

Toxicidad aguda por contacto del Fitomas-E en Abejas *Apis mellifera*.

Yana González¹, Ramón Montano², Axel Mancebo¹, Consuelo González¹, Ana M. Bada¹, Bárbara González¹, Rodolfo Ocaña¹, Belkis Pérez¹, Nereida Mantilla¹, Jacqueline García¹, Damaris Matos¹, Miriam Lemus¹, María de los A. Escalona¹.

¹Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, CENPALAB, Cuba Calle 3era y Carretera de Tirabeque, Sur del Reparto La Unión, Bejucal, La Habana. yanagt@cenpalab.inf.cu

²Instituto Cubano de Investigaciones de Derivados de la Caña de Azúcar, ICIDCA, Cuba

Resumen

La sustancia de ensayo, FitoMas-E es una de las formulaciones obtenidas por el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA). Entre sus principales usos se encuentran: mejorador de la nutrición, floración y fructificación; madurador de la caña; potenciador de la acción herbicida; acelerador del compostaje; mejorador de los suelos y potenciador de la germinación. El objetivo del estudio fue evaluar la posible toxicidad que sobre las abejas pudiera tener la aplicación del Fitomas-E. El producto se aplicó a dosis única y tópicamente a razón de 100 µg/ abeja. Se utilizaron un total de 44 abejas de la especie *Apis mellifera*, distribuidas en dos grupos experimentales: un control (no tratado) y un grupo con el Fitomas-E. Las variables analizadas fueron la mortalidad de las abejas y la aparición de signos de toxicidad a las 4, 24 y 48 horas del ensayo. Respecto a las observaciones clínicas realizadas, los animales no presentaron signos tóxicos ni alteraciones en el comportamiento que puedan atribuirse a la administración del producto de ensayo. Según los resultados obtenidos para esta especie con alta sensibilidad en ensayos ecotoxicológicos. Se puede afirmar que la DL₅₀ del Fitomas-E se halla por encima de los 100 µg de Fitomas-E/abeja.

Palabras claves: Fitomas-E, abeja *Apis mellifera*, mortalidad, toxicidad.

Abstract

Topic acute toxicity of Fitomas-E in honey bees (Apis mellifera).

FitoMas-E is a formulation obtained by ICIDCA. Its main uses are nutrition improvement, flowering and fructification, maturation of the cane, herbicide action enhancer, soil ameliorative, and germination maximizer. The objective of this work was to evaluate the potential contact toxicity of Fitomas-E to honey bees. The product was applied in a single topic dose of 100 µg per bee. Forty four honey bees of the *Apis mellifera* species were randomly distributed in two experimental groups, a control and a treated group (Fitomas-E). Mortality of the bee and the appearance of toxicity signs at 4, 24 and 48 hours after the test were the variables analyzed. The study culminated with 13.13 % of survival in the Control Group and 27.27% in the Treated Group. Concerning clinical observations, the animals did not show toxic signs, no alterations in their behavior attributed to the administration of the test substance. According to the results obtained in this highly sensitive species for ecotoxicological tests, it's possible to conclude that Fitomas-E DL₅₀ is higher than 100 µg per bee.

Key words: Fitomas-E, *Apis mellifera* bee, mortality, toxicity.

Introducción

El empleo de fertilizantes en la agricultura fue un importante paso en el mejoramiento de las condiciones físico químicas de los suelos contribuyendo al aumento de la capacidad de retención del agua así como a la obtención de suelos con una mejor textura y estructura. La contaminación por fertilizantes se produce cuando éstos se utilizan en mayor cantidad de la que pueden absorber los cultivos, o cuando se eliminan por acción del agua o del viento de la superficie del suelo antes de que puedan ser absorbidos, por lo que es imprescindible estimar el efecto que sobre el hombre y el ecosistema pueda tener la introducción de los fertilizantes en el mismo¹.

Las abejas son animales importantes en los procesos de polinización, además de su inestimable aporte a la biodiversidad vegetal. Pueden identificarse varias rutas de exposición de diversas sustancias para este grupo ya bien sea por ingestión y/o contacto tanto en suelos como en plantas, y una combinación-exposición por contacto e inhalación resultantes de la deposición atmosférica². Es por ello su inestimable valor en la evaluación del impacto ambiental de diversos productos sobre el medio ambiente.

