

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/263966160>

Efectos tóxicos del Roundup® (glifosato) en tilapia roja (*Oreochromis sp.*), yamú (*Brycon amazonicus*) y bocachico (*Prochilodus magdalenae*)

Article in *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia* · June 2007

CITATIONS

5

READS

314

4 authors, including:



Jaime Fernando González
National University of Colombia

34 PUBLICATIONS 81 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Diana Ochoa
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

77 PUBLICATIONS 734 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Nutritional Status among indigenous and mestiza women in the Central Andes of Ecuador [View project](#)



Efectos del glifosato en el pez electrico *Apteronotus albifrons* [View project](#)

Efectos tóxicos del Roundup® (glifosato) en tilapia roja (*Oreochromis sp.*), yamú (*Brycon amazonicus*) y bocachico (*Prochilodus magdalenae*)

González, JF¹, Ochoa, DM, Figueredo, D, González, CA

Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia – Universidad Nacional de Colombia Vol. 54 (2): 113-119, 2007.

Grupo de Investigación en Toxicología Acuática y Ambiental
FMVZ - Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá

Palabras clave: glifosato, toxicosis, tilapia, bocachico, yamú

Resumen. Con el fin de investigar los efectos tóxicos del glifosato, 3 diferentes experimentos fueron llevados a cabo utilizando juveniles del mismo número de especies piscícolas. En el primer experimento, ejemplares de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) fueron expuestos a diferentes concentraciones de Roundup® (RP) (0, 1, 5, 15, 45 y 90 ppm). Los peces en 45 y 90 ppm murieron en tiempo menor a 3 horas y 25 minutos presentando marcada sintomatología nerviosa (nado errático, hiperexcitabilidad). Las actividades aspartato aminotransferasa (AST) y colinesterasa plasmáticas mostraron un incremento significativo en estos dos tratamientos. La peroxidación lipídica cerebral se incrementó por la exposición al herbicida con excepción del tratamiento de 45 ppm. Para el 2º experimento juveniles de bocachico (*Prochilodus magdalenae*) fueron expuestos a 10 y 30 ppm de RP. Los peces en 10 ppm murieron mostrando síntomas nerviosos mientras los expuestos a 30 ppm manifestaron problemas de índole respiratorio. En los 2 tratamientos, los peces fueron sacrificados antes de las 3 h y 40 m post-exposición. La actividad colinesterasa cerebral se mostró significativamente inhibida en 10 ppm y marcadamente elevada en 30 ppm. En el 3º experimento, ejemplares de yamú fueron expuestos a 10 y 30 ppm del herbicida y a la interacción con una mezcla de RP y clorpirifos. En todos los tratamientos, con excepción de 30 ppm RP, se dio una disminución significativa de la actividad colinesterasa. En la concentración más alta el efecto tóxico fue de tipo respiratorio. Este estudio mostró que el RP causó efectos sobre el sistema nervioso y respiratorio. La actividad colinesterasa cerebral y plasmática tuvo variaciones importantes en los peces por la exposición al herbicida y las respuestas variaron según las concentraciones y la especie estudiada.

Introducción. Los riesgos de intoxicación con glifosato en especies piscícolas en Colombia son altos teniendo en cuenta el uso masivo de este herbicida para la erradicación de coca, amapola y malezas de otros cultivos. El incremento en las fumigaciones con RP ha sido significativo especialmente desde la implementación del *Plan Colombia*, un acuerdo político entre los gobiernos de Colombia y los Estados Unidos. Se calcula que un total de 983.000 hectáreas han sido asperjadas en Colombia entre los años 1997 y 2006. A pesar de las

¹ jfgonzalezma@unal.edu.co

denuncias sobre los efectos en salud de humanos, animales y daños sobre coberturas vegetales en Colombia y Ecuador, el gobierno ha mantenido una política de erradicación a través de las aspersiones. Si bien recientemente (julio, 2007), el gobierno colombiano ha anunciado un incremento en el plan de erradicación manual, las preocupaciones sobre los riesgos de la exposición al herbicida siguen vigentes.

