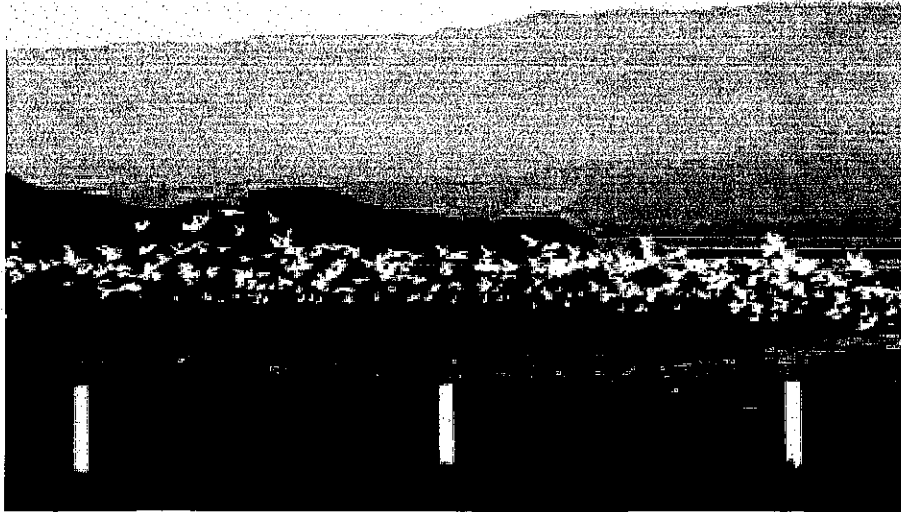


Sayula

Sayula (Fig. 5 a y b) se encuentra al sur del estado de Jalisco a una distancia aproximada de 60 Km de la ciudad de Guadalajara. Se halla inscrita dentro de las coordenadas geográficas $19^{\circ}54'24''$ - $20^{\circ}10'32''$ latitud Norte y $103^{\circ}27'39''$ - $103^{\circ}36'40''$ longitud oeste, con una altitud a nivel del mar de 1,350 metros y cuenta con una superficie aproximada de 16,800 hectáreas presentando una longitud de 31.8 km y un ancho promedio de 5.3 km. El vaso pertenece a seis municipios cuyas cabeceras municipales se encuentran localizadas de la siguiente manera: al noroeste Zacoalco de Torres (lugar de la pirámide), al noreste Teocuitatlán de Corona (lugar de oro), al este Atoyac (junto al río), al suroeste Sayula (lugar de las moscas), y al oeste por Amacueca (lugar de amates) y Techaluta (lugar de las ardillas).

Figura 5. Laguna de Sayula. (a) foto, (b) mapa.

a



b

Goodea atripinnis

Los peces de la familia *Goodeidae* son ovíparos cyprinodontoides originarios de la Mesa Central de México (Uyeno *et al.*, 1983). Comprenden aproximadamente 40 a 45 especies, cuatro de estas son encontrados en ríos de E.U. y el resto son de México del alto altiplano y su periferia. La diversidad de *Goodeidae* se genera de varios eventos asociados con vulcanismo y orogenia durante el plioceno y pleistoceno. *Tapatía occidentalis*, un fósil, conocido del grupo establece la mínima edad de los *Goodeidae* en el Mioceno (Webb y Miller, 1998).

En el Lago de Chapala habita *Goodea atripinnis* (Fig. 6) de alimentación superficial en aguas poco profundas lacustres (Torres, 1991). Es un pez omnívoro, con preferencia por los vegetales en las primeras fases de desarrollo, la cual cambia en tallas mayores cuando consume crustáceos, también consume en menor proporción algas, insectos y rotíferos, entre otros. Su crianza ocurre durante los meses más caliente y el número de embriones por hembra en promedio es de 19.1. El tamaño en machos es de 7 cm. y las hembras de 14. En el cuadro 4 se presenta la Taxonomía del *Goodea atripinnis*.

Figura 6. *Goodea atripinnis*.



Cuadro 4. Taxonomía del *Goodea atripinnis*.

Reino	Animalia
Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Superclase	Osteichthyes
Clase	Actinopterygii
Subclase	Neopterygii
Infraclase	Teleostei
Superorden	Acanthopterygii
Orden	Cyprinodontiformes
Suborden	Cyprinodontoidei
Familia	Goodeidae
Subfamilia	Goodeinae
Género	Goodea Jordania
Especie	40 especies diferentes entre las cuales está <i>Goodea atripinnis</i>

Pelicanous erythrorhyncus

Pelicanous erythrorhyncus (pelicano blanco) (Fig. 7) se reproduce en Canadá y Estados Unidos. Migra a finales de septiembre hacia las costas de Florida y de México regresando al norte por abril. Los adultos pueden consumir más de 2 Kg de alimento por día, su promedio de vida es de 12 a 14 años. Ambos sexos tienen la misma apariencia. Los machos, peso promedio de 7 Kg. alcanzando los 13 Kg., son un poco más grandes que las hembras. Esta diferencia no es lo suficiente para poder distinguirlos a simple vista. El único rasgo característico de esta especie es una cresta cornea que le crece en la parte superior del pico. Esta cresta se les desarrolla tanto a las hembras como a los machos, permaneciendo durante la temporada de crianza.

El pelicano blanco en invierno vuela a los estados costales del Golfo de México y la Florida. Durante esta época algunos miembros de esta especie continúan la travesía llegando hasta América Central donde se les han visto en Costa Rica y Nicaragua. En Panamá se vio un par de pelícanos blancos en el año 1984, en la costa de Herrera cerca de Chitré y también en un área cercana de Los Santos.

Por lo general vuelan sobre tierra pero también hay datos de visitantes a las islas del Caribe. Una pequeña colonia reside todo el año en las costas de Texas.

Estos pelícanos viven en los lagos de agua dulce. En la Florida y en Texas también los encontramos en los esteros de agua salubre.

Figura 7. *Pelycanous erythrorhyncus* del Lago de Chapala y Laguna de Sayula.



Cuadro 5. La taxonomía de *Pelycanous erythrorhyncus*.

Reino	Chordata)
Filum	(Animalia)
Subfilum	(vertebrata)
Clase	Aves
Superorden	Neognathae
Orden	Pelecaniformes
Suborden	Pelecani
Familia	Pelecanidae

La familia de los pelícanos está compuesta de unas diez especies, entre las cuales, las más conocidas son el pelícano blanco, el pardo y el peruano.

Agua contaminada para abastecer a la zona metropolitana de Guadalajara

Chapala es el lago más grande de la República Mexicana y se abastece de varios ríos, especialmente el Lerma--Santiago: Hoy en día el agua de este embalse está invadido de lirio y tule y contaminado por pesticidas (arrastrados por las lluvias desde los campos de cultivo), aguas de drenajes de distintas poblaciones, descargas industriales y urbanas entre otros contaminantes a lo largo de la cuenca (Fig. 8), se encuentran ubicadas una gran cantidad de industrias que, se sabe, depositan sus residuos el río. Entre otros contaminantes vertidos existen metales pesados como: plomo, arsénico y mercurio (Guzman, 2003).

Figura 8. Miles de peces yacen muertos en la ribera del río Lerma en el poblado de Cuatro Milpas, en Guanajuato, por la gran contaminación.



(Foto tomada por Guillermo Gómez Sustaita del Periódico Ocho Columnas, en el año 2006)

La mayor parte del agua de la que se abastece la ciudad de Guadalajara proviene de Chapala, ésta, al llegar a las plantas potabilizadoras se somete a un proceso de tratamiento y clarificación para su posterior distribución. Sin embargo, el proceso de cloración y sedimentación elimina principalmente la contaminación biológica pero no la química representada por metales pesados, pesticidas, residuos de tipo industrial entre otros (Guzmán, 2003). Al llegar a las plantas potabilizadoras, se inicia el proceso de cloración, éste, aunque recomendable, puede provocar la producción de derivados clorados altamente mutagénicos que pueden causar el desarrollo de cáncer estomacal (Álvarez y Santerre, 2001). En la ciudad de Guadalajara, el efecto mutagénico del agua de consumo público fue estudiada, pero no se encontró que los pozos representaran peligro (Álvarez y Santerre, 2001).

