

ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUDA ORAL DEL ANÁLOGO DE BRASINOESTEROIDE DI-31 DEL EN ABEJAS (*APIS MELLIFERA*).

Dra. Angela Fraga Pérez¹, MC Yamilet Coll García², Dr. Alain Vega Cárdenas³, Tec. Alberto Morales Martínez³, DrC. Francisco Coll Manchado², DraC. Gema Pérez Davison¹

1. Centro de Estudios para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana.. Cuba
2. Centro de Productos Biológicos. Facultad de Química. Universidad de la Habana.
3. Estación Experimental Apícola El Cano, La Lisa. Ciudad de La Habana, Ministerio de la Agricultura, Cuba.

Teléfono: 271 95 31, 271 95 37, 271 95 38.

angela@cieb.sld.cu, yamcoll@fq.uh.cu

Introducción

Los términos *Toxicología Ambiental* y *Ecotoxicología* describen los estudios de los efectos adversos sobre los organismos vivos que originan las sustancias químicas cuando entran en contacto con el medioambiente (Relyea y Hoverman, 2006). Existe una tendencia a denominar *Toxicología Ambiental* sólo a los estudios sobre los efectos directos de los químicos medioambientales en los humanos y *Ecotoxicología* al estudio de los efectos de los químicos en los ecosistemas y sus componentes no humanos. Sin embargo, los humanos no estamos aislados del medioambiente natural sino que somos una parte integral de él y él es modificado por nuestras acciones directas o indirectas (Newman, 2001).

La actividad agropecuaria ha experimentado en las últimas décadas importantes procesos de transformación, lo cual ha significado un aumento de las áreas plantadas tanto en productos de consumo humano, forrajero y forestal. Esta situación ha implicado un aumento en la liberación de sustancias químicas, o plaguicidas ya sean naturales o de síntesis, imprescindible para el control de plagas principalmente en los procesos de producción intensivos.

La utilización de los plaguicidas dentro de una actividad sostenible, debe considerar los mecanismos de control necesarios a modo de evitar efectos adversos sobre la salud humana y el medio ambiente, los modelos de evaluación de riesgo ambiental son una buena herramienta para realizar la gestión ambiental

Una especie animal muy representativa del medio que será bombardeado por plaguicidas, fertilizantes, fitohormonas, lo constituyen las abejas. Este insecto por su modo de vida y alimentación, al succionar el néctar, el polen y el agua que se encuentra en las plantas, van a estar en contacto directo con estas sustancias que fueron vertidas al medio de manera intencional. Por esto se considera a las abejas altamente sensibles a las variaciones ambientales tomándolas como indicador esencial de riesgo ambiental. (Fernández, M.; Picó, Y.; Mañes, J. 2003)

El DI-31, es una sustancia análoga de brasinoesteroides, los cuales tiene la capacidad de aumentar el rendimiento y la calidad de las cosechas. Los brasinoesteroides integran un grupo de compuestos esteroidales naturales presentes en las plantas. Se plantea que estas sustancias protegen a los cultivos del estrés ambiental impuesto por temperaturas extremas, sequías, salinidad y ataques de plagas (Krishna, 2003). Estudios genéticos y bioquímicos recientes, han demostrado que estas sustancias actúan como reguladores sobre varios procesos fisiológicos entre los que se incluyen la germinación, el desarrollo, diferenciación del xilema, elongación de las raíces, tamaño de la planta, resistencia a las enfermedades y tolerancia al estrés (Nemhauser y Chory, 2004; Mussig *et al.*, 2006).

En condiciones naturales los brasinoesteroides forman parte del alimento recolectado por las abejas en el momento de la polinización, por lo que la aplicación de un análogo sintético no debe reflejar resultados negativos en la actividad vital de la colmena, sobre todo teniendo en cuenta que esta hormona no se acumula en los productos apícolas. (L.I Boytsenyk et al 2001).

El Centro de Productos Naturales de la Facultad de Química de la Universidad de La Habana, es uno de los líderes en el estudio de este tipo de compuestos. El producto insigne de esta institución es el Biobrás-16, nombre de la formulación comercial cuyo principio activo es DI-31 obtenido por semisíntesis.

De estudios anteriores (Davison y col, 1996) se sabe que este análogo no es tóxico en mamíferos, También se conoce que las especies de artrópodos (microcrustáceos e insectos) son las más sensibles a la exposición a DI-31, (Davison et al, 2006). Los primeros estudios ecotoxicológicos a este producto se desarrollan en Cuba en el año 2007 con un enfoque sistémico en especies acuáticas (Davison et al, 2007 (no publicado)).

En estudios recientes se demostró la inocuidad del DI-31 al ponerse en contacto con la abeja *Apis mellifera*. En este ensayo se estudiaron los posibles efectos tóxicos del análogo de brasinoesteroide administrándose tópicamente, usando una dosis límite única de la sustancia. Se tuvo en cuenta la mortalidad y la aparición de signos tóxicos, así como cambios en el comportamiento de este organismo.

Objetivo

Con el desarrollo de este trabajo nos propusimos evaluar la posible toxicidad del análogo de brasinoesteroide DI-31 en abejas *Apis mellifera* por vía oral.

Materiales y métodos

En este ensayo se utilizaron abejas *Apis mellifera*, de similar edad y alimentación, aparentemente sanas y que no hubiesen recibido previamente ningún tratamiento con medicamentos o cualquier otra sustancia química. Las mismas se obtuvieron de una colonia "in situ" de la Estación Experimental Apícola El Cano, La Lisa Ciudad de La Habana, perteneciente al Ministerio de la Agricultura, Cuba.

