

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

MC Yamilet Coll García², Dra. Angela Fraga Pérez¹, Dr. Alaín 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 Estudios de Productos Naturales. Facultad de Química. Universidad de la Habana. Cuba.
3. Estación Experimental Apícola El Cano, La Lisa. Ciudad de La Habana, Ministerio de la Agricultura, Cuba.

Teléfonos: 271 95 31, 271 9537, 271 95 38.
yamcoll@fq.uh.cu
angela@cieb.sld.cu

Introducción

La evaluación de los potenciales efectos de los plaguicidas sobre el medio ambiente, constituye una parte importante en el proceso de regulación de ellos. La valoración del riesgo define una relación entre los niveles esperados de exposición y de efectos sobre los ecosistemas, esta exposición supone la estimación cuantitativa de la concentración que puede alcanzar el plaguicida en los diferentes compartimentos por la actividad humana, siempre a partir de una liberación intencionada al ambiente. La valoración de los efectos, por tanto, es la parte que se obtiene de los conocimientos ecotoxicológicos y pretende analizar los efectos sobre la estructura y función de los ecosistemas, poniendo énfasis en la protección de los organismos vivos, protección de los elementos del medio y de las interacciones entre ambos.

En cada situación, se deben definir los elementos a proteger, que estarán en correspondencia con los componentes claves del ecosistema llamados receptores, y estudiar los parámetros de toxicidad para cada uno de ellos. Entre los parámetros y receptores seleccionados para la evaluación de riesgo ambiental de plaguicidas se encuentran las abejas, por su alta sensibilidad ante los cambios ambientales. Las plantas poseen la capacidad de sintetizar una gran cantidad de sustancias. Sin embargo no fue hasta 1979 que se descubrieron en ellas los esteroides con actividad hormonal. Dentro de este grupo se encuentran los brasinoesteroides, que promueven la elongación y la división celular y se consideran la sexta clase de hormonas reguladoras del crecimiento. El primer brasinoesteroide (brasinólida) fue aislado a partir del polen de *Brassica napus* L. Dos años después se encontró una estructura similar en la bilis del insecto *Castanea crenata* (Belkhadir y Chory, 2006). En la actualidad se conocen más de 40 tipos de compuestos estructural y funcionalmente relacionados con los brasinoesteroides. Entre las funciones más relevantes se destacan la capacidad de aumentar el rendimiento y la calidad de las cosechas, incrementar la resistencia a

plaguicidas y disminuir el estrés hídrico, salino, térmico y nutritivo al estimular la síntesis de polipéptidos (Sakurai et al., 2000; Thummel y Chory, 2002).

En este ensayo se estudiaron los efectos tóxicos del análogo de brasinoesteroide DI-31 a partir de su administración por contacto a dosis única en abejas *Apis mellifera*. Se tuvo en cuenta la mortalidad y la aparición de signos tóxicos, que pudieran afectar el ecosistema después de su aplicación., considerando que la función primordial que realiza la abeja es la polinización de diversos cultivos asegurando la correcta fecundación de especies vegetales necesarias para nuestra existencia.

Objetivos

El objetivo fundamental de este estudio fue la evaluación de la toxicidad por contacto del análogo de brasinoesteroide DI-31 en abejas *Apis mellifera*

Materiales y métodos

Para conducir el ensayo se utilizaron abejas *Apis mellifera*, obreras nodrizas y adultas, de similar edad y alimentación, aparentemente sanas que no recibieron previamente ningún tratamiento con medicamentos o cualquier otra sustancia química, provenientes 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 OEDC Guidelines for Testing of Chemicals. Honeybee, Acute Contact Toxicity Test. Protocol 214 (1998).

Se realizó un ensayo límite de dosis única, donde a los insectos tratados se les aplicó 100 µg en la región dorsal del tórax y a los controles 50µL de agua destilada, con el objetivo de someter a estos organismos al mismo stress que a los tratados. Además un grupo control negativo que no fue tratado. Posteriormente se colocaron en cajas de madera con rejillas metálicas, fáciles de limpiar y esterilizar, bien ventiladas con espacio suficiente para el desarrollo normal de la especie. Cada caja se consideró un tratamiento en el que se colocaron 30 abejas. El ensayo se realizó utilizando 6 réplicas. Finalmente todos los tratamientos se colocaron en incubadora a temperatura de 32±2 °C y humedad relativa del 60-80 % y se mantuvieron en la oscuridad. Los procedimientos de manipulación, incluyendo tratamiento y observaciones se ejecutaron bajo la luz solar. Como alimento se proporcionó miel de panal de abeja ad libitum. Se determinó la mortalidad a las 4, 24 y 48 horas posteriores a la aplicación y se compararon los resultados con los valores del grupo control

El ensayo se consideró válido ya que la mortalidad en el grupo control no excedía el 10 %.

Adicionalmente se determinaron los efectos de la sustancia en ensayo sobre el comportamiento normal de la especie y la posible aparición de signos tóxicos (ataxia, diarrea, etc.).

Resultados

Al concluir el estudio los valores de mortalidad para el grupo control negativo correspondieron a un valor de 3.3 %, rango aceptable para ese tipo de ensayo (Tabla I). La mortalidad en los dos grupos de abejas tratadas con el DI-31 no excede el 10 %. (Tabla. I).

La causa de mortalidad en las tratadas y controles fue por quedar pegadas las abejas a la miel con que se alimentaban.

