

Congreso ATA, Puerto Madryn, Junio de 2009

CONTAMINACIÓN DE AMBIENTES ACUÁTICOS Y SU POSIBLE INCIDENCIA EN LA SALUD HUMANA

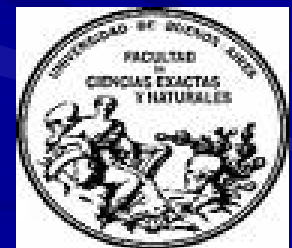
Ríos de Molina M. C.



Laboratorio de enzimología, estrés y
metabolismo (LEEM)

Dpto. Química Biológica, FCEN-UBA
CONICET Argentina

mcrios@qb.fcen.uba.ar



**ESTUDIOS DE TOXICIDAD DE UNA FORMULACIÓN DE
GLIFOSATO SOBRE *Chlorella kessleri* (Chlorophyta).**

Autora: Delfina M. Romero - Directora: Ángela Juárez - Codirectora: M C Ríos de Molina

- La entrada de nutrientes o xenobióticos a cuerpos de agua puede ocasionar estimulación o inhibición del crecimiento de organismos → **CAMBIOS EN EL ECOSISTEMA**

El fitoplancton es uno de los primeros niveles tróficos en responder



Las microalgas

- Son uno de los principales componentes del fitoplancton
- Son organismos sensibles a los tóxicos
- Fácilmente manejables en cultivos de laboratorio
- Tienen un tiempo generacional corto
- Muestran una rápida respuesta fisiológica
- Se utilizan para bioensayos

GLIFOSATO

(N- fosfometil glicina)

- Herbicida de amplio espectro
- No selectivo
- Utilizado en ambientes agrícolas, forestales y parques
- Aplicación: eliminar malezas, matorrales, pastos, hierbas, etc.