Se utilizó para el ensayo las técnicas y metodologías de la OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Honeybee, Acute Contact Toxicity Test. Protocol 213 (1998).

Se realizó el ensayo límite utilizando 1 dosis de 100 µg/abeja en 50 µL de DI-31 y el mismo volumen de agua destilada para el grupo control, ambas sustancias se mezclaron en la miel de panal que se le suministró como alimento. Además un grupo control negativo al cual solo se le suministró el alimento. El ensayo se realizó utilizando 3 réplicas para cada grupo, y cada réplica contuvo 30 organismos.

Las abejas fueron seleccionadas al azar y se depositaron en una caja de ensayo, donde permanecieron en ayuna durante dos horas antes de iniciar la prueba. El consumo de dieta tratada se supervisó. Una vez consumido (entre las 3-4h) se le suministró miel *ad libitum*.

El ensayo tuvo una duración de 48 h. La mortalidad se determinó a las 4, 24, 48 horas posteriores al suministro de miel *ad libitum* y se comparó con los valores del grupo control. Para que el ensayo se considerara válido la mortalidad en el grupo control no podía exceder el 10 %.

Adicionalmente se determinaron los efectos de la sustancia en ensayo sobre el comportamiento normal de la especie.

El experimento se condujo en la oscuridad a una temperatura de 32 ± 2 °C, con una humedad relativa del 60-80 %.

Resultados

La mortalidad del grupo control negativo fue de 1.1 %, valor aceptable en este tipo de ensayo.

La mortalidad en las abejas tratadas con el DI-31 es de 0%. Además no se observó letargo ni ataxia, ni otro signo que pudiera manifestar una toxicidad en estos organismos.

Entre los receptores seleccionados para la evaluación de riesgo ambiental, se encuentran las abejas, por considerarse estas excelentes bioindicadores de la distribución de sustancias al medio donde circundan. Durante el proceso de recolección de agua, néctar y miel, los plaguicidas son interceptados y/o acumulados en estos organismos, mostrando los mismos su alta sensibilidad ante los cambios ambientales. (Fernández, M.; Picó, Y.; Mañes, J. 2003)

Para la aplicación en la agricultura se utiliza una concentración de 10-20 mg/ha aproximadamente, una o dos veces en el ciclo vegetativo, en dependencia del tipo de cultivo. Por tanto, las concentraciones empleadas en este ensayo fueron muy superiores a las recomendadas por los productores para plantas de interés económico.

Los resultados alcanzados en esta investigación en *Apis mellifera* mostraron porcentajes de mortalidad inferiores en los grupos tratados, coincidiendo con los estudios realizados por Boytsenyk y Antimirov, 2001 al plantear que las abejas alimentadas en cajas con epibrasinolide en el sirope aumenta la duración de vida y la resistencia al compararlas con las alimentadas solo con sirope.

Tabla 1. Observación de la mortalidad de las abejas tratadas con DI-31 por vía oral y los controles negativos a las 4; 24 y 48 horas.

ABEJAS MUERTAS				
Grupos	4 Horas	24 Horas	48 Horas	% Mortalidad
I. Grupo tratado (90)	0	0	0	0
II. Grupo Control(90)	0	0	1	1.1
III. Grupo Control negativo (60)	0	0	1	1.1

Conclusiones

Después de suministrar el análogo del Brasinoesteroide DI-31 por vía oral a una dosis de 100 µg por abeja *Apis mellifera*, concluimos que no produjo mortalidad ni toxicidad en los organismos tratados por lo que podemos plantear que este producto es inocuo para esta especie.

Bibliografía

Davison, G., Restrepo, R., Serrano, M., Martínez, G., Coll, F., León, O. (2002). Efectos Ecotoxicológicos de un Brasinoesteroide en Tres Organismos Productores. *Acta Farmacéutica Bonaerense*. **21**(1); 13-20.

Fernández, M.; Picó, Y.; Mañes, J. Análisis de plaguicidas organofosforados y carbamatos en abejas por cromatografía líquida-espectometría de masas. Comunicación presentada en el XV Congreso Español de Toxicología. Valencia, 22-25 de abril de 2003.

Gema Pérez Davison. Estudio Ecotoxicológico del análogo de brasinoesteroide DI-31 sobre organismos acuáticos. Tesis de Doctorado. CEIEB. IFAL. 2007.

Krishna, P. (2003). Brassinosteroid-Mediated Stress Responses. *J. Plant Growth Regul.* **22**(4); 289-97.

L. I. Boytsenyk, S.B. Antimirov. Epibrassinolide y el desarrollo de la colmena. Academia de la Agricultura de Moscú. Cátedra de Apicultura. Moscú 127550, Calle Paschnaya #3.2001

Mussig, C., Lisso, J., Coll-García, D., Altmann, T. (2006). Molecular analysis of brassinosteroid action. *Plant Biol (Stuttg)*. **8**(3); 291-6.

Nemhauser, J., Chory, J. (2004). BRing it on: new insights into the mechanism of brassinosteroid action. *J. Exp. Bot.* **55**(395); 265-70.

Newman, M. (2001). Fundamentals of Ecotoxicology. 2nd Ed. Lewis Publishers. CRC Press, Inc., Boca Ratón, FL, pp. 1-250.

OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Honeybee, Acute Contact Toxicity Test. Protocol 213 (1998).

Relyea, R., Hoverman, J. (2006). Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems. *Ecology Letters*. **9**; 1157–71.