La sustancia de ensayo, FitoMas-E es una de las formulaciones obtenidas por el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA). La formulación es un polvo mojable. Es un extracto vegetal compuesto por aminoácidos, carbohidratos, péptidos de bajo peso molecular, bases nitrogenadas y minerales asociados a cadenas orgánicas. Entre sus principales usos se encuentran: mejorador de la nutrición, floración y fructificación; madurador de la caña; potenciador de la acción herbicida; acelerador del compostaje; mejorador de los suelos y potenciador de la germinación. Se ha empleado en numerosos cultivos (caña, tomate, soya, frijoles, plantas medicinales, rábano, cebolla, malanga, flor, frutales, perejil, boniato, cebollinos, berenjena, coco), obteniéndose de forma general resultados tentadores con el empleo de bajas dosis del producto de hasta 1 L/ha.

Naturaleza y propósito del ensayo

El FitoMas-E es un producto destinado para ser utilizado en la agricultura, lo cual implica el incremento de la concentración en el medio ambiente de sus principios activos. Por <http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm>

ello, es conveniente hacer la presente evaluación de toxicidad aguda del FitoMas-E en la abejas *Apis mellifera*. Este ensayo se realizó sobre la base del OPPTS 850.3020 "Honey Bee Acute Contact Toxicity" de las Guías para la Evaluación de Efectos Ecológicos de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos³, y del Protocolo 214: "Honey bees: Acute Contact Toxicity Test", de la Sección 2, Efectos en Sistemas Bióticos, de las Guías para la Evaluación de Productos Químicos de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE)⁴.

Objetivo

- Determinar los signos de toxicidad que pudiera provocar la aplicación del producto sobre la abeja *Apis mellifera*.

Desarrollo del ensayo

Se emplearon 44 abejas obtenidas del apiario No. 1 de la Universidad Agraria de la Habana, ubicado en la Unidad Docente de Nazareno, Cotorro. Estas fueron obtenidas directamente de la colmena, y se colocaron desde la tarde anterior al ensayo en las jaulas correspondientes.

Se realizó la distribución al azar por grupos y réplicas de las abejas seleccionadas. Las abejas se colocaron en jaulas de fondo plástico y tapa de cristal, recubiertos con malla metálica. Se estableció un único nivel de dosis (con 2 réplicas de 11 abejas cada una), además de un grupo Control (igualmente con 2 réplicas de 11 abejas cada una). Teniendo en cuenta la baja toxicidad reportada por el producto o similares comerciales en otros ensayos, se realizó una prueba límite (100 µg de FitoMas-E/abeja).

Grupo 1: Control (administrado con agua destilada)

Grupo 2: Tratado con FitoMas-E (100 µg de FitoMas-E/abeja).

Para los cálculos, se tomó como principio activo el producto total, refiriéndolo por lo tanto como concentración 100%. Esto representa una concentración de 100 g de p.a./100 mL de producto, lo cual equivale a 1000 mg de p.a./mL, es decir, 1000 µg de FitoMas-E /µL. Para lograr la dosis límite, se realizó una dilución 1/20 empleando agua destilada, obteniendo 50 µg de FitoMas-E /µL, llegando a la dosis de 100 µg de FitoMas-E /abeja al aplicar 2µL de la <http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm>

sustancia de ensayo. Las abejas fueron sedadas con CO₂ para la aplicación de la sustancia. La aplicación se efectuó en el tórax de cada abeja, utilizando una micropipeta automática de volumen variable, ajustada a 2µL. Luego de la aplicación, las abejas fueron colocadas en sus respectivas jaulas y se les proporcionó alimento.

El ensayo se realizó en la incubadora. Las abejas fueron mantenidas en la oscuridad, a una temperatura de 28.5 ± 0.97 °C. La humedad relativa fue de 58.9 ± 9.54 %. Los procedimientos de manejo se ejecutaron bajo la luz diurna. Se les proveyó de una solución acuosa de azúcar al 50% suministrada a voluntad, utilizando un alimentador adecuado.

Las abejas se observaron a las 4, 24 y 48 horas después de la administración de la sustancia para detectar mortalidad y respuestas toxicológicas. Los individuos muertos no se retiraron de las jaulas de ensayo hasta el fin del estudio. Los signos de intoxicación son las alteraciones aparentemente debidas a la sustancia de ensayo y pueden incluir una amplia variedad de signos como ataxia, letargo e hipersensibilidad.