GLIFOSATO

**Mecanismo
Primario**



**Inhibe actividad 5-
enolpiruvil shikimato-
3-fosfato sintetasa**



**↓ síntesis aminoácidos
aromáticos (Fen, Tir, Trp)**

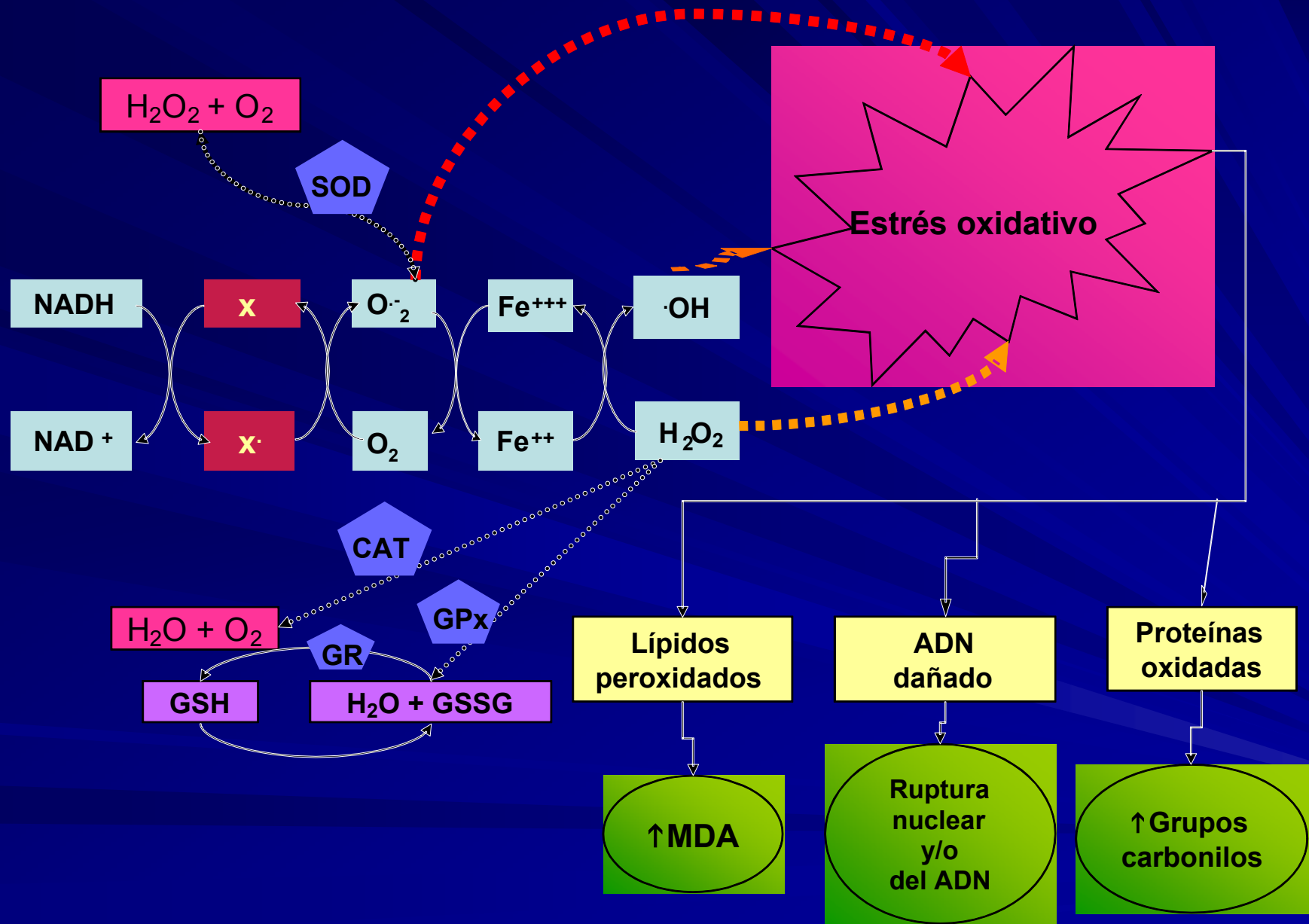
**Mecanismo
Secundario**



**Inhibe actividad
 δ - ALA sintetasa**



**↓ síntesis compuestos
porfirínicos (Clf, CYT,
peroxidasas)**

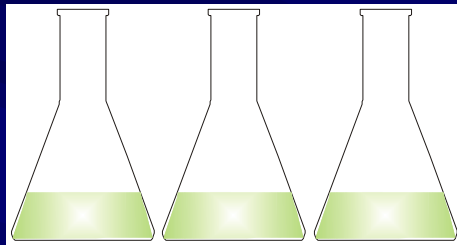


Bioensayos de toxicidad

- Cultivos axénicos de la cepa BAFC CA10 de *Chlorella kessleri* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), crecidos en BBM.
- Glifosato 48 % p/v (sal isopropilamina de N- fosfometil glicina, ATANOR®).
- Coadyuvante (alquil aril poliglicol éter 5 % v/v, IMPACTO®).

Bioensayos de Toxicidad

Glifosato: 0, 40, 50, 60 y 70 mg/l



3 réplicas



**Luz continua,
24± 1°C. 96 hs.**

Análisis estadístico

- ✓ ANOVA y test a posteriori de Dunnett.
- ✓ Regresión lineal.
- ✓ (p<0.05).