JUSTIFICACIÓN

Los COP'S son un grupo de sustancias con actividad genotóxica, frecuentemente encontrados como contaminantes en diversos cuerpos de agua incluyendo los lagos de Chapala y de Sayula. Los COP'S pueden bioacumularse en los tejidos animales, particularmente en hígado, donde podrían entonces ocasionar daño genético y cáncer. Además se sabe que la bioacumulación es mayor en animales que se encuentran al final de la cadena trófica. A la fecha no existen reportes internacionales sobre la relación bioacumulación-daño genético en hígado de organismos que habitan en cuerpos de agua contaminados. La misma situación ocurre a nivel nacional. Los datos generados en este tipo de estudios resultan de relevancia ecológica y tienen impacto sobre la salud humana, en términos de información y prevención.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿ Existe bioacumulación, biomagnificación y daño genético el pez *Goodea atripinnis* y el ave *Pelycanous erythorhyncus*, en su tejidos, inducido por COP'S en el Lago de Chapala y en la Laguna de Sayula?

HIPÓTESIS

La bioacumulación de COP'S en los tejidos de *Goodea atripinnis* y *Pelycanous erythrorhyncus*, induce daño genético en las especies de ambas lagunas. Este daño ocasiona un incremento en la longitud de la cauda de los núcleos hepáticos cometizados.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración de COP'S en el agua de ambas lagunas, su bioacumulación y el daño genético inducido en hígado del pez *Goodea atripinnis* y el ave *Pelycanous erythrorhyncus*.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Determinar la concentración de COP'S en el agua del Lago de Chapala y la Laguna de Sayula, en dos épocas del año (sequía y lluvias) durante los años 2004 y 2005 .
2. Determinar la concentración de COP'S en hígado de *Goodea atripinnis* y *Pelycanous erythrorhyncus* en el Lago de Chapala y Laguna de Sayula, en dos épocas del año, durante los años 2004 y 2005
3. Estandarizar la técnica de PCA para células de hígado de *Goodea atripinnis* y *Pelycanous erythrorhyncus*.
- 4.- Evaluación del daño genético de COP'S en hígado de *Goodea atripinnis* y *Pelycanous erythrorhyncus* del Lago de Chapala y Laguna de Sayula mediante la prueba del cometa (PCA).
- 5.- Relacionar el daño genético con la concentración de COP'S en hígado de *Goodea atripinnis* y *Pelycanous erythrorhyncus*.

METODOLOGÍA

Tipo de estudio. Observacional y transversal.

Diseño experimental. Se obtuvieron muestras de agua y tejido hepático de *Goodea atripinnis* y *Pelicanous erythrorhyncus* del Lago de Chapala y la Laguna de Sayula. Se cuantificó la concentración de COP'S mediante cromatografía de gases. Se determinó, mediante la prueba del cometa, el daño genético en este tejido y se evaluó su relación con la concentración de COP'S (bioacumulación). El estudio se realizó en dos épocas del año (estiaje y luvias) por dos años. Como testigo negativo para daño genético en *Goodea* se utilizaron peces juveniles colectados de sitios no contaminados y colocados en pecera con agua limpia y alimento libre de contaminantes durante 5 meses. NO fúe posible obtener un testigo negativo para *Pelicanous erythrorhyncus*, siendo una limitante en el estudio.

Colecta de muestras. Se colectaron 5 ejemplares *Goodea atripinnis* del lago de Chapala (Isla Alacranes y Petatán) y 5 de la Laguna de Sayula por época, en dos épocas del año (sequía y lluvia) durante 2 años. Los peces se transportaron vivos al laboratorio en donde se les extrajo el hígado procediendo inmediatamente a la realización de la prueba del cometa. Se colectaron también muestras de agua y se congelaron a -18°C hasta el momento de su análisis. Para el caso de *Pelicanous erythrorhyncus* se colectaron también 8 ejemplares (dos por época) previo permiso de la SEMARNAT, fueron cazados con una escopeta. El hígado fue obtenido por disección, se colocó en una bolsa de polietileno con hielo y se transportaron rápidamente al laboratorio. Una parte se utilizó para los estudios de daño genético y otra para determinación cromatográfica de COP'S

Determinación de COP'S agua y en hígado de *Goodea atripinnis* y *Pelycanous erythrorhyncus*.

Determinación de COP'S en aguas. La cuantificación se realizó por cromatografía de gases en columna capilar con detector de captura de electrón (ECD) para muestras líquidas y sólidas siguiendo el método 608 y 8080 de la EPA (EPA, 1985). La extracción de COP'S de las muestras de agua se realizó con diclorometano (DCM) líquido-líquido. Para su análisis se deshidrataron por evaporación y redisolviéron en 5 ml de hexano, finalmente se concentraron a 0.2 ml bajo una suave corriente de nitrógeno y se inyectó una alícuota de 1 microlitro del extracto al cromatógrafo de gases. Como control negativo del agua se usó agua destilada sometida al mismo tratamiento.

*Determinación de COP'S en tejido hepático de *Goodea atripinnis*.* Una parte del tejido hepático se utilizó para determinar la concentración de COP'S y otra para evaluar daño genético. Para el caso de la determinación de los COP'S el hígado se descongeló, homogenizó y suspendió en 5 ml de hexano, se filtró (poro de 1 micra de diámetro) para evitar que el pesticida diluido se contaminara con microorganismos (Miller, 1992) y se introdujo al cromatógrafo estandarizado con el kit básico para detección de compuestos organoclorados y PCB'S de la EPA. Se realizó en el Departamento de Ingeniería de Proyectos del CUCEI (Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería) de la UdG, De acuerdo al Protocolo 608, de la EPA, 1982, que ahí se maneja.

*Determinación de COP'S en tejidos de *Pelycanous erythrorhyncus*.* Para la extracción de COP'S de tejido hepático del *pelycanous erythrorhyncus*, el hígado se descongeló, homogenizó y suspendió en 5 ml de hexano, se filtró (poro de 1 micra de diámetro) para evitar que el pesticida diluido se contaminara con microorganismos (Miller, 1992) y se introdujo al cromatógrafo estandarizado con el kit básico para detección de compuestos organoclorados y PCB'S de la EPA. Se realizó en el Departamento de Ingeniería de Proyectos del CUCEI (Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería) de la UdG, De acuerdo al Protocolo 608, de la EPA, 1982, que ahí se maneja.

Preparación de células. El tejido hepático de *Goodea atripinnis* y *Pelycanous erythrorhyncus* se lavó con PBS/solución salina 0.9 %. Para la disociación celular se incubó en 10 ml PBS conteniendo 200 mM N-t-butil-alfa-fenilnitrona por 30 minutos. Las células suspendidas se centrifugaron a 3000 rpm por 10 min. Se quitó el sobrenadante y se resuspendió el pellet conteniendo los núcleos celulares.

Prueba del Cometa alcalino. Se prepararon dos laminillas por cada pez para micro electroforesis como describe Belpaeme et al. (1998). Posteriormente se colocó en buffer de lisis fresco y frío por 1 a 2 horas (2.5 M NaCl, 100 mM Na₂EDTA, 10mM Tris, 1% N-lauroylsarcosina, 1% Triton -X 100, 10% DMSO. Después de la lisis, se realizó la electroforesis a 18° C. Se colocó a continuación el buffer para electroforesis en la cámara de electroforesis (300 mM NaOH, 1 mM EDTA, pH > 13. La electroforesis se realizó a 25 V, 300 mA, 10 minutos. Al finalizar la electroforesis, las laminillas fueron neutralizadas con el buffer 0.4 Molar tris (pH 7.5) e inmediatamente teñidas con bromuro de etidio para su observación en microscopia de fluorescencia (ZEISS). La observación al microscopio se realizó a 10x, 45x y 100x. Se midió la longitud de la cola del cometa de al menos 300 células por laminilla (en promedio se midieron hasta 600 células). Las laminillas fueron analizadas por un solo observador para minimizar la variabilidad por este conteo (Graf et al., 1992).

