

**Nota Científica
(Short Communication)**

**EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE GLIFOSATO
PRESENTE EN CUERPOS DE AGUA CERCANOS A
CAMPOS DE SOYA TRANSGÉNICA SOBRE LA ABEJA *APIS
MELLIFERA* Y LA ABEJA SIN AGUIJÓN *TETRAGONISCA
ANGUSTULA***

Ruiz-Toledo, J. & Sánchez-Guillén, D. 2014. Effect of the concentration of glyphosate present in body waters near transgenic soybean fields on the honeybee *Apis mellifera*, and the stingless bee *Tetragonisca angustula*. *Acta Zoológica Mexicana (n. s.)*, 30(2): 408-413.

ABSTRACT. We evaluated the toxicity of field concentrations of glyphosate on the mortality of two bee species occurring in the Soconusco Region, Chiapas, Mexico. We did not find any significant difference in the mortality between exposed and control groups.

El glifosato es un herbicida sistémico de amplio espectro que se considera eficaz para controlar malezas, seguro para los usuarios y amigable con el ambiente (Battaglin *et al.* 2005, Evans *et al.* 2010, Mañas 2010). Este aminofosfonato actúa sobre la ruta del ácido shikímico, esencial para la vida de las plantas, algunas bacterias y hongos por lo que se considera de baja toxicidad para los animales (Schuette 1998, Dill *et al.* 2010). Por ello, su uso a nivel mundial ha ido en aumento; sin embargo, estudios recientes demuestran que el uso cada vez más intensivo de este herbicida, favorecido por la introducción de cultivos transgénicos ahora resistentes a glifosato, puede ser la causa de efectos potenciales perjudiciales y graves afectaciones en la reproducción en organismos acuáticos, anfibios y aves, así como de una grave disminución en la diversidad de insectos (Relyea 2005, Evans *et al.* 2010, Jones *et al.* 2011). Por ejemplo, las abejas y otros polinizadores pueden encontrar menos recursos debido al efecto de glifosato en plantas no blanco (Nicholls & Altieri 2012), o bien al entrar en contacto directo con el herbicida al consumir agua, néctar o polen contaminado, provocando efectos subletales desconocidos. En los pocos estudios en los que se ha medido el

Recibido: 10/07/2013; aceptado: 19/02/2014.

efecto del glifosato en abejas expuestas de manera oral y tópica a concentraciones de 100 µg/abeja y >100 µg/abeja, todavía no se ha observado ningún efecto (Giesy *et al.* 2000). Sin embargo, en el año 2012 se extendieron permisos para cultivar 253,500 hectáreas de soya transgénica en México, lo que podría implicar un aumento en el uso anual de glifosato, aunado a lo que se aplica para otros cultivos (CONABIO 2012), pues en otros países tales como Brasil y Argentina, se ha observado un incremento en el uso de glifosato desde la introducción de soya resistente al herbicida (Bindraban *et al.* 2009, Riesemberg y Silva 2009). De esta forma insectos como las abejas podrían estar expuestos a mayores concentraciones de glifosato que las encontradas en otros estudios y cuyos efectos no se habrían evaluado (Peruzzo *et al.* 2008, Sanchís *et al.* 2011, Mört *et al.* 2012). Así, el objetivo del presente trabajo fue determinar la toxicidad oral de glifosato en dos especies de abejas de importancia económica y cultural, *Apis mellifera* L. y *Tetragonisca angustula* Latreille, usando la concentración más elevada de este herbicida encontrada en cuerpos de agua en zonas agrícolas dedicadas al cultivo de soya transgénica; además una dosis experimental muy alta de glifosato para verificar la mortalidad de estos insectos.