No se observaron signos tóxicos como letargo, ataxia, que evidenciaran una toxicidad en las sobrevivientes, y en el caso de las fallecidas no se observó la lengua fuera de la cavidad bucal, signo muy característico de toxicidad en esta especie (comunicación personal).

Los brasinoesteroides juegan un papel fundamental en la expansión, división celular, diferenciación y desarrollo reproductivo de los vegetales (Belkhadir y Chory, 2006) y han sido encontrados en todas las especies de plantas estudiadas hasta la fecha (Nemhauser y Chory, 2004). El DI-31 es un análogo funcional de brasinoesteroide que está destinado a manipular el crecimiento, la calidad de las cosechas, la resistencia al estrés biótico y abiótico en cultivos económicamente importantes para los humanos. En Cuba se ha estudiado ampliamente la utilización en cultivos terrestres y se dispone de una amplia información científica que respalda el empleo seguro (Luna et al., 2001; Terry et al., 2001; Davison et al., 2002; Cala et al., 2003; Díaz et al., 2003; Mariña et al., 2003; Robaina et al., 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 similares en los grupos tratados y controles, por lo que no se le atribuye este efecto a la administración del producto de ensayo, sino a la ocurrencia normal de este evento en el modelo experimental empleado.

Se conoce que cuando las abejas son sometidas a situaciones de estrés, la acumulación de materia no digerida en el recto provoca disentería que puede causar la muerte prematura en abejas maduras (Beiro et al, 2003)

A pesar de que los insectos fueron sometidos a los parámetros ambientales de temperatura, humedad y oscuridad estipulados por la guía de la OECD, sufrieron estrés al ser retirados de su medio natural, además de haber sido sometidos a tratamiento. También se debe tener en cuenta la muerte accidental al quedar pegados a la miel.

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

ABEJAS MUERTAS				
Grupos	4 Horas	24 Horas	48 Horas	% Mortalidad
I. Abejas tratadas (90)	3	0	1	4.4 %
II. Abejas tratadas (90)	2	1	1	4.4 %
III. Control (90)	3	1	1	5.5 %
IV. Control negativo (60)	2	0	0	3.3 %

Conclusiones

De acuerdo con los resultados, el análogo del Brasinoesteroide DI-31, a la dosis de 100 µg por abeja a una concentración de 2 mg/ mL, no produjo un valor significativo de mortalidad al ponerse en contacto con la abeja *Apis mellifera*. De igual modo, no se observaron signos tóxicos en esta especie ni alteraciones en su comportamiento.

Bibliografía

Belkhadir, Y., Chory, L. (2006). Brassinosteroid Signaling: A Paradigm for Steroid Hormone Signaling from the Cell Surface. *Science*. 314; 1410-11.

Cala, M., Blanco, A., Breff, F., Abreu, N., Ramos, O., Alvarado, K. (2003). Influencia de Biobras-16 en la producción de posturas de fresa *Fragaria Annanassa* D. Cuadernos de fitopatología: Revista técnica de fitopatología y entomología. ISSN 0213-4128. 76; 49-52.

Enriquez A. Pedro. Evaluación del riesgo ambiental a la liberación de plaguicidas. Laboratorio de Ecotoxicología, Servicio Agrícola y Ganadero. Chile.1999.

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.

Díaz, S., Morejón, R., Núñez, M. (2003). Influencia del BIOBRAS-16 en el rendimiento y otros caracteres en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Cultivos Tropicales*.24(2);33-38.

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

Jennifer L. Nemhauser and Joanne Chory. Bring it on: new insights into the mechanism of brassinosteroid action. *Journal of Experimental Botany*. U.S. A.Vol.55 No. 395. January 2004.

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

Luna, R., Ardisana, E., Cabrera, J., Zamarrón, I. (2001). Utilización del PECTIMORF y BIOBRAS -16 en la embriogénesis somática de la papa. Cultivos Tropicales. 2(1); 9-14.

Mariña, C., Aguilera R., Nieto, M., Pérez, B., Castillo, P., Licea, L., Alonso, E., Coll, F. (2003). Efecto de los análogos de brasinoesteroides Biobrás 6 y 16 sobre la productividad del arroz en condiciones de salinidad. Alimentaria. 346; 71-6.

Odette Beiro Castro, María Elena Echevarría Martínez, Roxana Fraga Álvarez, Anay Martínez Suárez, Yordanka Domínguez Linares, José Trujillo Hernández, Onelio Carballo Hondal. Toxicidad Aguda por Contacto del Bioenraiz en abejas (*Apis mellifera*). Centro Nacional de Toxicología. Ciudad de la Habana. Cuba. 2003. <http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm>.

OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Honeybee, Acute Contact Toxicity Test. Protocol 214 (1998).

Robaina, C., Izquierdo, I., Alonso, E., Coll, F., Coll, D., Zullo, M. (2003). Synthesis and biological activity of three new 5-hydroxy spirostane brassinosteroid analogues. J. Braz. Chem. Soc. 14; 66–9.

Sakurai, A., Yokota, G., Clause, S. (2000). Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormons. Academic Press. California. 345-445.

Terry, E., Núñez, M., Pino, M., Medina, M. (2001). Efectividad de la combinación biofertilizantes–análogo de brasinoesteroides en la nutrición del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Cultivos Tropicales. 22(2); 22-27.

Thummel, C., Chory, J. (2002). Steroid signaling in plants and insects—common themes, different pathways. Genes & Development. 16; 3113–29.