Análisis estadístico. Se analizaron por lo menos 300 cometas por tejido para obtener la media de migración de las caudas cometizadas. Los datos se analizaron con el programa ESTADÍSTICA y se utilizó el análisis de varianza de una cola (ANOVA) que compara los resultados del grupo de estudio con los datos de los testigos de *Goodea atripinnis*, siendo el caso que no se pudo tener testigo negativo para el pelicano.

RESULTADOS

Cuantificación de los COP'S en muestras de agua del Lago de Chapala y La Laguna de Sayula en 4 etapas (dos años: 2004 y 2005). Las concentraciones de COP'S en agua se presentan en la tabla 1. Los datos indican muy bajas concentraciones de COP'S tanto en Chapala como en Sayula, inclusive, por debajo del límite de resolución del cromatógrafo. De la etapa 1 a la 2 las concentraciones de metoxicloro, 2,4 D y DDT en aguas de Chapala y Sayula se incrementan en aproximadamente 10 veces la concentración, pero, las concentraciones de hexaclorobenceno, heptacloro y epóxido de heptacloro disminuyen notablemente en la segunda etapa (lluvias) en Sayula. En Chapala el hexaclorobenceno y epóxido de heptacloro se mantienen en los mismos niveles, no así heptacloro que disminuye en la 2° etapa.

El lindano y el clordano, tanto en aguas de Chapala como de Sayula se mantienen en los mismos niveles, mientras que aldrín y dieldrín se diluyen en la etapa de lluvias, fenómeno observado en ambos cuerpos de agua. De la etapa 3 a la 4 todos los COP'S se mantienen en las mismas concentraciones tanto en Chapala como en Sayula.

Tabla 1. Concentración de COP'S en muestras de agua del Lago de Chapala y la Laguna de Sayula a lo largo de 2 años, 2004 y 2005 (estiajes y lluvias).

COP'S	Chapala				Sayula			
	2004	2004	2005	2005	2004	2004	2005	2005
	Etapa 1, sequía 02/2004 P	Etapa 2, lluvias 10/2004 P	Etapa 3, sequía 05/2005 P	Etapa 4, lluvias 12/2005 P	Etapa 1, sequía 02/2004 P	Etapa 2, lluvias 10/2004 P	Etapa 3 Sequía 02-2005 P	Etapa 4, lluvias 12/2005 P
Lindano	<0.0023	<0.0023	<0.0023	<0.0023	<0.0023	<0.0023	<0.0023	<0.0023
Aldrín	<0.0004	<0.00003	<0.00003	<0.00003	<0.0004	<0.00003	<0.00003	<0.00003
Dieldrín	<0.0005	<0.00003	<0.00003	<0.00003	<0.0005	<0.00003	<0.00003	<0.00003
Clordano	<0.0003	<0.0003	<0.0002	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0002	<0.0003
DDT	<0.0006	<0.001	<0.001	<0.001	<0.0006	<0.001	<0.001	<0.001
Hexacloroben ceno	<0.0001	<0.0001	<0.001	<0.001	<0.0001	<0.00001	<0.001	<0.001
2,4,D	<0.002	<0.05	<0.03	<0.03	<0.002	<0.05	<0.03	<0.03
Heptacloro	<0.0005	<0.00001	<0.00003	<0.00003	<0.0005	<0.00003	0.00003	0.00003
Epóxido de Heptacloro	<0.0004	<0.0003			<0.0004	<0.00003		
Metoxicloro	<0.0022	<0.02	<0.02	<0.02	<0.0022	<0.02	0.02	0.02

P promedio de las regiones 1 y 2 en partes por millón

Cuantificación de COP'S y evaluación de daño genético en hígado de *Goodea atripinnis* del Lago de Chapala y la Laguna de Sayula.

Los datos de la cuantificación de COP'S y la evaluación del daño genético en hígado de *Goodea atripinnis* se presentan en las tablas 2 y 3. En la etapa 1, sequía 2004 (tabla 2), no existe diferencia en la concentración entre hígado de peces de Chapala y Sayula, a excepción del 2,4 D cuya concentración está 10 veces más alta en Chapala.

Medición de caudas

La media de migración de las caudas en núcleos hepáticos de los peces del Lago de Chapala fue mayor que las correspondientes en Sayula y ambas fueron mayores a la del testigo negativo. La comparación de la longitud de los cometas de ambos sitios respecto al testigo negativo mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$).

Tabla 2. Concentración de COP'S en hígado de *Goodea atripinnis* del lago de Chapala y Laguna de Sayula en la etapa 1 (sequía del 2004). Se presenta también la migración promedio de la cauda del cometa y en la parte inferior su comparación estadística.

	MEDIA DE MIGRACIÓN DE LAS CAUDAS EN MICRAS	PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE COP'S EN PARTES POR MILLÓN EN TRES DIFERENTES MUESTRAS DE TEJIDO
Hepatocitos de <i>Goodea atripinnis</i> del Lago de Chapala	32.05 ± 12.013 n 100	Lindano <0.0023 Aldrin <0.0004 Dieldrin <0.0005 Clordano <0.0003 DDT <0.0006 Hexaclorobenceno <0.00001 2,4,D <0.02 Heptacloro <0.0005 Epóxido de heptacloro <0.0004 Metoxicloro <0.0022
Hepatocitos de <i>Goodea atripinnis</i> de Laguna de Sayula	28.75 ± 5.430 n 100	Lindano <0.0025 Aldrin <0.0002 Dieldrin <0.0006 Clordano <0.0003 DDT <0.0008 Hexaclorobenceno <0.00005 2,4,D <0.002 Heptacloro <0.0008 Epóxido de heptacloro <0.0004 Metoxicloro <0.0023
Hepatocitos de <i>Goodea atripinnis</i> mantenidos en peceras (testigo negativo)	20.175 ± 4.636 n 100	
Comparación de la migración del ADN (tamaño de la cauda) entre núcleos hepáticos de Lago de Chapala, Laguna de Sayula y testigo negativo.		
MUESTRAS	HGCH	HGS
TESTIGO NEGATIVO	P<0.01	P<0.01

HGS Hígado *Goodea atripinnis* Sayula
 HGCH Hígado *Goodea atripinnis* Chapala
 n Tamaño de la muestra (número de cometas analizados)

En la etapa 2 (tabla 3) no existen diferencias en la concentración de COP'S entre hígado de peces de Chapala y Sayula. La media de migración de las caudas en núcleos hepáticos de peces de la Laguna de Sayula es mayor que en el caso del

Lago de Chapala. La comparación de la longitud de los cometas mostró diferencias estadísticamente significativas para Sayula ($P < 0.01$) pero no para Chapala.

Tabla 3. Concentración de COP'S en tejidos de *Goodea atripinnis* del Lago de Chapala y la Laguna de Sayula en la etapa 2 (lluvias del 2004). Se presenta también la migración promedio de la cauda del cometa y su comparación estadística en la parte inferior.