Las pruebas de toxicidad se realizaron en El Colegio de la Frontera Sur, en la ciudad de Tapachula, Chiapas, México durante los meses de abril a mayo del 2013. En un estudio previo (Ruiz-Toledo *et al.* en revisión) se determinó la concentración de glifosato presente en cuerpos de agua cercanos a cultivos de soya resistente al herbicida, encontrando un rango de concentración de glifosato de 0.05 µg/L a 36.7 µg/L con una media (\pm desviación estándar) de 5.69 ± 10.21 µg/L. La dosis utilizada para las pruebas de toxicidad fue de 400 µg/L en miel (solución hecha con 50% miel y 50% solución glifosato 800 µg/L), 10 veces mayor que la máxima encontrada en ese estudio. Se expusieron de manera oral abejas forrajeras adultas sanas de *A. mellifera* (africanizadas con reinas italianas) y *T. angustula* (silvestres, sin ningún manejo de mejoramiento genético), obtenidas de colonias que no recibieron ningún tratamiento con medicamentos o cualquier otra sustancia química y que se encontraban con suficientes crías y reservas, además de una población adulta numerosa. Se comparó la respuesta de las abejas expuestas a esta dosis con grupos testigo de abejas (sólo agua-miel al 50%). Las abejas se colectaron atrayéndolas con un algodón embebido en agua-miel (1:1) colocado a 2-5 cm de la entrada de las colonias y se marcaron con pintura a base de agua para asegurar que provenían de la colonia bajo estudio. Cuando se observaron aproximadamente 20 abejas, el algodón con las abejas se colocó en el interior de un recipiente cilíndrico de 25 cm altura x 15 cm de radio que contenía un algodón con la solución de agua-miel a la concentración de glifosato correspondiente y se dejó por 72 horas, tiempo en que se registró la mortalidad y una abeja se consideró muerta si no tenía movimiento al agitar del recipiente; los datos de mortalidad se analizaron con una prueba *t* de Welch. Se realizaron cinco repeticiones por tratamiento; los recipientes del experimento se mantuvieron en laboratorio con un fotoperiodo

de 12:12 luz:oscuridad, una temperatura de $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y con una humedad relativa de 60 a 80%.

El porcentaje de mortalidad promedio (\pm error estándar) de los grupos testigo y expuestos a 400 $\mu\text{g/L}$ fue de 8.3 ± 1.7 y 7.3 ± 2.5 para *A. mellifera* y de 3.33 ± 2.1 y 5.27 ± 1.74 para *T. angustula*. No hubo diferencia significativa en la mortalidad tanto para grupos testigo como para los expuestos en ambas especies (*A. mellifera*: $t=0.37$, $GL = 15$, $P=0.72$; *T. angustula*: $t=0.71$, $GL = 8.25$, $P=0.49$; Fig. 1). Sin embargo, el panorama fue muy diferente cuando a ambas especies se les expuso a la mitad de la concentración comercial de glifosato (178 g/L), pues para *A. mellifera* se observaron abejas muertas a partir de los 44 minutos y fue hasta las doce horas cuando todas las abejas habían muerto. La mortalidad en las abejas *T. angustula* expuestas siguió un patrón similar (Fig. 2). Nuestros resultados muestran que las concentraciones de glifosato encontradas en la zona de estudio no generan ningún efecto de mortalidad a corto plazo, confirmando la no toxicidad que reporta la FAO (2000) y la baja toxicidad reportada por Schuette (1998) y Giesy et al. (2000), incluso a altas concentraciones como las evaluadas en el presente estudio. Sin embargo, se puede observar que las abejas al consumir la mitad de la concentración comercial tienden a morir rápidamente, por lo tanto es importante seguir monitoreando las concentraciones de dicho herbicida en campo, incluyendo varios de los recursos que las abejas usan (polen, néctar, plantas, flores y suelo) y que podrían estar expuestos a los agroquímicos (Krupke et al. 2012). A pesar de que estas concentraciones no provocaron mortalidad

