

LOS ENSAYOS ECOTOXICOLÓGICOS COMO UNA ALTERNATIVA PARA LA EVALUACIÓN DEL IMPACTO AMBIENTAL, EVALUACIÓN DE UNA MOLÉCULA DE INTERÉS

Synai Camacho Bordón¹, Edisleidy Aguila Jiménez¹, Remigio Cortés Rodríguez¹,
Antonio Pérez Donato¹, Héctor Serrano Pérez¹, Daniel Agramonte Peñalver²

1- Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central de Las Villas. Cuba.

synai@uclv.edu.cu

2- Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de Las Villas. Cuba.

Abstract: In the last years, the world has taken concious of the necessity of monitoring the impact of contaminants from social and productive activities of modern societies on ecosystems to solve this problem a series of test have been achieved and yet are tried to be improved which are directed to especific aspects of ecosystems . In our country different institution have joined efforts to give an answer related to the evaluation of compounds used in agriculture. This work is coordinated by Toxicological National Center of Cuba (CENATOX) and has assigned to each member of the national toxicological net the task of standardizing reliable test for a rapied and well aimed answer in this sense. As members of this net, the Center of Bioactive Chemicals Toxicological group and Plants Biotecnological Institution both belongin to the Central University of Las Villas, have the task standardizing test to measue toxicological breaking point on plants, birds, sworms, and bees, wich are a useful tool to evaluate the impact of possible contaminants on ecosystem. With this work we pretend to give a panorama with practical results obtained by us in this sense and the possibilities wich are opened in the central region of Cuba in the ecotoxicological field.

Keywords: ecotoxicology, ecosystems, plants, birds, sworms, and bees.

INTRODUCCIÓN

La Ecotoxicología es una de las ramas de la Toxicología que más auge ha alcanzado en los últimos años debido a que está íntimamente relacionada con la protección y recuperación del Medio Ambiente, lo que constituye uno de los problemas más serios que enfrentan los países desarrollados y en vía de desarrollo.

En el caso de Cuba, por considerarse un país eminentemente agrario, ha sido una política del estado en los últimos años el fomento y empleo de biofertilizantes y bioplaguicidas para apoyar el programa integral de desarrollo de la agricultura. Como parte integrante de este programa el Centro Nacional de Toxicología (CENATOX) tiene la función rectora de coordinar la actividad ecotoxicológica dentro de la red nacional de toxicología, para dar respuesta sobre los posibles efectos deletéreos que puedan

causar estos compuestos sobre el ecosistema. Este es el caso del IBP y del Grupo de Toxicología del CBQ que se encuentran estrechamente vinculados al desarrollo agropecuario de la región central del país y que cuentan con condiciones materiales y humanas para realizar estas evaluaciones tanto a productos agrícolas como a cualquier otro posible contaminante del medio, garantizando de esta forma una mejor salud del ecosistema.

Para dar respuesta a esta problemática, ambos centros se han dedicado al montaje y estandarización de ensayos ecotoxicológicos empleando como indicadores biológicos a abejas, plantas y lombrices teniendo en cuenta los requisitos establecidos internacionalmente por las principales agencias regulatorias de este tipo de ensayo.

Desarrollo.

Los ensayos que con más frecuencia se emplean en ecotoxicología son aquellos que miden un efecto adverso en suelo, aire y agua. Estos ensayos se realizan fundamentalmente de acuerdo a disposiciones oficiales de organismos internacionales como la CE, OECD y la US-EPA

En el caso que nos ocupa nuestros protocolos de ensayos dirigen sus puntos de evaluación a través de la siguiente batería de ensayos:

Ensayos en lombrices

Animales de ensayo: Lombrices de la especie *Eisenia fétida andrei*.

Variables a medir

- Ø Mortalidad.
- Ø Signos de toxicidad.
 - a) Movimientos
 - b) Aspecto
- c) Alteraciones del clitelo.
- d) Abultamientos y constricciones del cuerpo.
- e) Consistencia blanduzca.
- f) Pérdida de líquido celómico.