	MEDIA DE MIGRACIÓN DE LAS CAUDAS EN MICRAS	PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE COP'S EN PARTES POR MILLÓN EN TRES DIFERENTES TEJIDOS	
Hepatocitos de <i>Goodea atripinnis</i> del Lago de Chapala	23.5493 ± 4.607 n 81	Lindano Aldrin Dieldrin Clordano DDT Hexaclorobenceno 2,4,D Heptacloro Epóxido de heptacloro Metoxicloro	<0.001 <0.00005 <0.00006 <0.0007 <0.003 <0.00006 <0.05 <0.00007 <0.00008 <0.02
Hepatocitos de <i>Goodea atripinnis</i> de Laguna de Sayula	27.45 ± 4.633 n 100	Lindano Aldrin Dieldrin Clordano DDT Hexaclorobenceno 2,4,D Heptacloro Epóxido de heptacloro Metoxicloro	<0.002 <0.00006 <0.00008 <0.0002 <0.008 <0.00009 <0.05 <0.00007 <0.00004 <0.02
Hepatocitos de <i>Goodea atripinnis</i> mantenidos en peceras (testigo negativo)	20.175 ± 4.636 n 100		

Comparación de la migración del ADN (tamaño de la cauda) entre núcleos hepáticos de Chapala, la Laguna de Sayula y testigo negativo

MUESTRAS	HGCH	HGS
TESTIGO NEGATIVO	NO SIGNIFICATIVA	P<0.01

HGS Hígado de *Goodea atripinnis* Sayula

HGCH Hígado de *Goodea atripinnis* Chapala

n Tamaño de la muestra (número de cometas analizados)

En la etapa 3 (tabla 4) no existen diferencias en la concentración de COP'S entre hígado de peces de Chapala y Sayula. La media de migración de las caudas en

núcleos hepáticos de peces de la Laguna de Sayula es menor que en el caso del Lago de Chapala. La comparación de la longitud de los cometas mostró diferencias estadísticamente significativas para Sayula ($P < 0.01$) pero no para Chapala.

Tabla 4. Concentración de COP'S en tejidos de *Goodea atripinnis* de Chapala y Sayula en la etapa 3 (sequía 2005). Se presenta también la migración promedio de la cauda del cometa y su comparación estadística en la parte inferior.

	MEDIA (X) COMETA MIGRACIÓN EN MICRAS	PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE COP'S EN PARTES POR MILLÓN EN DIFERENTES TEJIDOS
Hepatocitos de <i>Goodea</i> <i>Atripinnis</i> del Lago de Chapala	20 ± 4.7 n 100	Lindano <0.002 Aldrin < 0.00003 Dieldrin <0.00003 Clordano <0.0002 DDT <0.001 Hexaclorobenceno <0.001 2,4,D <0.03 Heptacloro <0.00003 Epóxido de heptacloro <0.00003 Metoxicloro < 0.02
Hepatocitos de <i>Goodea</i> <i>Atripinnis</i> de la Laguna de Sayula	14.80 ± 2.268 n 100	Lindano <0.002 Aldrin < 0.00003 Dieldrin <0.00003 Clordano <0.0002 DDT <0.001 Hexaclorobenceno <0.001 2,4,D <0.03 Heptacloro <0.00003 Epóxido de heptacloro <0.00003 Metoxicloro < 0.02
Hepatocitos de <i>Goodea atripinnis</i> mantenidos en peceras (testigo negativo)	20.175 ± 4.636 n 100	

Comparación de la migración del ADN (tamaño de la cauda) entre núcleos hepáticos y eritrocitos de peces de Chapala y la Laguna de Sayula.

MUESTRAS	HGCH	HGS
TESTIGO NEGATIVO	NO SIGNIFICATIVA	$P < 0.01$

HGS Hígado de *Goodea atripinnis* Sayula
HGCH Hígado de *Goodea atripinnis* Chapala
n Tamaño de la muestra (número de cometas analizados)

En la etapa 4 (tabla 5) no existen diferencias en la concentración de COP'S entre hígado de peces de Chapala y Sayula. La media de migración de las caudas en núcleos hepáticos de peces de la Laguna de Sayula es menor que en el caso del Lago de Chapala. La comparación de la longitud de los cometas mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$) para Chapala pero no para Sayula.

Tabla 5. Concentración de COP'S en tejidos de *Goodea atripinnis* de Chapala y Sayula en la etapa 4 (lluvias 2005). Se presenta también la migración promedio de la cauda del cometa y su comparación estadística en la parte inferior.

	MEDIA (X) COMETA MIGRACIÓN EN MICRAS	PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE COP'S EN PARTES POR MILLÓN EN DIFERENTES TEJIDOS	
Hepatocitos de <i>Goodea atripinnis</i> del Lago de Chapala	26.415 ± 5.85 n 100	Lindano Aldrin Dieldrin Clordano DDT Hexaclorobenceno 2,4,D Heptacloro Epóxido de heptacloro Metoxicloro	<0.002 < 0.00003 <0.00003 <0.0002 <0.001 <0.001 <0.03 <0.00003 <0.00003 < 0.02
Hepatocitos de <i>Goodea atripinnis</i> de Laguna de Sayula	24.525 ± 5.96 n 100	Lindano Aldrin Dieldrin Clordano DDT Hexaclorobenceno 2,4,D Heptacloro Epóxido de heptacloro Metoxicloro	<0.002 < 0.00003 <0.000003 <0.0002 <0.001 <0.001 <0.03 <0.00003 <0.00003 < 0.02
Hepatocitos de <i>Goodea atripinnis</i> mantenidos en peceras (testigo negativo)	20.175 ± 4.636 n 100		

Comparación de la migración del ADN (tamaño de la cauda) entre núcleos hepáticos y eritrocitos de peces de Chapala y la Laguna de Sayula.

MUESTRAS	HGCH	HGS
TESTIGO NEGATIVO	P < 0.01	NO SIGNIFICATIVA

HGS Hígado de *Goodea atripinnis* Sayula
 HGCH Hígado de *Goodea atripinnis* Chapala
 n Tamaño de la muestra (número de cometas analizados)

Cuantificación de COP'S en hígado y evaluación de daño genético de *Pelicanous erythrorhyncus* del Lago de Chapala y la Laguna de Sayula.

En la etapa 1, sequía 2004 (tabla 6) no existe diferencias en la concentración COP'S entre hígado de pelicano de Chapala y Sayula.

La media de migración de las caudas en núcleos hepáticos de pelicanos del Lago de Chapala resultó notablemente superior a la correspondiente en Sayula. La comparación de la longitud de los cometas mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.001$).

Tabla 6 Concentración de COP'S en tejidos de *Pelicanous erythrorhyncus* de Chapala y Sayula en la etapa 1 (sequía 2004). Se presenta también la migración promedio de la cauda del cometa y en la parte inferior su comparación estadística.

	MEDIA (X) COMETA MIGRACIÓN EN MICRAS	PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE COP'S EN PARTES POR MILLÓN EN TRES DIFERENTES TEJIDOS	
Hepatocitos de <i>Pelicanous erythrorhyncus</i> del Lago de Chapala	48.58	Lindano	<0.0023
	±	Aldrín	<0.0004
	10.050	Dieldrín	<0.0005
	n 300	Clordano	<0.0003
		DDT	<0.0006
		Hexaclorobenceno	<0.0003
		2,4,D	<0.002
		Heptacloro	<0.0005
		Epóxido de heptacloro	<0.0004
		Metoxicloro	<0.0021
Hepatocitos de <i>Pelicanous erythrorhyncus</i> de Laguna de Sayula	10.60	Lindano	<0.0030
	±	Aldrín	<0.0005
	2.970	Dieldrín	<0.0006
	n 300	Clordano	<0.0004
		DDT	<0.0007
		Hexaclorobenceno	<0.0002
		2,4,D	<0.003
		Heptacloro	<0.0004
		Epóxido de heptacloro	<0.0005
		Metoxicloro	<0.0027
Comparación de la migración del ADN (tamaño de la cauda) entre núcleos hepáticos de pelicano de Chapala y la Laguna de Sayula.			
MUESTRAS	HPS		
HPCH	P<0.001		

HPS Hígado de *Pelicanous erythrorhyncus* de Sayula
 HPCH Hígado de *Pelicanous erythrorhyncus* de Chapala
 n Tamaño de la muestra (número de cometas analizados)

En la etapa 2, lluvias 2004 (tabla 7) no existen diferencias en la concentración de COP'S entre hígado de pelcano de Chapala y Sayula con excepción de hexaclorobenceno y epóxido de heptacoloro cuya concentración es mayor en Chapala. La media de migración de las caudas en núcleos hepáticos de la Laguna de Sayula es menor que en el Lago de Chapala. La comparación de la longitud de los cometas mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.001$).