A partir de las observaciones efectuadas, se determinó el porcentaje de mortalidad para ambos grupos (Control y Tratado). Para el análisis estadístico entre grupos se utilizó el programa estadístico SPSS 10.0.05⁵. Se determinó la distribución normal mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Para la comparación entre grupos se utilizó el test de t de Student para muestras independientes. Se estableció un nivel de significación de $p < 0.05$.

Al finalizar el ensayo, los animales sobrevivientes fueron sacrificados mediante una atmósfera de 20 dm³/min de CO₂ durante 15 minutos.

Resultados y Discusión

El ensayo culminó con un 13.63 % de mortalidad en los controles, estando por debajo del 20 % requerido para la validez del ensayo. Ello se debió a la muerte de 3 animales: 1 a las 24 horas y 2 en el período de 24 a 48 horas. En el grupo Tratado la mortalidad fue 27.27 %, un 13.64 % superior al grupo Control. Las 6 muertes correspondientes a este grupo se produjeron 2 a las 24 horas y 4 en el intervalo de 24 a 48 horas (Tabla 1). El resto de los animales no mostró signos de toxicidad.

La existencia de una mortalidad superior en grupo Tratado con respecto al Control, a pesar de no observarse diferencias estadísticas, pudiera sugerir algún tipo de toxicidad de la sustancia de ensayo, a la dosis ensayada. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que en el ensayo, por ser un ensayo límite, se empleó una dosis muy superior a lo que en realidad se emplea en el campo (1 L/Ha);

Al ser la mortalidad en el grupo Tratado menor del 50%, se puede afirmar que la DL_{50} del Fitomas-E se halla por encima de los 100 μ g de Extracto de Fitomas-E/abeja. Este nivel de dosis es el cuádruplo del establecido por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, la cual plantea que un producto puede ser considerado ecotóxico sólo si posee una DL_{50} inferior o igual a 25 μ g/abeja⁶.

Conclusiones

La sustancia de ensayo produjo signos tóxicos en el biomodelo experimental manifiestos en la mortalidad del 27.27 %, al ser la misma en el grupo Tratado menor del 50%. Se puede afirmar que la DL_{50} del Fitomas-E se halla por encima de los 100 μ g de Fitomas-E/abeja. El ensayo culminó con un 87.5 % de supervivencia, produciéndose la muerte de dos animales del grupo Tratado el día 7 del estudio y la muerte de ocho animales el día 14.

Tabla N°1: Grupos de tratamientos con sus respectivas concentraciones, dosis y volúmenes de aplicación.

Grupo experimental	Tratamiento	Dosis (ug/abeja)	Volumen Administrado (ul/abeja)
1	Control	0	0
2	Fitomas-E	100	2

Tabla N°2: Requisitos para la aceptación de los ensayos de toxicidad aguda por contacto en abejas.

Estudio válido	Estudio no válido	Estudio válido	Estudio no válido
Mortalidad del grupo control negativo $\leq 20\%$	Mortalidad del grupo control negativo $> 20\%$		
Estudio de toxicidad aguda por contacto del Fitomas-E 27.27 % mortalidad = 6 abejas muertas			
Mortalidad del grupo control negativo = 13.6 % (3 abejas muertas)			

Tabla N°3: Mortalidad en los diferentes tiempos de observación para cada grupo experimental, por réplicas.

Grupo	Réplica	No. animales	Tiempo de observación (horas)			Muertes (48 h)	% Mortalidad (48 h)
			4	24	48		
Control	1	11	11	10	10	3	13.6
	2	11	11	11	9		
FitoMas-E	1	11	11	10	9	6	27.27
	2	11	11	10	7		

Bibliografía

1. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Agricultura mundial hacia los años 2015/2030. Estudio de la FAO. Roma: FAO; 2002.
2. Instituto de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar. Expediente del FitoMas-E. La Habana: Registro Central de Fertilizante; 2007.
3. Environmental Protection Agency. Ecological Effects Test Guidelines 850.3020. Honey Bee Acute Contact Toxicity. /s.l./:. EPA; 2000.
4. .OCDE (1998) TG 214 "Honeybees: Acute Contact Toxicity Test". Section 2 – Effect on biotic systems. OCDE Guidelines for Testing of Chemicals.
5. SPSS Inc. Statistical Package Scientific System. SPSS 10.0.5 para Windows; 1999.
6. Demedio J, Verde M, González A (1984) Manual de enfermedades de las abejas, Parte I. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de la Habana.

Recibido: 04/05/10

Aceptado: 10/05/10