El propósito de este estudio fue realizar experimentación con 3 especies de interés en la piscicultura colombiana para determinar cambios en variables bioquímicas como posible respuesta a la exposición aguda a concentraciones letales y subletales de glifosato. Para los experimentos se utilizó el producto comercial Roundup[®] (sal isopropilamina de N-fosfonometil glicina: 480 g / L + surfactantes no especificados) de venta libre en el mercado nacional.

Materiales y Métodos. Los ejemplares de las 3 especies fueron aclimatados por un período de 3 semanas a las condiciones del Laboratorio de Toxicología Acuática (Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia). Muestras de sangre heparinizada fueron tomadas antes del sacrificio para análisis de aspartato aminotransferasa (AST) y colinesterasa. Durante la necropsia, muestras de cerebro de las tilapias fueron homogenizadas y centrifugadas (15,000 rpm x 30´) para obtener las fracciones S-9 (Pandey et al., 2001) y realizar el análisis de colinesterasa cerebral. Las fracciones fueron almacenadas a -80°C hasta el momento de los ensayos bioquímicos. Para los ensayos bioquímicos se siguieron las metodologías de Ellman y col. (1961) (colinesterasas plasmática y cerebral), Fatima y col. (2000) (peroxidación lipídica) y Murray (1984) (AST plasmática).

Resultados. Experimento 1. Juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) (n=36) (25.0 ± 1.3 g; 11.6 ± 0.2 cm) fueron distribuidos en 6 tratamientos (0, 1, 5, 15, 45 y 90 ppm RP x 96 horas). Los peces de los tratamientos 0 a 15 ppm sobrevivieron las 96 h sin presentar sintomatología alguna. De otra parte, los peces en 45 y 90 ppm mostraron síntomas nerviosos extremos pocos minutos después del inicio del experimento. Los peces en los 2 tratamientos tuvieron patrones de nado erráticos (movimientos frenéticos en línea recta intentando alcanzar la parte superior de los acuarios desde el fondo y luego cayendo al fondo pesadamente). Los peces en 90 ppm fueron sacrificados 1 h 45´ después del comienzo de la exposición al tóxico y los de 45 ppm a las 3 h y 25´. La actividad colinesterasa plasmática de los ejemplares (acetil- AChE y butirilcolinesterasa BChE) se muestran en la Tabla 1. Los valores indican un incremento significativo en 45 y 90 ppm (p < 0.05) en comparación a los otros. La Fig.1 muestra la actividad AST. La actividad fue significativamente más alta en 45 y 90 ppm con valores que estuvieron entre 3 y 7 veces por encima de los encontrados en controles y las concentraciones más bajas del herbicida. Por su parte, la peroxidación lipídica cerebral (Unidades TBARS) mostró los siguientes valores (media ± SE): Control = 6.3 ± 1.1, 1ppm = 7.2 ± 0.7, 5 ppm = 9.2 ± 1.1, 15 ppm = 8.9 ± 0.8, 45 ppm = 3.3 ± 1.0 y 90 ppm = 11.2 ± 1.6. Con la excepción 45 ppm, la tendencia fue un incremento en la peroxidación lipídica cerebral (Fig. 2).

Tabla 1. Actividad colinesterasa plasmática expresada en nanomoles de sustrato hidrolizado / ml plasma / minuto (n = 6 / tratamiento) (media ± S.E.). Letras diferentes = diferencias significativas (ANOVA, p< 0.05) entre tratamientos para cada actividad.