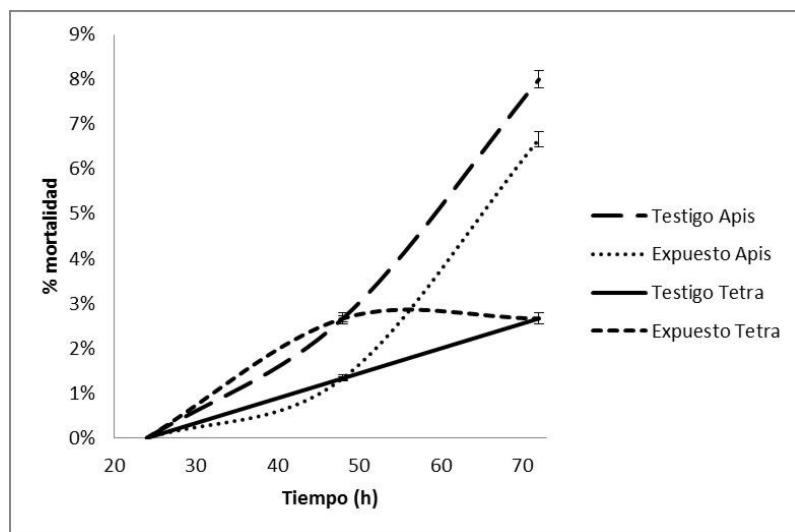


Figura 1. Porcentaje de mortalidad durante 72 horas de *Apis mellifera* y *Tetragonisca angustula* expuestas a 400 $\mu\text{g/L}$ de glifosato.

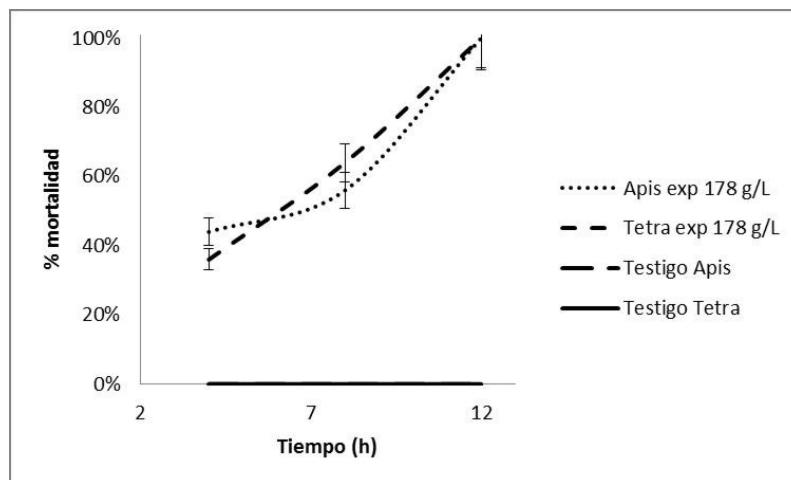


Figura 2. Porcentaje de mortalidad durante 12 horas de *Apis mellifera* y *Tetragonisca angustula* expuestas a 178g/L de glifosato.

en las abejas estudiadas, es necesario analizar efectos a largo plazo ya que muchos de los plaguicidas actúan sobre el sistema inmune, volviendo a los organismos más susceptibles a sufrir efectos por otros plaguicidas e incluso más propensos a enfermedades (Samsel & Seneff 2013). Esto hace necesario evaluar más detalladamente al glifosato antes de decidir que no es tóxico, ya que se ha demostrado que puede actuar de manera sinérgica con otros plaguicidas, como ocurre con clorpirifos y metil metsulfuron que incrementan su toxicidad en plantas y peces (Kudsk & Mathiassen 2004, Rendón-von Osten *et al.* 2005).

AGRADECIMIENTOS. Al CONACYT y a la SAGARPA por financiar el proyecto “Validación y desarrollo de tecnología para el manejo integral de mosca de la fruta en mango con enfoque en aéreas grandes” (proyecto 24031, clave 163431) del cual se desprende el presente estudio.

LITERATURA CITADA

- Battaglin, W. A., Kolpin, D. W., Scribner, E. A., Kuivila, K. M. & Sandstrom, M. W. 2005. Glyphosate, other herbicides, and transformation products in midwestern streams. *Journal of the American Water Resource Association (JAWRA)*, 41: 323–332.
- Bindraban, P. S., Franke, A. C., Ferraro, D. O., Ghersa, C. M., Lotz, L. A. P., Nepomuceno, A., Smulders, M. J. M. & van de Wiel, C. C. M. 2009. GM-related sustainability: agro-ecological impacts, risks and opportunities of soy production in Argentina and Brazil. *Plant Research International, Wageningen University Report No 259*: 50 pp.
- CONABIO. 2012. Resultados del análisis de riesgo a la solicitud 007/2012 para la liberación al ambiente de *Glycine max* (L.) Merr. genéticamente modificado MON-04032-6 (GTS 40-3-2). Disponible