Tabla 7. Concentración de COP'S en tejidos de *Pelycanous erythrorhyncus* de Chapala y Sayula en la etapa 2 (lluvias. 2004). Se presenta también la migración promedio de la cauda del cometa y su comparación estadística en la parte inferior.

	MEDIA (X) COMETA MIGRACIÓN EN MICRAS	PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE COP'S EN PARTES POR MILLÓN EN DIFERENTES TEJIDOS	
Hepatocitos de <i>Pelycanus erythrorhyncus</i> del Lago de Chapala	40.875 ± 3.265 n 100	Lindano	<0.0027
		Aldrin	<0.00003
		Dieldrin	<0.00004
		Clordano	<0.0002
		DDT	<0.001
		Hexaclorobenceno	<0.0004
		2,4-D	<0.05
		Heptacoloro	<0.00001
		Epóxido de heptacoloro	<0.0002
		Metoxicloro	<0.02
Hepatocitos de <i>Pelycanus erythrorhyncus</i> de Laguna de Sayula	24.469 ± 7.49 n 81	Lindano	<0.0024
		Aldrin	<0.00007
		Dieldrin	<0.00003
		Clordano	<0.0007
		DDT	<0.003
		Hexaclorobenceno	<0.00001
		2,4-D	<0.06
		Heptacoloro	<0.00003
		Epóxido de heptacoloro	<0.00008
		Metoxicloro	<0.03

Comparación de la migración del ADN (tamaño de la cauda) entre núcleos hepáticos y eritrocitos de pelicano de Chapala y la Laguna de Sayula.

MUESTRAS

HPS

HPCH

P<0.001

HPS Hígado de *Pelycanous erythrorhyncus* de Sayula

HPCH Hígado de *Pelycanous erythrorhyncus* de Chapala

n Tamaño de la muestra (número de cometas analizados)

En la etapa 3, sequía 2005 (tabla 8), no fue posible la determinación de las concentraciones de COP'S en hígado de pelicanos debido a extravío de datos, sin embargo, si se cuantificó el daño genético. La media de la migración de la cauda de

hepatocitos para el caso del Lago de Chapala fue superior (47.39 micrómetros) a la de Sayula (34.86 micrómetros) y la comparación de la longitud de los cometas mostró diferencias significativas ($P < 0.001$).

Tabla 8. Concentración de COP'S en tejidos de *Pelycanous erythrorhyncus* del Lago de Chapala y la Laguna de Sayula en la etapa 3 (sequía 2005). En la parte inferior se presenta también la migración promedio de la cauda y la comparación estadística entre ambas.

	MEDIA (X) COMETA MIGRACIÓN EN MICRAS	PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE COP'S EN PARTES POR MILLÓN EN TRES DIFERENTES TEJIDOS
Hepatocitos de <i>Pelycanous erythrorhyncus</i> del Lago de Chapala	47.39 ± 11.038 n 354	Lindano Aldrin Dieldrin Clordano DDT Hexaclorobenceno 2,4,D Heptacloro Epóxido de heptacloro Metoxicloro
Hepatocitos de <i>Pelycanous erythrorhyncus</i> de Laguna de Sayula	34.86 ± 11.286 n 165	Lindano Aldrin Dieldrin Clordano DDT Hexaclorobenceno 2,4,D Heptacloro Epóxido de heptacloro Metoxicloro
Comparación de la migración del ADN (tamaño de la cauda) entre núcleos hepáticos y eritrocitos de pelicano de Chapala y la Laguna de Sayula.		
MUESTRAS	HPS	
HPCH	$P < 0.001$	

HPS Hígado de *Pelycanous erythrorhyncus* de Sayula
 HPCH Hígado de *Pelycanous erythrorhyncus* de Chapala
 n Tamaño de la muestra (número de cometas analizados)

En la tabla 9, etapa 4 (lluvias 2005) no existen diferencias en la concentración de COP'S entre hígado de pelicano de Chapala y Sayula. La media de migración de las caudas en núcleos hepáticos en la Laguna de Sayula es ligeramente superior respecto al Lago de Chapala. La comparación de la longitud de los cometas no mostró diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 9. Concentración de COP'S en tejidos de *Pelycanous erythrorhyncus* de Chapala y Sayula en la etapa 4 (lluvias 2005). En la parte inferior se presenta también la migración promedio de la cauda y su comparación estadística.

	MEDIA (X) COMETA MIGRACIÓN EN MICRAS	PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE COP'S EN PARTES POR MILLÓN EN TRES DIFERENTES TEJIDOS	
Hepatocitos de <i>Pelycaonus erythrorhyncus</i> del Lago de Chapala	40.845	Lindano	<0.002
	±	Aldrin	<0.00003
	3.640	Dieldrin	<0.00003
		Clordano	<0.0003
		DDT	<0.001
		Hexaclorobenceno	<0.00001
		2,4,D	<0.05
		Heptacloro	<0.00003
		Epóxido de heptacloro	<0.00003
		Metoxicloro	<0.02
	n 100		
Hepatocitos de <i>Pelycaonus erythrorhyncus</i> de Laguna de Sayula	41.45	Lindano	<0.002
	±	Aldrin	<0.00003
	3.299	Dieldrin	<0.00003
		Clordano	<0.0003
		DDT	<0.001
		Hexaclorobenceno	<0.00001
		2,4,D	<0.05
		Heptacloro	<0.00003
		Epóxido de heptacloro	<0.00003
		Metoxicloro	<0.02
	n 100		
Comparación de la migración del ADN (tamaño de la cauda) entre núcleos hepáticos y eritrocitos de pelícano de Chapala y la Laguna de Sayula.			
MUESTRAS	HPS		
HPCH	NO SIGNIFICANCIA		

HPS Hígado de *Pelycaonus erythrorhyncus* de Sayula
HPCH Hígado de *Pelycaonus erythrorhyncus* de Chapala

n Tamaño de la muestra (número de cometas analizados)

La comparación por lugar de COP'S en tejido hepático en *Goodea atripinnis*: Chapala-Sayula de los niveles de COP'S muestra concentraciones similares en cada una de las etapas, salvo para la etapa 1 en Chapala donde se incrementa la concentración de 2, 4 D. Sin embargo, la comparación por etapas muestra un comportamiento diferenciado en la concentración. De la etapa 1 a la 2 tanto en Chapala como en Sayula aldrín, dieldrin, heptacloro y epóxido de heptacloro se

diluyen en época de lluvia, pero DDT, 2, 4 D y metoxicloro se concentran. En las siguientes etapas tienden a mantener valores similares a la segunda etapa.

No se observa relación daño genético-época del año, sin embargo, el daño genético resulta, en la mayoría de los casos, superior en Chapala con excepción de la etapa 2. Al mismo tiempo el daño genético observado para ambos embalses es superior al observado para el testigo negativo con excepción de la tercera etapa.

En cuanto a *Pelycanous erythrorhyncus* la comparación por lugar: Chapala-Sayula muestra concentraciones similares en cada etapa, excepto para la etapa 2 donde hexaclorobenceno y hepóxido de heptacloro se encuentran más concentrados en Chapala. La concentración por etapas muestra también un comportamiento diferenciado, similar a lo observado para *Goodea atripinnis* y el daño genético fue superior para todos los casos en Chapala.