Determinaciones:

LC₅₀.

Tipos de ensayos

1- Ensayo de toxicidad aguda por contacto en papel de filtro.

2- Ensayo de toxicidad aguda en sustrato artificial.

Ensayos en plantas.

Especies de ensayo: Se emplean especies no blanco para la sustancia de ensayo. Generalmente se utilizan 3 especies, 1 monocotídelea y 2 dicotídeleas, representando 3 familias diferentes.

Determinaciones:

LC₅₀

Variables a medir

- Ø Mortalidad
- Ø Signos de fitotoxicidad
- a) clorosis
- b) rayas amarillas intervenales
- c) deformación de la raíz
- d) deformaciones foliares
- e) atrofia del crecimiento
- f) color purpura en tallo y/o hojas
- g) necrosis
- h) muerte

Tipos de ensayos

- 1. Ensayo de Germinación**
- 2. Ensayo de Vigor Vegetativo**

Ensayos en abejas.

Especie de ensayo: *Apis mellifera*, con edades comprendidas entre 1 y 7 días de nacidas.

Variables a medir:

- Ø Mortalidad.
- Ø Signos de intoxicación.
- a) Letargo
- b) Ataxia Locomotriz (knock-down)

Determinaciones: Los resultados son usados para calcular los valores de la CL₅₀ o la

DL₅₀

Infectividad y patogenicidad (en caso de plaguicidas microbiológicos).

Tipos de ensayos

- 1- Ensayo de Toxicidad aguda por contacto:**
- 2- Ensayo de alimentación.**
- 3- Ensayo de plaguicidas microbiológicos.**

RESULTADOS.

Las abejas constituyen uno de los indicadores biológicos más usados en los ensayos ecotoxicológicos y a su vez uno de los organismos más empleados en nuestras investigaciones, por lo que uno de nuestros principales resultados es la determinación de la toxicidad aguda por contacto en abejas *Apis mellifera* del UC-244, molécula

sintetizada en el CBQ. El estudio de la molécula UC-244, 2-(2-metil-2-nitrovinil)-furano, perteneciente a la familia química de los Vinilfuranos, se fundamenta en la actividad insecticida y acaricida que ha mostrado en diferentes estudios “in vitro” e “in vivo”. Su posible empleo como pesticida merita que se efectúen estos estudios ecotoxicológicos

Las tablas 1,2 y 3 recogidas en Anexos, muestran los resultados correspondientes al experimento, donde se determina la DL_{50} del UC-244 según el Método Estadístico de Litchfield y Wilcoxon, así como la mortalidad en los diferentes tiempos de observación.

Esta molécula se encuentra en los límites entre moderada y ligeramente tóxica, según la clasificación de la OMS, siendo el valor de la DL_{50} de 11.9922 $\mu\text{g}/\text{abeja}$ y sus límites comprendidos entre 8.6616 y 16.6041 $\mu\text{g}/\text{abeja}$. El experimento mostró un Chi^2 de $7.357047 \cdot 10^{-5}$ y un alto coeficiente de correlación (0.9999), aceptando de esta forma que existe correspondencia entre el efecto esperado y el efecto observado demostrado por el cálculo del chi^2 .

Como es lógico, al atribuirle la denominación de ligeramente toxico al UC-244 es necesario percatarse que su rango de limite inferior es 8.6612 $\mu\text{g}/\text{abeja}$, el que se corresponde con el rango de moderadamente tóxico.

La tabla N° 3 muestra la mortalidad provocada por el UC-244 en los intervalos de observación 4, 24, 48 y mayor de 48 h. La mortalidad se presenta en las primeras 48 h, no detectándose muertes posteriores a este período de observación. Existe una relación directa entre la magnitud de la dosis y el efecto *KNOC DOWN*, este efecto va desapareciendo a medida que decrece la dosis, no obstante pensamos que posee su acción principal por el denominado efecto por contacto, no descartándose otro mecanismo asociado a un efecto inespecífico.

ANEXOS

Tabla 1. Aproximación de la DL_{50} UC-244.