Crecimiento celular

CI₅₀

Contenido de pigmentos

**Contenido de proteínas
totales**

Daño oxidativo

- ✓ **Contenido de MDA**
- ✓ **Proteínas Oxidadas**

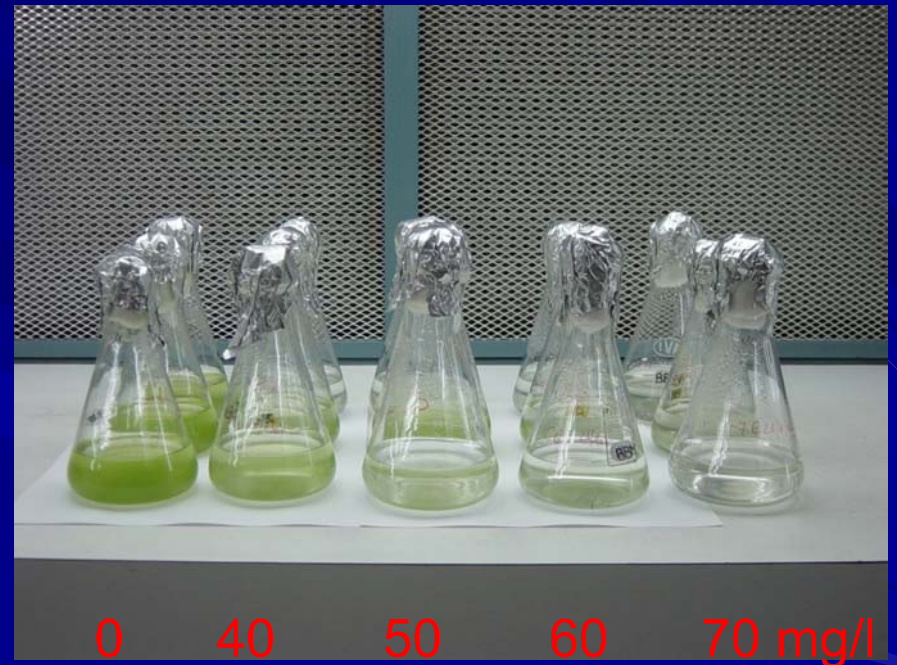
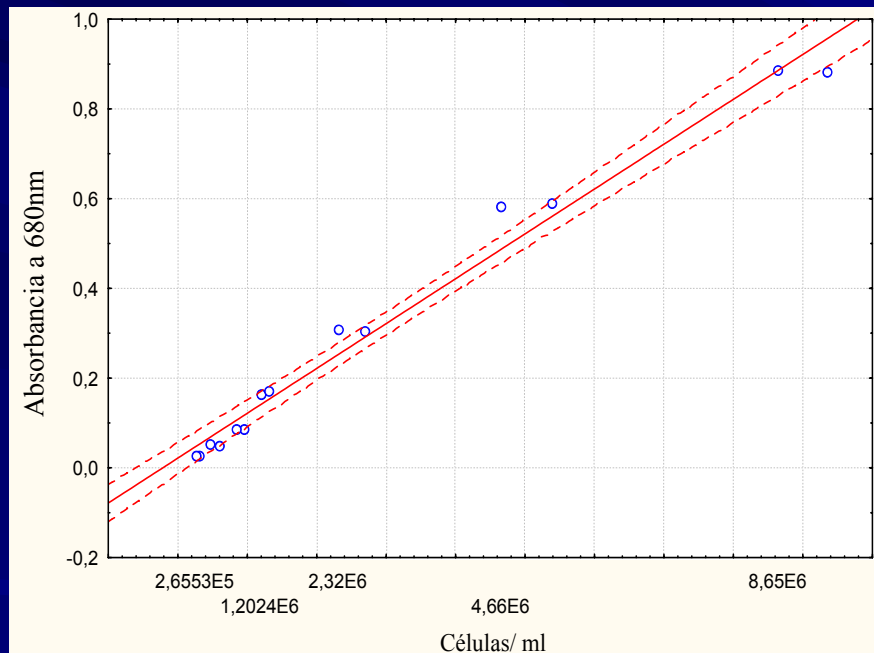
Antioxidantes

- ✓ **GSH, SOD, CAT**

**Observaciones al
microscopio óptico**

Bioensayos de Toxicidad

Crecimiento y Concentración Inhibitoria 50 (CI₅₀)



$$r^2 = 0,9815; r = 0,9907,$$
$$p = 1. 10^{-7};$$
$$y = 0,022 + 9,99.10^{-8} * x$$

La formulación de glifosato ATANOR® y el coadyuvante IMPACTO®, aplicados en conjunto, ejercen un efecto nocivo sobre los cultivos de *C. kessleri* a nivel de crecimiento

Estudios de la morfología celular

- 40 mg/l: vacuolización (⇨)
- 60 mg/l: ↑ tamaño celular
↑ número y tamaño de vacuolas
- 70 mg/l: desorganización de cloroplastos y otras organelas (⇨)
 - Daño oxidativo



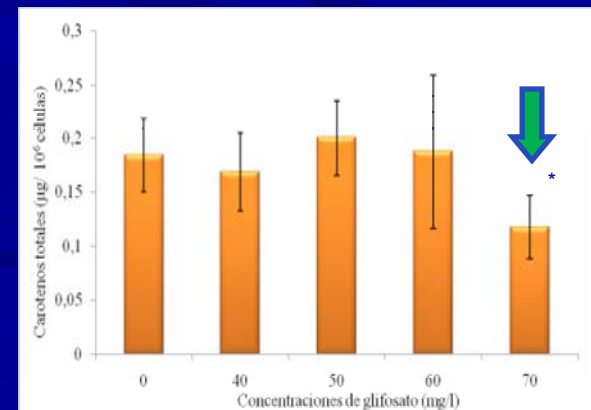
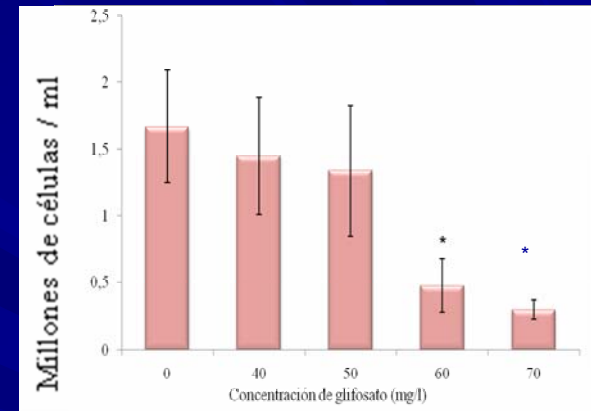
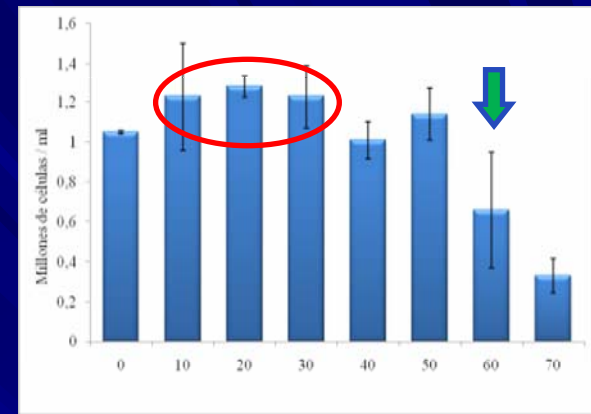
Se observó una tendencia estimuladora del crecimiento celular a bajas concentraciones de glifosato (10, 20 y 30 mg/ l)