Actividad colinesterasa	0 ppm	1 ppm	5 ppm	15 ppm	45 ppm	90 ppm
Acetilcolinesterasa (AChE)	97 ± 25.5 a	92 ± 6.3 a	83 ± 17.3 a	96 ± 8.5 a	181 ± 30 b	175 ± 21 b
Butirilcolinesterasa (BChE)	60 ± 20.2 a	62 ± 5.6 a	58 ± 16.4 a	44 ± 8.6 a	179 ± 44 b	149 ± 20 b

Fig.1. Actividad AST expresada en unidades / L (media ± SE) en tilapia roja expuesta a RP (0-90 ppm). Letras diferentes = diferencias significativas (ANOVA, p< 0.05) entre tratamientos

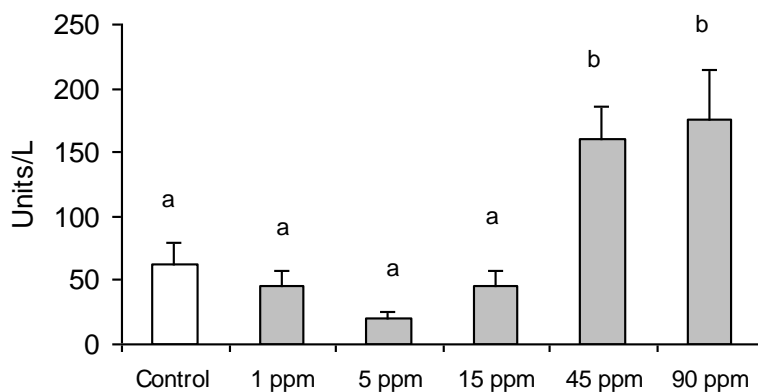
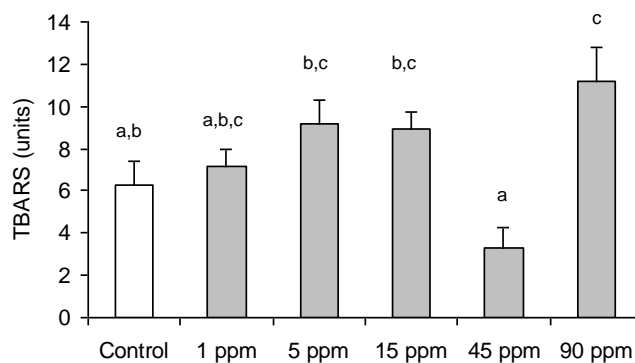


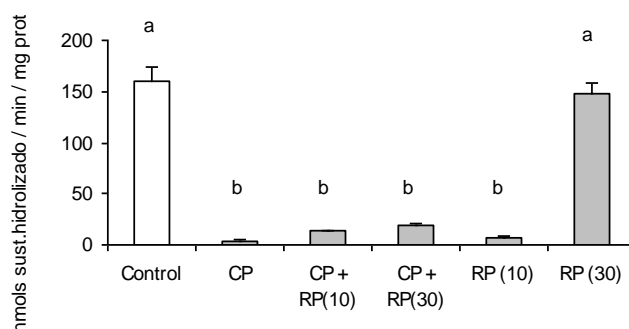
Fig 2. Peroxidación lipídica cerebral en tilapia roja expuesta a Round Up® (0-90 ppm). Letras diferentes = diferencias significativas (ANOVA, p< 0.05) entre tratamientos



Experimento 2. Ejemplares de bocachico (*P. magdalenae*) (n=12) (33 ± 2.6 g; 14.3 ± 0.43 cm) expuestos a glifosato (Roundup®: 0, 10 y 30 ppm / 4 peces por tratamiento) fueron evaluados con respecto a su conducta, signología, mortalidad e inhibición de actividad colinesterasa cerebral. Los peces de esta especie mostraron una gran susceptibilidad al glifosato. En ambas concentraciones, los ejemplares murieron en un período inferior a las 3 h y 40'. Mientras los peces en 10 ppm tuvieron signos de tipo nervioso (nado errático e hiperexcitabilidad) en 30 ppm fueron de naturaleza respiratoria (disminución de frecuencia y permanencia hacia la superficie de los acuarios). La actividad colinesterasa cerebral mostró un descenso significativo en los expuestos a 10 ppm (1.75 ± 0.6) y un aumento marcado en 30 ppm (113 ± 8) en comparación a los valores en el grupo control (47 ± 4.6). Estas actividades están expresadas en nanomoles de sustrato hidrolizado / mg de proteína / minuto y presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (ANOVA, $p < 0.05$).