Dosis ($\mu\text{g}/\text{abeja}$)	Concentración (%)	Nº de Replicas	N	Total de muertas	Mortalidad (%)
25 D.límite	0.5	3	30	30	100
20	0.4	1	10	9	90
15	0.3	1	10	7	70
10	0.2	1	10	2	20
5	0.1	3	30	0	0
2.5	0.05	1	10	0	0
Control Solv.	Acetona	1	10	0	0
Control no trat.	-	1	10	0	0

Tabla 2. Determinación de la DL₅₀ del UC – 244 para abejas en estudios de toxicidad aguda por contacto.

Dosis (µg/ abeja)	N	Nº muertes	E.O %	Transformación Probit
25	25	25	100	-
16.72	25	15	60	4.64
11.18	25	12	48	4.95
7.48	25	9	36	5.25
5	25	0	0	-
Control no tratado	25	0	0	-
Control solvente	25	0	0	-
Control + Malation	25	25	100	-
	Total: 200			

Factor calculado: 1.495348781

Resultados del procesamiento por el Programa Toxic4 [88].

Valor de Chi²: 7.357047 –05

Valor de t calculado para el coeficiente de regresión: 3346.297

Coefficiente de correlación: 487.2478

DL16: 3.2248µg/ abeja

DL50: 11.9922 µg/ abeja.

DL 84: 44.5950µg/ abeja.

El valor de la DL₅₀ está entre: 8.6612 y 16.6041

Valor de la S de la recta: 3.72 (1.60 – 8.64)

Valor del Factor DL₅₀: 2.32

Tabla 3. Mortalidad en los diferentes períodos de observación. (4h, 24h, 48h).

Dosis (µg/ abeja)	Tiempo (h)				Total
	4	24	48	> 48	
25	25	-	-	-	25
16.7189	10	5	-	-	15
11.1806	5	6	-	-	12
7.4767	-	6	3	-	9

5	-	-	-	-	0
Total	40	17	3	-	61
%	65.57	27.86	4.91		100

CONCLUSIONES

- 1- En las condiciones actuales, en la Universidad Central de Las Villas, Cuba, existen posibilidades reales de montar una batería estándar de estudios ecotoxicológicos.
- 2- En el caso concreto de un producto evaluado (molécula UC-244) en abejas *Apis mellífera*, el mismo se clasificó en los límites entre moderada y ligeramente tóxico.

REFERENCIAS

- Repetto, M. & col. Toxicología Avanzada. Fundamentos de Ecotoxicología. ISBN 84-7978-201-3 Madrid, Ed. Díaz de Santos. España, 1995: pp. 621.
- OECD. OECD Guidelines for testing of chemicals, Method 207, Earthworm acute toxicity test, Paris.1984.
- ISO. 11268. Soil quality. Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*). Part I. Determination of acute toxicity using artificial soil. Substrate. 1993.
- EPPO. Decision making scheme for the environmental risk assessment of plant protection products. EPPO Bulletin 24 Chapters 7, 9 and 11. 1997
- US-EPA. Ecological Effect Test Guidelines. Honey Bee Acute Toxicity. OPPTS 850.3020. 1996.
- US-EPA. Microbial Pesticides Test Guidelines. Honey bee Testing, Tier I. OPPTS 850.4380. February, 1996.
- <http://www.casafe.org/manual/protper2.html>
- Serrano, H. Estudio del efecto del UC-244 sobre la Varroasis en abejas *Apis mellifera*. Laboratorio de Parasitología. CBQ. UCLV, Cuba. 1999.
- Cabezuelo, P.; Fernández, de Córdoba, F.; Romero, J. y Prats Moyano, F. Malatión y otros fosforados. Vida Apícola, nº 77, 1996: pp. 45-48.
- <http://irptc.unep.ch/prtr/>
- Philippe, J. M. Guía del apicultor. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 1999.
- <http://www.acampo.com/mailto:info@a-campo.com>
- Brown, A. W. A.; Pal, R. Resistencia de los artrópodos a los insecticidas. OMS, Ginebra. 1973.