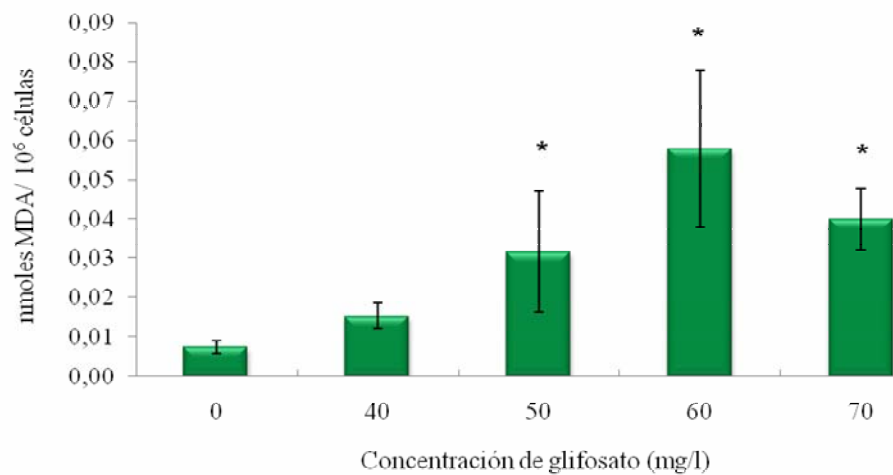
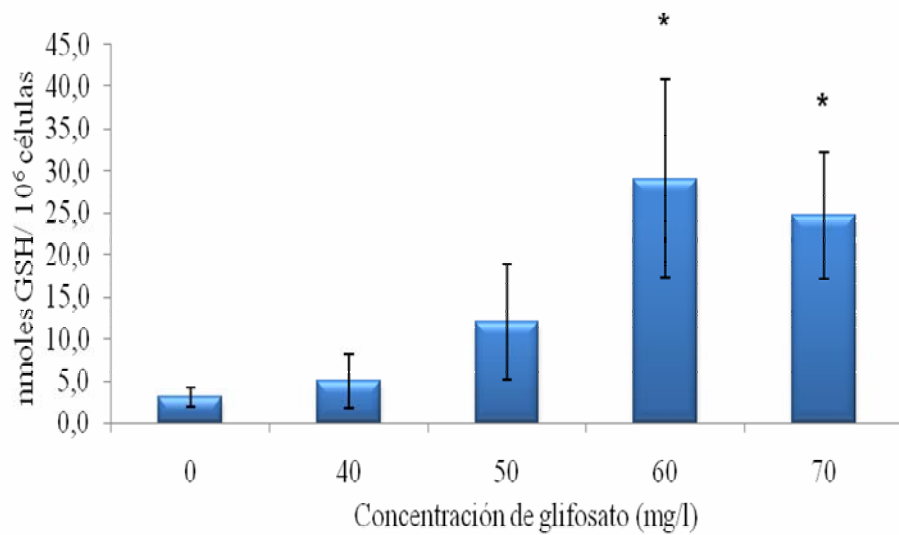
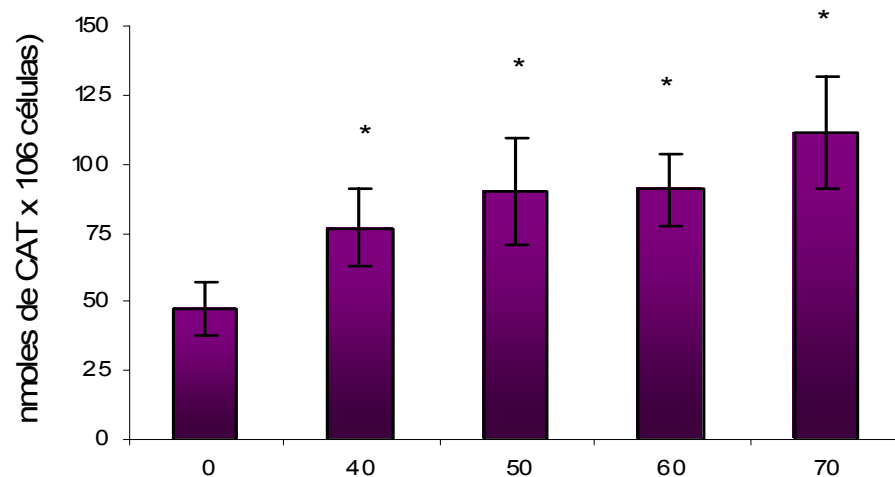
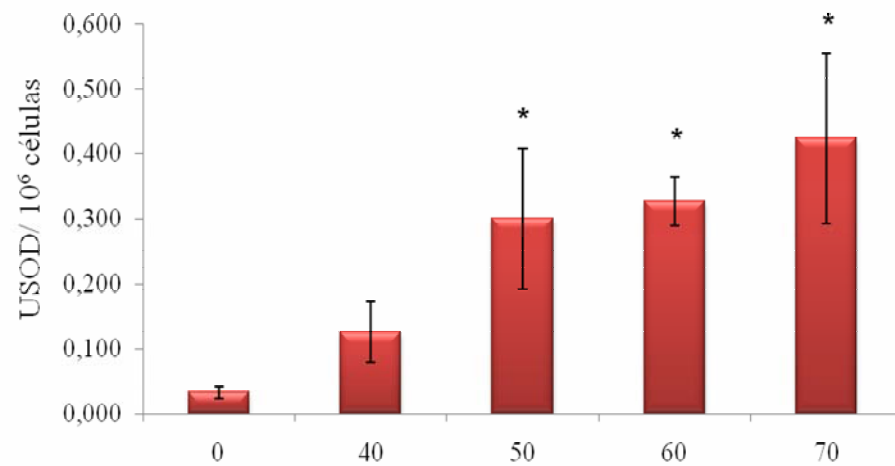
Metabolización?