DISCUSIÓN

Los COP'S, son sustancias químicas que provocan daño al ADN y enfermedades como cáncer (Fahring, 1974; Pool *et al.*, 1977; Guillette, 1994; Guruge *et al.*, 2001 y Lombardi, 1998). Algunos COP'S como los plaguicidas organoclorados (DDT, HCH, lindano, clordano, heptacloro, metoxicloro, toxafeno, aldrín y dieldrín) contaminan las aguas subterráneas y superficiales en México (Martínez, 1994).

En el presente estudio se detectó y cuantificó la presencia de DDT, HCH, lindano, clordano, metoxicloro, toxafeno, eldrín, y dieldrín, en aguas de el Lago Chapala y la Laguna de Sayula (Tabla 1). Estos datos concuerdan con lo reportado por Martínez (1994) y confirman el extensivo uso de estos agroquímicos en Jalisco y estados vecinos y el riesgo de exposición a plaguicidas a través de los cuerpos de agua dulce como lo reportó Jiménez (2001).

El aumento en la concentración de 2,4 D, DDT y metoxicloro (Tabla 1) de la 1ª etapa a la 2ª etapa, tanto en Chapala como en Sayula, confirma que estos son arrastrados durante la temporada de lluvias como fue señalado anteriormente (Buck, 1982 ; Cooke, 1982).

La disminución de la concentración de heptacloro, aldrín y dieldrín de la 1ª a la 2ª etapa en los mismos embalses indica que ellos están presentes en forma residual y se diluyen con la entrada de agua de las lluvias, similar comportamiento para ambos casos se observó para el caso de COP'S en hígado tanto de peces como de pelícanos. Se confirma que ya no se utilizan con fines agrícolas y que su existencia se debe a que duran de 25 a 40 años en el ambiente (persistencia) (Pietrapiana *et al.*, 2002). El epóxido de heptacloro disminuyó durante las lluvias sólo en Sayula indicando dilución y persistencia. Las mismas concentraciones de lindano y clordano de la 1ª a la 2ª etapa en los dos cuerpos de agua se deben, probablemente, a una concentración cercana al límite de resolución del cromatógrafo utilizado.

Los COP'S pueden ser absorbidos o retenidos en los tejidos grasos de los animales (Pietrapiana *et al.*, 2002) bioacumulándose incluso miles de veces respecto a las condiciones ambientales (Guillette, 1994), situación no observada en el presente trabajo. El análisis de COP'S en el hígado de *Goodea atripinnis* de Chapala y Sayula de la 1ª y 2ª etapa (tablas 2 y 3) mostró que los COP'S están en concentraciones similares en la etapa 1 a excepción del 2,4 D cuya concentración es 10 veces superior (0.02 ppm) en Chapala con respecto a Sayula (0.002 ppm) y más

concentradas que los más altos niveles encontrados en el agua de Chapala (0.05 ppm) y Sayula (0.05 ppm) indicando bioacumulación.

Las concentraciones de COP'S de peces de Chapala y Sayula para la etapa 2 no mostraron diferencias, sin embargo, se observó un fuerte impacto por la época en Chapala: En la 2ª etapa aldrín, dieldrín, heptacloro y epóxido de heptacloro parecen diluirse mientras que metoxicloro, DDT y 2,4 D se incrementaron durante la lluvia. Para Sayula se observó un comportamiento de estas sustancias muy similar a de Chapala. Este comportamiento se asemeja a lo encontrado en los COP'S de aguas (tabla 1). Lo anterior podría indicar que si bien la bioacumulación existe esta no necesariamente es definitiva (Cooke, 1982). Las concentraciones de COP'S en hígado de *Goodea atripinnis* y *Pelicanous erythrorhyncus* resultaron muy similares (muy bajos) quizá porque los niveles estuvieron cerca del límite de resolución del cromatógrafo pero suficientes para observar los cambios.

Una sustancia se considera mutagénica cuando daña el ADN y carcinógena cuando al afectar a una población, cuyos organismos no han sido expuestos a ella con anterioridad y hay un aumento estadísticamente significativo de alguna forma de neoplasia (crecimiento celular anómalo) (Zúñiga, 2001). La PCA permite medir el rompimiento en el ADN, detectar sitios sensibles al álcali en células de mamíferos y algunas plantas (Alvarez, 2001) y es muy empleada ya que es rápida, simple y sensible.

La comparación de la migración media de las caudas de núcleos hepáticos de *Goodea atripinnis* de Chapala y Sayula con respecto al testigo negativo en la 1ª etapa mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$). Similar comportamiento se observó para la 2ª etapa para Sayula no así para Chapala. Lo anterior indica la presencia de agente(s) con actividad genotóxica; la mayor concentración de 2,4 D en Chapala en la etapa 1 hace a este agente "sospechoso" de inducir el daño genético, este hecho se refleja en una mayor migración.

En la etapa 2 también existe diferencia estadísticamente significativas entre hepatocitos de peces de Sayula y el testigo negativo no así para peces de Chapala. En esta ocasión la presencia de 2,4,D fué idéntica en ambos lugares lo que indica la presencia uno o más agentes genotóxicos diferentes a los estudiados en este trabajo.

CONCLUSIONES

- 1 Las concentraciones de COP'S en aguas y tejidos hepáticos de *Goodea atripinnis* y *Pelycanous erythrorhyncus* de Chapala y Sayula son muy bajos.**
- 2 A través del (PCA) se puede afirmar que existe daño genético en células hepáticas de peces y pelícanos de Chapala y de Sayula.**
- 3 No se detectó bioacumulación de COP'S.**
- 4 El daño genético no necesariamente se atribuye a los COP'S.**
- 5 Algunos COP'S son arrastrados por las lluvias concentrándose en los cuerpos de agua, otros al parecer, ya no son empleados y se encuentran en forma residual en estos embalses y se diluyen con la llegada de aguas.**

REFERENCIAS

Álvarez Moya C. y Zaitseva Petrovna G. (2001). Enfermedades genéticas originadas por mutaciones. En: Genética, ambiente y salud (Álvarez Moya C. Ed.). Universidad de Guadalajara, Guadalajara. pp. 103-116.

Álvarez Moya C. y Santerre Lucas A. (2001). Agua de consumo público en la ciudad de Guadalajara, México: Evaluación de la genotoxicidad en *Tradescantia*. Scientia, CUCBA. 3: 12-17.

Álvarez Moya C. (2003). Los pesticidas como fuente de daño genético. En sustentabilidad (Mendoza Cornejo C. y Pimienta Barrios E. Eds.). 1: 33-41.

Aguilera Rodríguez J. R. Evaluación de la prueba de *Tradescantia* para la detección de daño mutagénico (tesis de Licenciatura). Guadalajara: Universidad de Guadalajara, 1996.

Ames D. N., Durston W. R., Yamasaki E. y Lee F. D. (1973). Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. Nat Acad. Sci. (USA). 69: 3128-3132.

Antonucci G.A., De Syllos Colus I. M. (2000). Chromosomal aberration analysis in a Brazilian population exposed to pesticides. Teratogenesis Carcinogenesis Mutagenesis. 20(5):265-272.

Albert A. L. (1990). Riesgos de los plaguicidas para la salud. En: Los plaguicidas el ambiente y la salud (Albert A. L. Ed). Centro de ecodesarrollo. México. pp. 65-86.

Alpuche L.; Aranda E.; Badillo F.; Bárcenas C.; Chediack R.; Loera R.; Pomares G. L.; Rendón J.; Viveros A. D., (1990). Los plaguicidas y sus efectos en el ambiente y la salud. Centro de ecodesarrollo. pp 86-89.

Arévalo H. A., Evaluación de daño genético en células de Agave tequilana con marchites del agave. Uso de la prueba del cometa (Tesis de Maestría). Universidad de Guadalajara, México, Guadalajara 1999.

Asano N., Morita T., Watanabe Y. (1989). Micronucleus test with colchicine given by intraperitoneal injection and oral gavage. *Mutation Research*. 223 (4):391-394.

