

Trabajo Original

Ecotoxicología

Estudio Ecotoxicológico del DI-31 en abejas (*Apis Mellifera*) administrado por vía oral.

Ángela Fraga Pérez¹, Yamilet Coll García², Alain Vega Cárdenas³, Alberto Morales Martínez³, Francisco Coll Manchado², Javier Pérez Quiñones².

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.

Ave. 23 # 21425 e/214 y 222. La Coronela. CP 13600. La Lisa. Ciudad de La Habana. Cuba.

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

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

Resumen

El DI-31 es un análogo de brasinoesteroides semisintético obtenido por la Facultad de Química de la Universidad de La Habana. Los brasinoesteroides son una familia de compuestos esteroidales naturales presentes en las plantas que aumentan el rendimiento de las cosechas y protegen a los cultivo del estrés biótico y abiótico (Krishna, 2003).

De estudios anteriores (Pérez 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, (Pérez et al, 2007). 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*, por lo que el objetivo de este estudio es la evaluación ecotoxicológica de este producto al administrarla por vía oral a esta especie.

La sustancia en ensayo se suministró en la miel que recibirían como alimento, a dosis única de 100 µg por abeja. Se utilizaron un total de 360 abejas de la especie *Apis mellifera*, divididas en tres grupos experimentales. Las variables analizadas fueron la aparición de signos tóxicos y la mortalidad a las 4, 24 y 48 horas después de administrada la sustancia. (OECD, 1998).

Las abejas tratadas no manifestaron signos de toxicidad atribuibles al producto en ensayo.

Estos resultados permiten concluir que el DI- 31 no produce efectos tóxicos por vía oral en *Apis mellifera*.

Palabras claves: DI -31, Brasinoesteroides, abeja, *Apis mellifera*, ecotoxicología.

Abstract

Ecotoxicological studies on the DI-31 in bees (*Apis mellifera*) orally administered

DI-31 is a brassinosteroid analogue obtained at the Chemistry Faculty of the Havana University. Brassinosteroids are a family of natural steroidal compounds from plants, which are able to improve yields and protect crops from abiotic and abiotic stresses (Krishna, 2003).

Lack of toxicity of DI-31 for mammals has been previously reported (Pérez et al 1996), as well as the sensitivity of arthropods (microcrustaceans and insects) to DI-31 (Pérez et al 2007). Primary ecotoxicological studies with systemic focus in aquatic organisms were performed in 2007 (Pérez et al, unpublished).

Since the contact safety of DI-31 for bees was recently demonstrated, the present study was aimed to the ecotoxicological evaluation by oral administration to the same species.

The substance studied was supplied in the honey at a dose of 100 µg per bee. Three hundred and sixty bees of the species *Apis mellifera*, divided into three experimental groups, were used. The appearance of signs of toxicity and the mortality at 4, 24 and 48 hours after administration were scored (OECD, 1998).

The bees treated did not present any sign of toxicity derived from the product assayed.

These results take to the conclusion that DI-31 do not produce toxic effects by oral way in *Apis mellifera*.

Key words: DI -31, Brassinosteroids, honey bees, *Apis mellifera*, ecotoxicologicals

Introducción

La actividad agropecuaria ha experimentado en las últimas décadas importantes procesos de transformación, lo cual ha significado un aumento de las áreas plantadas con 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. 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 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.

Las abejas son una especie muy representativa del medio que será bombardeada por plaguicidas, fertilizantes y fitohormonas. Este insecto por su modo de vida y alimentación, al succionar el néctar, el polen y el agua que se encuentra en las plantas, va a estar en contacto directo con estas sustancias 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 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) (Nemhauser y Chory, 2004; Mussig *et al.*, 2006).

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 por vía oral , 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.

En 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 el estudio de dosis límite de 100 µg/abeja, según lo establecido por las técnicas y metodologías de una guía de la Organización para la Cooperación y el desarrollo [OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Honeybee, Acute Oral Toxicity Test. Protocol 213 (1998)].

La sustancia en ensayo se preparó a una concentración de 2 mg/mL (2 000µg/1000 µL), previamente diluida en polivinil pirrolidona (PVP) y cloroformo, después de un proceso de secado se diluyó en agua destilada.

La preparación de la sustancia a ensayar se preparó con miel al 1%, así mismo para un grupo control se preparó el mismo volumen con agua destilada diluida en miel. Además un <http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm>

grupo control negativo al cual solo se le suministró el alimento (miel de panal). 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)

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 <http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm>

epibrasinolide en el sirope aumenta la duración de vida y la resistencia al compararlas con las alimentadas solo con sirope.

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.

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 H₂O Dest.(90)	0	0	1	1.1
III. Grupo Control negativo (60)	0	0	1	1.1

Bibliografía

1. 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.
2. Fernández, M.; Picó, Y.; Mañes, J. Análisis de plaguicidas organofosforados y carbamatos en abejas por cromatografía líquida-espectrometría de masas. Comunicación presentada en el XV Congreso Español de Toxicología. Valencia, 22-25 de abril de 2003.
3. Gema Pérez Davison. Estudio Ecotoxicológico del análogo de brasinoesteroide DI- 31 sobre organismos acuáticos. Tesis de Doctorado. CEIEB. IFAL. 2007.
4. Krishna, P. (2003). Brassinosteroid-Mediated Stress Responses. *J. Plant Growth Regul.* 22(4); 289-97.
5. 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 Pascchnaya #3.2001
6. Mussig, C., Lisso, J., Coll-García, D., Altmann, T. (2006). Molecular analysis of brassinosteroid action. *Plant Biol (Stuttg)*. 8(3); 291-6.
7. Nemhauser, J., Chory, J. (2004). BRing it on: new insights into the mechanism of brassinosteroid action. *J. Exp. Bot.* 55(395); 265-70.
8. Newman, M. (2001). *Fundamentals of Ecotoxicology*. 2nd Ed. Lewis Publishers. CRC Press, Inc., Boca Ratón, FL, pp. 1-250.
9. OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Honeybee, Acute Contact Toxicity Test. Protocol 213 (1998).
10. Relyea, R., Hoverman, J. (2006). Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems. *Ecology Letters*. 9; 1157-71.

Recibido: 02/05/10

Aceptado: 24/06/10