CI50 = 55,62 (51,45 – 60,30) mg/l (probit)
55,62 (53, 08- 57, 56) mg/l (Interpol. lineal)

- **Carotenos totales: No se observó aumento como respuesta antioxidante**
Disminución informada para otros herbicidas (inhibición de síntesis)



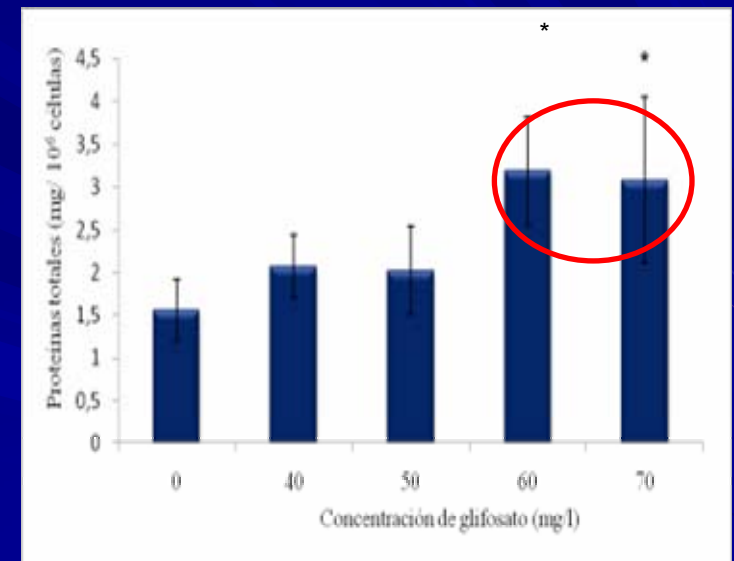
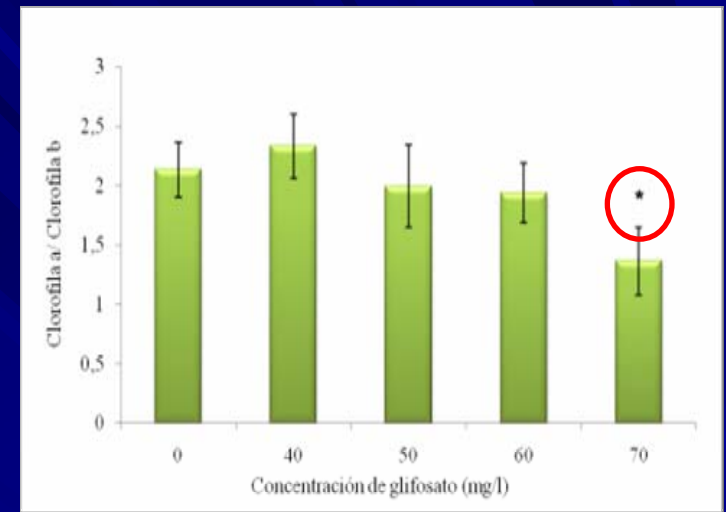