Bali D., Singh J., Singh H., Sandhu, D. (1990). In vitro and in vivo genotoxicity evaluation of hormonal drugs. I. Hydrocortisone. *Environmental Molecular Mutagenesis*. 16: 250-254.

Belpaeme K., Cooreman K. y Kirsch- Volders M. (1998). Development and validation of the in vivo alkaline comet assay for detecting genomic damage in marine flatfish. *Mutation Research*. 415: 167-184.

Borga K. Gabrielsen G.W. & Skaare J.U.. (2001). Biomagnification of organochlorines along a Barents Sea food chain. *Environmental Pollution*. 113 (2): 187- 198.

Casiano A. D. (1991). Introduction: historical perspectives of the genetic toxicology. En: *Genetic Toxicology*. (Li. P.A. y Heflich R.H., Eds.) CRC Press, Nueva Jersey, pp 1-12.

Carrillo-Cedillo E. y Velez L. E (1996). Plaguicidas organofosforados en aguas de riego del Valle de Mexicali, II Congreso Nacional de Ciencias Ambientales, Mazatlán, México, diciembre, 15.

Ciaravino V., Miller M. W., Carstensen E. L. (1986). Sister- chromatid exchanges in human lymphocytes exposed in vitro to therapeutic ultrasound. *Mutation Research*. 172: 185-188.

Corsolini S., Focardi S., Kannan K., Tanabe S., and Tatsukawa R. (1995). Isomer-specific Analysis of polychlorinated Biphenyls and 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin Equivalents (TEQs) in Red Fox and Human Adipose Tissue from Central Italy. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 29: 61-68.

Crain D. A. & L. J. Guillette Jr. (1997). Endocrine- Disrupting contaminants and reproduction in vertebrate wildlife. *Reviews in Toxicology*. 1: 47- 70.

Dhillon V., Singh J., Singh H., Kler R (1995). In vitro and in vivo genotoxicity evaluation of hormonal drugs. VI. Fluoximesterone. *Mutation Research*. 342: 103-111.

Dolara P., Torricelli F. y Antonelli N. (1994). Cytogenetic effects on human lymphocytes of a mixture of fifteen pesticides commonly used in Italy. *Mutation Research*. 325 : 47-51.

Dunier M.B. (1994). Effects of Environmental Contaminants (Pesticides and Metal ions) on Fish Immune Systems. In: *Models for Environmental Toxicology, Biomarkers Immunostimulators*. Fair Haven, N. J.

Egali U., Tunca B., Tuncel P., Kahraman M., Sevinir B., Cecener G., Batmaz H., Akpınar G., Cimen C., Cangul T., Bilaloglu R. (2000). Genotoxic, hematoxic, pathological, and biochemical effects of hexane on swiss albino rats. *Teratogenesis. Carcinogenesis Mutagenesis*. 124 : 42-59

Gaceta Universitaria. (2002). Más información sobre la leche. Residuos de plaguicidas organoclorados en leche expendida en la zona metropolitana de Guadalajara. U. de G. 11 de marzo, 2002. P:11.

Gallegos (2000). Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds: Part two. Mutation Research 465(2): 123-133

Garaj-Vrhovac V., Zeljezic D. (2000). Evaluation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides using single- cell gel electrophoresis (SCGE) assay. Pesticide genotoxicity revealed by comet assay. Mutation Research. 469 (2): 279-285.

Gichner T., Ptacek O., Stavrena D.A., Wagner E.D., Plewa M.J. (2000). A comparison of DNA repair using the comet assay in tobacco seedlings after exposure to alkylating agents or ionizing radiation. Mutation Research. 470(1): 1-9

Gómez A. S., Noriega A. N., Osorio A., Galicia F., Ling S. y Villalobos P. R. (1992). Sister chromatid exchanges analysis in a rural population of México exposed to pesticides. Mutation Research. 281: 173-179.

Graf U., Würzler F. R., Katz A. J., Frei H., Joan H., Hall C. B. y Kale P.G.(1984). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. Environmental Mutagenesis. 6: 153-188.

Graf U. y Singer D. (1992). Genotoxicity of promutagens in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. Revista Internacional Contaminación Ambiental. 8 : 15-27.

Grant W .F. (1994). The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. Mutation Research. 310: 175-185.

Grant W. F. y Salamone M. F. (1994). Comparative mutagenicity of chemical selected for test in the International Program on Chemical Safety's collaborative

study on plant systems for the detection on environ. *Mutagenesis Mutation Research*. 310: 187-209.

Grant W. F., Lee H. G., Logan D. M. y Salamone M. F. (1992). The use of *Tradescantia* and *Vicia faba* bioassays for the in situ detection of mutagens in an aquatic environmental. *Mutation Research*. 270: 53-64.

Grella A., Spinaci A. y De Filippis P. (1994). Volatile organic halogen compounds in the drinking water of the city of Rome. *Annali di le giene* 6 : 909-919.

Griggs, H. G. and Bender M. A. (1973). Photoreactivation of ultraviolet induced chromosoma aberrations. *Science* 179 : 86-88.

Grimmer G. (1983). Chemistry. En *Environmetal carcinogenesis*. (G. Grimmer, Ed.). Boca raton, Florida, pp. 200-216.

Guillette L. J. Jr. (1994). Endocrine disrupting environmental contaminants and reproduction: lessons from the study of wildlife. In: *Women's Health Today: Perspectives on Current Research and Clinical Practice*. (D. R. Popkin & L. J: Peddl, eds.) Parthenon Pub. N. Y: 201-207.

Guillete L. y Uribe C. (2001). Alteraciones en el sistema reproductor de *Alligato, Mississipiensis* por contaminantes ambientales. *Bol. Suc. Herpetol. Mex.* 9: 1-11.

Guillette L. J. Jr.; Gross, T.S.; Masson G.R.; Matter, J. M.; Percival, H. F. & A. R., Woodward. (1994). Developmental Abnormalities of the Gonad and Abnormal Sex Hormone Concentrations in Juvenile Alligators from Contaminated and Control Lakes in Florida. *Environmental Health Perspectives*. 102(8): 680- 688.

Guizar- Vázquez J. (1994). Genética Clínica. Segunda edición . El Manual Moderno, México.

Guruge K. S.; Watanabe M.; Tanaka H. y Tanabe S.. (2001). Accumulation status of persistent organochlorines in albatrosses from the North Pacific and the Southern Oceanology Environmental Pollution. 114 (3): 389- 398.

Guzmán Arroyo M., Peniche Camps S. y Valdés Zepeda A. (2003). La cuenca del río Lerma y el Lago de Chapala. En: Chapala una crisis programada, Universidad de Guadalajara. pp. 12-36.

Han H. (1995). Induction of a ADN adduct detectable by 32P-postlabeling in the dorsolateral prostate of NBL/Cr rats treated with estradiol-17Bb and testosterone. Carcinogenesis 16 : 951-954.

Hario, M., Himberg., K; T. Hollmén & E. Rudback. (2000). Polychlorinated biphenyl in diseased lesser black- blacked gull (*Larus fuscus fuscus*) chicks from the Gulf of Findland. Environmental Pollution. 107(1): 53- 60.

Heddle J., Lue C., Saunders E., Daniel R. (1978). Sensitivity to five mutagens in Fanconi's anemia as measured by the micronucleus method. Cancer Research 38: 2983-2988.

Heflich H.R. 1991. Chemical mutagens. En : Genetic Toxicology. (Lí P.A., Heflich R.H. Ed.) CRC Press, New Yersey, pp. 143-202.

Herrera A., Barrueco C., Caballo C., De la Peña E. (1992). Effect of permethrin on the induction of sister chromatid exchanges and micronuclei in cultured human lymphocytes. Environmental Molecular Mutagenesis. 20: 218-222.

IARC (1991). Occupational exposures in: insecticide application and some pesticides. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks on humans. Vol 53, Lyon.