Experimento 3. Juveniles de yamú (*B. amazonicus*) (n=36, 6.34 g y 8.0 cm) fueron distribuidos en 6 tratamientos: T1 = control, T2 = RP 10 ppm, T3 = RP 30 ppm, T4 = clorpirifos (CP) 20 ppb, T5 = RP 10 ppm + CP 20 ppb y T6 = RP 30 ppm + CP 20 ppb. Dado que en los experimentos anteriores se describió efecto del RP sobre la actividad colinesterasa, se propuso investigar que efectos habría cuando el herbicida se mezclaba con un insecticida organofosforado (clorpirifos), inhibidor típico de la actividad colinesterasa. Los peces en RP 10 ppm mostraron un efecto sobreagudo de tipo nervioso con síntomas de hiperexcitabilidad en los primeros 50 minutos de la exposición. Los peces en 30 ppm tuvieron una respuesta nerviosa leve inicial (trémores) con manifestaciones respiratorias hacia las 7 horas (boca abierta constantemente y permanencia en parte superior del acuario). En los expuestos a CP 20 ppb, el efecto agudo se dio hacia las 2 h y 30' según lo esperado por exposición a un organofosforado. Los peces expuestos a la combinación de RP y CP murieron en las primeras 10 h. La evaluación de la actividad colinesterasa cerebral mostró que, con excepción de RP 30 ppm, en todos los tratamientos donde los peces estuvieron expuestos a los dos pesticidas individualmente ó en combinación, se dio una marcada inhibición de la misma. La actividad en RP 30 ppm fue prácticamente igual a la de los controles (Fig. 3).

Fig.3. Actividad colinesterasa cerebral en yamú (*B. amazonicus*) expuestos a RP y CP (media \pm S.E). Letras diferentes = diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).



Discusión. Los resultados encontrados en los 3 experimentos mostraron que los sistemas nervioso y respiratorio estuvieron implicados como consecuencia de la exposición a RP. En todas las especies se presentó una respuesta de tipo nervioso. Para la tilapia roja, la respuesta se dio en las concentraciones más altas (45 y 90 ppm) mientras que en los yamú y los bocachicos, la respuesta fue evidente a una concentración de 10 ppm. Estas respuestas nerviosas estuvieron ligadas a cambios en la actividad colinesterasa plasmática y/o cerebral. Aunque la sintomatología nerviosa fue similar entre las especies (hiperexcitabilidad, nado errático), en la tilapia la actividad de la enzima se elevó significativamente mientras que en yamú y bocachico (10 ppm), se mostró marcadamente inhibida. Para algunos autores (Gluszczak et al., 2006), la exposición a glifosato en peces conduce a una disminución de la actividad colinesterasa, mientras que en otros estudios se ha visto el efecto contrario (Rendon-von Osten et al., 2005). El presente estudio corrobora el hecho de que la mayor ó menor actividad de esta enzima ante la exposición al herbicida depende de la especie involucrada.