➤ **Cla/Clb disminuye a 70 mg/l.**

➔ **alteraciones en el complejo antena**

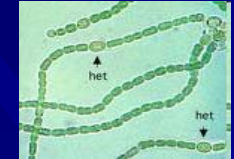
**Proteínas totales aumentadas →
Glifosato no estaría actuando por su
vía principal de acción (disminución
síntesis proteica)**

El contenido de proteínas oxidadas en función de la concentración de glifosato aumentó desde un 250 a 670 % a partir de 50 mg/l (datos no mostr.)



En *C. kessleri* la formulación de glifosato y coadyuvante aplicada actuaría mediante un mecanismo distinto al de las plantas superiores y estimularía la inducción de estrés oxidativo.

PERIFITON



ESTUDIOS DE TOXICIDAD DE UNA FORMULACIÓN DE GLIFOSATO SOBRE PERIFITON

Mercedes Iummato, M C Ríos de Molina, **María Solange Vera**, **Eugenia di Fiori**,
Haydeé Pizarro, **Ángela Juárez**

Antecedentes del grupo de Haydée Pizarro en Perifiton

Aplicaron Roundup 8 mg/l sobre Mesocosmos

Con sustratos sin colonizar

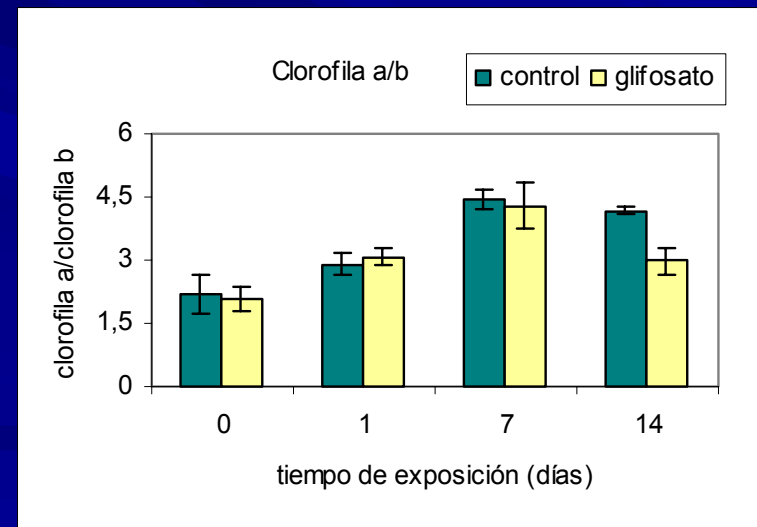
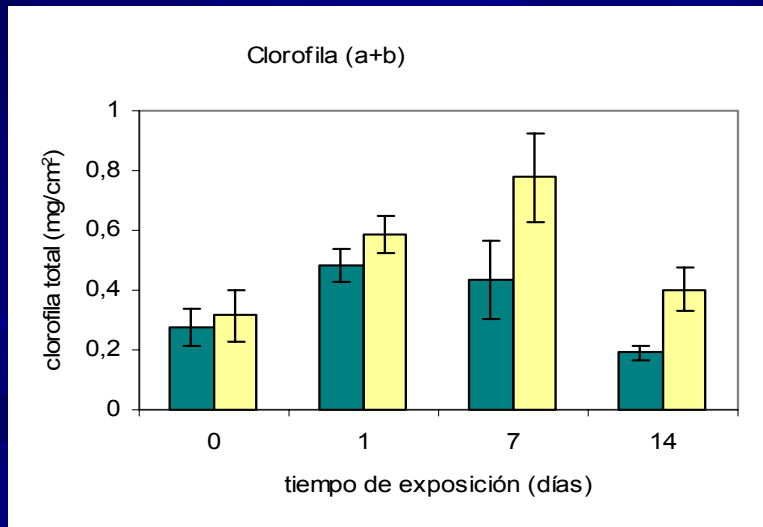
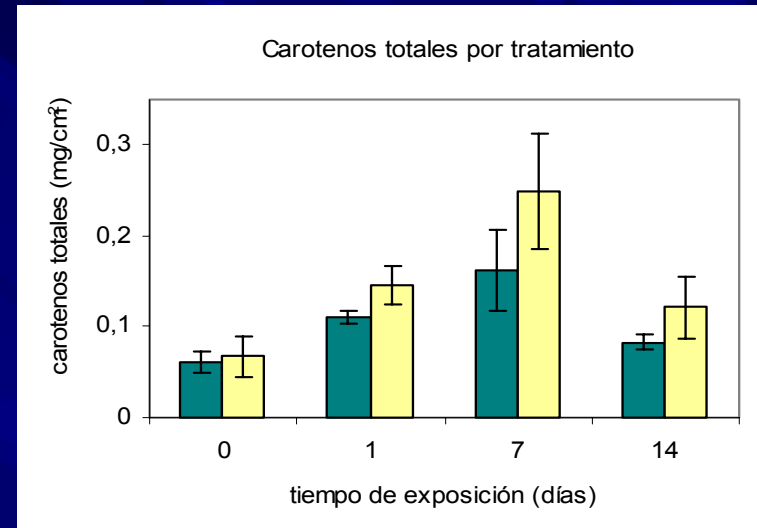
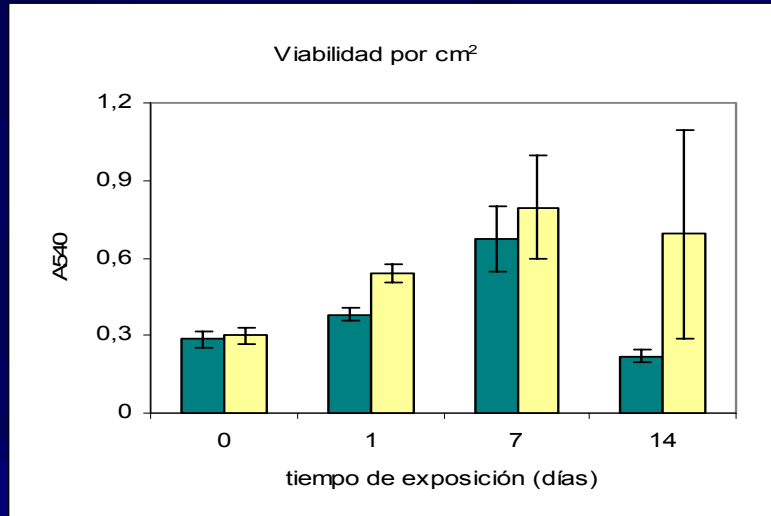
Exposición por 4 semanas (realizando análisis semanales)



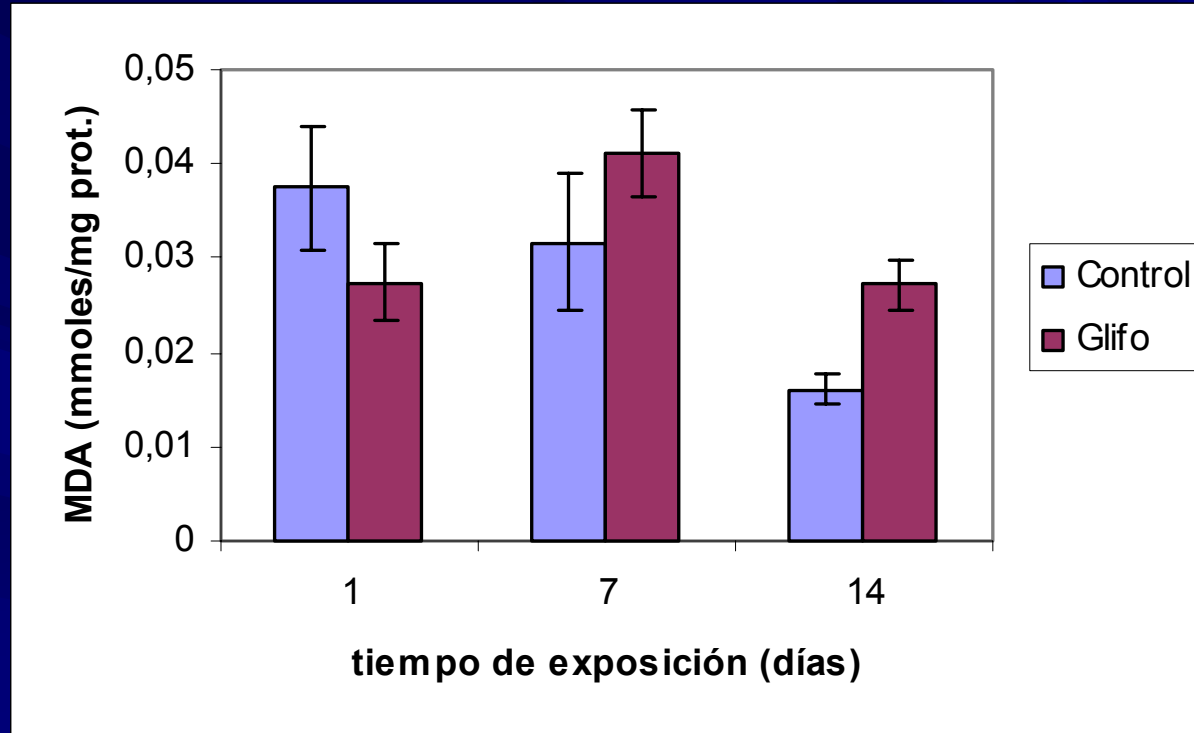
- ✓ Disminución de la biomasa
- ✓ ↑ % Diatomeas muertas
- ✓ Cambios en la composición de grupos
- ✓ Cambios en la diversidad específica