Ichikawa, S. (1992). Tradescantia stamen-hair system as an excellent botanical tests of mutagenicity: Its responses to ionizing radiation and chemical mutagens, and some synergistic effects found. Mutation Research. 270: 3-22.

Jiménez, C. B. E. (2001). La Contaminación Ambiental en México. (Causas, Efectos y Tecnología Apropriada). Capítulo 1 y 2. Editorial Limusa, S.A. de C.V. México, D. F.

Kammann, U.; Bunke, M.; Steinhart, H. & N. Theobald. (2001). A permanent Fish cell line (EPC) for Genotoxicity testing of marine sediment with the Comet Assay. Mutation Research. 498: 67-77.

Karlson, K.; Ishaq, R.; Becker, G.; Berggren, P.; D. Broman & A. Colmsjö. (2000). PCB'S, DDT and methyl sulphone metabolites in various tissues of harbour porpoises from Swedish waters. Environmental Pollution. 110(1): 29- 46.

Kasahara Y Wakata A., Nakai Y., Yuno K., Miura D., Yagi K., Hirabayashi K., Makita T (1992). The micronucleus test using peripheral blood reticulocytes from methotrexate-treated mice. Mutation Research. 278: 145-151.

Kirkland D. (1993). Genetic toxicology testing requirements: oficial and unofficial views from Europe. Environmental Molecular Mutagenesis. 21: 8-14.

Kremlin R. (1982). Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. Ed. Limusa, México.D.F.

Lang R., Reimann R. (1993). Studies for a genotoxic potential of some endogenous and exogenous sex steroids. I. Communication: Examination for the induction of gene mutation using the Ames Salmonella-Microsome test and the HGPRT test in V79 cells. Environmental Molecular Mutagenesis. 21: 272-304

Lewin B. (2000). Genes IX. – Jones and Bartlet. Publisherer, London, U.K.

Lippman, M. (1999). Limiting Contaminant Exposure: PCB's in Fish. In: Environmental Toxicants. Human Exposures and Their Heath Effects. John Wiley & Sons, Inc. N.Y. (1): 283-298.

Lí A. P., Loretz L. J. (1991). Assay genetic. En Genetic toxicology (P.: A. Lí, R.H. Heflich, Ed.) CRC. Press, New Yersey, pp. 119-142.

Lindsley D. L., y Grell E. H. (1968). Genetic variation of the Drosophila melanogaster. Carnegi Instit. Public. 627, 1-62 p.

Lombardi, J. (1998). Endocrine Disrupters. In: Comparative Vertebrate Reproduction. Kluwer Académic Publishers. Massachusetts. USA.

Martínez, R. F. E. (1994). Evaluación de la contaminación industrial y urbana en el Río Santiago tramo Ocotlán- Guadalajara. Tesis Profesional. Facultad de Agricultura. Universidad de Guadalajara.

Mericle M. W., y Mericle R. P. (1967). Genetic nature of somatic mutation of flowers color in Tradescantia clon 02. Rad. Botanic. 7: 449-464.

Mckelvey-Martin V.J., Green MHL, ScMHezer P., Pool-Zobel B. L., De Méo MP, Collins A. (1993). The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): A European review. Mutation Research. 288:47-63.

Miller, G. (1992). Manuals of food quality analysis in the food control laboratory. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food and Drug Aministration. Washington, D.C., USA.

Moses, M. D. (1992). Cosecha dolorosa. Pesticide Education Center, San Francisco, 114p.

Montesano R. y Tomatitis L. (1977). Les cancerogenes chimiques. Lyon Med. 14 : 107-117

Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W.(1992). Bioquímica de Harper. Doceava edición. El Manual Moderno, México, 61, 661-674.

Nacci, D.E.; S. Cayula & E. Jackim. (1996). Detection of DNA damage in individual cells from marine organisms using the single cell gel assay. Aquatic Toxicology. 35(3-4): 197- 210.

Nagae Y., Miyamoto H., Suzuki Y., Shimizu H. (1991). Effect of estrogen on induction of micronuclei by mutagens in male mice. Mutation Research. 263: 21-26

Nagel, R. (1993). Fish and environmental chemical. A critical evaluation of tests. In Fish Ecotoxicology and Ecophysiology. Voh Weinherm Braunbeck, *et al.*, (Ed.)

Palacios, N. M. E.; Paz, R. P.; Hernández, R. S. y A. L., Mendoza (1999). Sintomatología persistente en trabajadores industrialmente expuestos a plaguicidas organofosforados. Salud Pública de México. (4)1: 55- 61.

Pietrapiana, D.; Modena, M.; Guidetti, P.; C. Falugi and M. Vacchi. (2002). Evaluating the genotoxic damage and hepatic tissue alterations in demersal fish species: a case study in the Ligurian Sea (NW Mediterranean). Marine Pollution Bulletin. 44(3) March: 238- 243.

Ríos-Blanco M.N., Faller T.H., Nakamura J., Kessler W., Kreuzer P.E., Ranasinghe A., Filser J.G., Swenberg J.A. (2000) Quantitation of DNA and hemoglobin adducts and apurinic-apyrimidinic sites in tissues of F344 rats e. l. exponed to propylene oxide by inhalation. Carcinogenesis 21 (11), 2011-2018.

Scott D., Galloway S., Marshal R., Ishidate M., Brusick D., Ashby J., Myhr B (1991) Genotoxicity under extreme culture conditions. A report from ICPEMC Task group 9. Mutation Research. 257: 147-204.

Sun C.; Dong Y.; Xu. S. ; Yao S.; Dai J.; Han.; Wang S. & L (2002). Trace analysis of dissolved polychlorinated organic compounds in the water of the Yangtse River (Nanjing, China). Environmental Pollution. 117(1). P: 9-14.

Torres O. B. R. 1991. Los peces de México. AGT. México. 35. Universidad de Guadalajara, Instituto de Limnología y Jalisco SEDUE. Subsecretaría de Ecología. Diagnóstico de la problemática de la contaminación del agua en el Estado de Jalisco. Jalisco, Febrero, 1991.

Uyeno T., Rush M., and Fitzsimons J.M.,1983., Caryology of the Cyprinodontoid fishes of the Mexican Family Goodeidae. P.1,2.

www.conabio.gob.mx 40. www.semarnap.gob.mx/naturaleza/regiones/chapala 41.
www.chem.unep.ch (UNEP- Persistent Organic Pollutants, 1999).
www.ine.gob.mx/dgicurg/sqre/compplaguicidas.html

Webb B. S. A., & Miller R. R., (1998). Zoogoneticus Tequila, a new Goodeid Fish (Cyprinodontiformes) from the Ameca drainage of México, and rediagnosis of the genus. Jan. 23.,725-1,2.

Wiley J. (1990) Mutation and the environment. part A: Basic mechanisms. John Wiley, vol. 340-A

Wilson D., Goldsworthy T., Popp J., Butterworth B (1992). Evaluation of genotoxicity, pathological lesion, and cell proliferation in livers of rats and mice treated with furan. Environmental Molecular Mutagen. 19: 209-222

Zhou H.Y.; Cheung R.Y.H. & Wong M.H. (1999). Bioaccumulation of organochlorines in freshwater fish with different feeding modes cultured in treated wastewater. *Water Research*. 33(12): 2747- 2756.

Zuñiga -González G., Ramirez-Muñoz M.P., Torres-Bugarín O., Pérez Jiménez J., Ramos-Mora A., Zamora-Pérez A., Gallegos-Arreola M.P., Sánchez Corona J. (1998). Induction of micronuclei in the domestic cat (*Felis domesticus*) peripheral blood by colchicine and cytosine-arabinoside. *Mutation Research*. 413, 187-189.

Zuñiga, G.G. (2001). Sistemas para la detección de daño genético. En: *Genética Ambiente y Salud* (Alvarez Moya C. Ed.). Universidad de Guadalajara, Jalisco. México. 127-150