La elevación de actividad colinesterasa presentada en la tilapia se dio junto a un aumento en la peroxidación lipídica cerebral de los ejemplares y también a una mayor actividad plasmática de la AST. Un mecanismo particular que explique la fisiopatología del efecto sobre el sistema nervioso en los peces por acción del glifosato se desconoce. En otro estudio llevado a cabo por nuestro grupo (Ochoa & González, 2007) y que puede consultarse en este mismo suplemento de la Revista de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, la exposición a concentraciones subletales de RP (5 y 15 ppm) en cachama blanca (*P. brachypomus*) generó respuestas de tipo stress oxidativo y peroxidación lipídica en branquias e hígado. Esto sería compatible con la peroxidación lipídica cerebral vista en el presente estudio. Otro reporte en cachama blanca (Eslava et al., 2007) expuesta a concentraciones altas de glifosato indica infiltración de células granulares eosinofílicas/células de mast en las meninges y corteza cerebral así como cromatólisis central de los somas neurales tras exposiciones agudas. Esto evidencia la acción del RP sobre el sistema nervioso, tal y como se verificó bioquímicamente en nuestro estudio. Sin embargo, no tenemos a este punto de nuestra investigación una explicación del porque en algunas ocasiones la actividad de la enzima se eleva y en otras disminuye dependiendo de la especie y la concentración usada.

La elevación de transaminasas ha sido reportada como consecuencia de la exposición al glifosato. Una investigación en tilapia nilótica (*O. niloticus*) determinó que tras una exposición crónica de tres meses al herbicida (5 y 15 ppm) se dio una elevación significativa de la aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (FA) (Jiraungkoorskul et al., 2003). En nuestro estudio con tilapia, bastó una exposición de pocas horas a dos concentraciones altas (45 y 90 ppm) para que se diera la elevación de la AST. La elevación de AST plasmática se asocia con daños titulares, particularmente hepático, por exposición a agentes tóxicos u otros agentes etiológicos. El glifosato y sus productos comerciales han sido involucrados con cambios como degeneración mitocondrial y vacuolización en el hígado de

especies piscícolas (Szarek et al., 2000). Aunque en el presente estudio no se hizo una evaluación histopatológica de los daños causados por el glifosato, si es cierto que los hallazgos antes mencionados de peroxidación lipídica hepática en cachama, amén de las referenciadas en cuanto a daño hepático ultraestructural, podrían servir como explicaciones de la elevación de la AST reportada acá y en otras transaminasas analizadas en otros estudios.

Otro componente de interés encontrado en nuestro trabajo es el hecho de que en algunas exposiciones al herbicida prevalecen los efectos de tipo respiratorio sobre los de naturaleza nerviosa. Esto fue evidente en yamú y bocachico expuestos a 30 ppm de RP. La actitud de los animales manteniéndose muy cerca a la parte superior de la columna de agua, con mínimos movimientos de nado y cavidad oral abierta (yamú) sugieren problemas de oxigenación. En exposiciones subagudas (14 d) a glifosato en carpa (*C. carpio*), se reportó hiperplasia epitelial branquial cuando los ejemplares fueron expuestos a 5 y 10 ppm de glifosato (Neškovic et al., 1996). En el estudio hecho en cachama blanca por parte de Eslava y col. (2007) también se reportan cambios en tejido branquial tras exposiciones agudas a las mezclas comerciales del herbicida. Entre éstos: fusiones lamelares, necrosis, e hiperplasia interlamelar severa. Cambios histopatológicos como los referenciados en estos dos estudios pueden explicar algunos de los síntomas respiratorios descritos en los peces de esta investigación. Sin embargo, en nuestro estudio, algunos ejemplares mostraron los efectos respiratorios en pocas horas (menos de 7) de haber iniciado la exposición al tóxico. El glifosato también ha sido relacionado con una acción metahemoglobinizante (Pieniżek et al., 2004). En nuestros experimentos observamos que al hacer el muestreo de la sangre para la evaluación de colinesterasas plasmáticas y AST, en algunos ejemplares expuestos se observaba una tonalidad más oscura de lo normal. La manifestación del efecto metahemoglobinizante en la sangre es el color “achocolatado” de la misma. Infortunadamente, el volumen de sangre obtenido de los ejemplares no nos permitió hacer una cuantificación de porcentajes de metahemoglobina. En el momento estamos realizando experimentos al respecto ya que consideramos que el efecto respiratorio del glifosato puede obedecer a oxidación del hierro de la hemoglobina además de los cambios histológicos antes mencionados.