OBJETIVOS ACTUALES

- **Analizar el efecto de la misma concentración de glifosato en una comunidad periférica ya establecida**
- **Agregar a los estudios limnológicos, estudios de viabilidad y de parámetros de estrés oxidativo en la comunidad**



Peroxidación lipídica



La actividad SOD no presentó diferencias significativas, durante la primera semana de exposición (Control: 100 ± 20 Unidades SOD/mg de proteínas)

Efecto sobre la biodiversidad algal

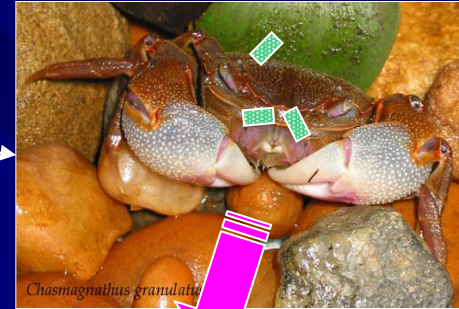
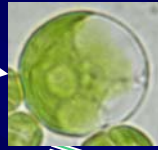
■ Teniendo en cuenta que:

- resultados previos mostraron un efecto negativo sobre el crecimiento de *C. kessleri* , asociado al estrés oxidativo inducido por el glifosato
- las muestras de perifiton mostraron, en función del tiempo de exposición, un notable aumento de la biomasa algal, con predominio de algas filamentosas (no detectables en los controles)

El glifosato alteraría la composición de la comunidad algal, disminuyendo la población de las especies perifíticas sensibles ya establecidas y aumentando la proliferación de especies más tolerantes.

Estos efectos, al alterar la abundancia y la diversidad de las especies algales que componen el perifiton, podrían desestabilizar la estructura total de la comunidad

Cadenas tróficas



C. kessleri
c/HCB

N. granulata

Bioacumulación de HCB
↓ crecimiento
Pérdida de función
↓ carotenos
↑ Defensas antioxidantes

Bioacumulación de HCB
Pérdida de función (UroD, SOD)
↑ Daño a lípidos: ↑ MDA
↓ Defensas antioxidantes
Alteraciones morfológicas e histológicas

C. Kessleri c/glifosato

Se realizó la experiencia de transferencia y se determinará el contenido de glifosato y AMPA en hepatopáncreas y en el alga, en el INQUIMAE. La concentración de glifosato utilizada fue de 50 mg/l (a partir de esa concentración se produce daño en la célula algal)
Proteínas totales, MDA, SOD y GSH, dieron constantes hasta la 2ª sem.
Los ensayos de mayor tiempo de tratamiento están en proceso

Posible incidencia en la salud humana

- Esperamos comprobar que el glifosato se transfiere a lo largo de esta cadena trófica, llegando a provocar estrés oxidativo en sendos eslabones y magnificando sus efectos en el eslabón superior
- De ser así, esto sería una señal de alarma, a tener en cuenta al regular la emisión de este agroquímico al medio, ya que sería otra vía de entrada al hombre, en concentraciones aun superiores a las aplicadas