Conclusiones. La mezcla comercial Roundup causó problemas de tipo nervioso y/o respiratorio en las tres especies estudiadas. El tipo de efecto dependió de la concentración usada y la especie involucrada en la exposición. Los cambios en actividad del sistema nervioso se asociaron con variaciones en la actividad colinesterasa. Los mayores efectos tóxicos por el glifosato se dieron en bocachico y yamú en comparación con las más altas concentraciones que fueron necesarias para ver efectos tóxicos en la tilapia roja.

Los resultados de este trabajo indican que los efectos tóxicos del glifosato en su presentación comercial Roundup® fueron severos en las 3 especies evaluadas. Estos hallazgos difieren de los presentados en estudios como los

de Solomon (2005) en los que se considera que el herbicida es prácticamente inócuo para varias especies animales.

Agradecimientos. Los autores agradecen a la IFS (*International Foundation for Science*) por la financiación de este estudio (*Grant A/3517-1*).

Bibliografía.

- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7:88-95.
- Eslava PR, Ramírez WF, Rondón IS. 2007. Evaluación anatomopatológica de los efectos tóxicos agudos del Roundup® en juveniles de cachama blanca **En Sobre los efectos del glifosato y sus mezclas: impacto en peces nativos**. Unillanos- IIOC. pp. 59-72.
- Fatima M, Ahmad I, Sayeed I, Athar M, Raisuddin S. 2000. Pollutant-induced over-reaction of phagocytes is concomitantly associated with peroxidative damage in fish tissues. *Aquatic Toxicology* 49:243-250.
- Gluszczak L, dos Santos Miron D, Crestani M, Braga da Fonseca M, de Araujo Pedron F, Duarte MF, Pimentel Vieira VL. 2006. Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). *Ecotoxicol Environ Safety* 65:237-241.
- Jiraungkoorskul W, Upatham ES, Kruatrachue M, Sahaphong S, Vichasrigrams S, Pokethitiyook P. 2003. Biochemical and histopathological effects of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environ Toxicol* 18:260-267.
- Murray R. 1984. Aspartate aminotransferase. Kaplan, Clin Chem. The C.V. Mosby Co. St. Louis. Toronto. Princeton. Pp. 1112-1116.
- Neškovic NK, Poleksic V, Elezovic I, Karan V, Budimir M. 1996. Biochemical and histopathological effects of glyphosate on carp, *Cyprinus carpio* L.. *Bull Environ Contam Toxicol* 56:295-302.
- Ochoa DM, González JF. 2007. Stress oxidativo en juveniles de cachama blanca (*P. brachypomus*) expuestos a concentraciones subletales de Roundup. Memorias VI Seminario Internacional de Acuicultura. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Pieniążek D, Bukowska B, Duda W. 2004. Comparison of the effect of Roundup Ultra 360 SL pesticide and its active compound glyphosate on human erythrocytes. *Pest Biochem Physiol* 79:58-63
- Rendón-von Osten J, Ortíz-Arana A, Guilhermino L, Soares AMVM. 2005. *In vivo* evaluation of three biomarkers in the mosquitofish (*Gambusia yucatana*) exposed to pesticides. *Chemosphere* 58:627-636.
- Solomon KR, Anadón A, Cerdeira AL, Marshall J, Sanin LH. 2005. Estudio de los efectos del Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos mediante la aspersión aérea con el herbicida Glifosato (PECIG) y de los cultivos ilícitos en la salud humana y en el medio ambiente. Informe preparado para la Comisión Interamericana para el Control del Abuso de Drogas (CICAD), División de la Organización de los Estados Americanos (OEA). Washington, D.C., Estados Unidos de América.
- Szarek J, Siwicki A, Andrzejewska A, Terech-Majewska E, Banaszkiwicz T. 2000. Effects of the herbicide Roundup™ on the ultrastructural pattern of hepatocytes in carp (*Cyprinus carpio*). *Marine Environ Res* 50:263-266.