- en: http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/Rec_007_2012_Conabio.pdf (Fecha de acceso: 15/junio/2013)
- Dill, G. M., Sammons, R. D., Feng, P. C. C., Kohn, F., Kretzmer, K., Mehrsheikh, A., Bleeke, M., Honegger, J. L., Farmer, D., Wright, D. & Haupfear, E. A.** 2010. Glyphosate: discovery, development, applications, and properties, pp. 1–33. In: V.K. Nandula (Ed.), *Glyphosate Resistance in Crops and Weeds: History, Development, and Management*, Wiley, Hoboken, NJ, USA.
- Evans, S. C., Shaw, E. M. & Ripstra, A. L.** 2010. Exposure to a glyphosate-based herbicide affects agrobiont predatory arthropod behaviour and long-term survival. *Ecotoxicology*, 19: 1249–1257.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).** 2000. FAO specifications and evaluations for plant protection products. Glyphosate. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/agp/agpp/pesticid/specs/docs/pdf/new/glypho01.pdf> (Fecha de acceso: 17/Junio/2012)
- Giesy J. P., Dobson, S. & Solomon, K. R.** 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 167: 35–120.
- Jones, D. K., Hammond, J. I. & Relyea, R. A.** 2011. Competitive stress can make the herbicide Roundup® more deadly to larval amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30: 446–54.
- Kudsk, P. & Mathiassen, S. K.** 2004. Joint action of amino acid biosynthesis-inhibiting herbicides. *Weed Research*, 44: 313-22.
- Krupke, C. H., Hunt, G. J., Eitzer, B. D., Andino, G. & Given, K.** 2012. Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. *PLOS ONE*, 7: 1-8.
- Mañas, F.** 2010. Efectos de glifosato sobre la salud. Genotoxicidad de glifosato y su principal metabolito AMPA. Cuantificado por los ensayos de aberraciones cromosómicas, micronúcleos y cometa. Globalízate. Argentina. Disponible: <http://www.redunas.fcm.unc.edu.ar/wp-content/uploads/downloads/2011/09/Glifosato-X-MA%C3%91AS-globalizate.pdf> (Fecha de acceso: 18/06/2013)
- Mörtl, M., Németh, G., Jurácsik, J., Darvas, B., Kamp, L., Rubio, F. & Székács, A.** 2012. Determination of glyphosate residues in Hungarian water samples by immunoassay. *Microchemical Journal*, (2013): 143–151.
- Nicholls C. L. & Altieri, M. A.** 2012. Plant biodiversity enhances bees and other insect pollinators in agroecosystems. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 33: 257–274.
- Peruzzo, P., Porta, A. & Ronco, A.** 2008. Levels of Glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environmental Pollution*, 156: 61-66.
- Relyea, R. A.** 2005. The lethal impact of Roundup on aquatic and terrestrial amphibians. *Ecological Applications*, 15: 1118–1124.
- Rendón-von Osten, J., Ortiz-Arana, A., Guilhermino, L. & Soares, A. M.** 2005. In vivo evaluation of three biomarkers in the mosquitofish (*Gambusia yucatana*) exposed to pesticides. *Chemosphere*, 58: 627-36.
- Riesemberg, A. & Silva, M.** 2009. Nota Técnica: Reflexos Associados ao Cultivo de Plantas Transgênicas no Estados Paraná SEAB. Department of Agriculture and Supply in Paraná. 5 pp Disponible en: http://terradedireitos.org.br/wp-content/uploads/2011/03/SEAB_-_NOTA-T%C3%89CNICA.pdf (Fecha de acceso: 01/02/2014)
- Ruiz Toledo, J., Castro, R., Rivero-Pérez, N., Bello-Mendoza, R. & Sánchez, D.** 2014. Occurrence of Glyphosate in Water Bodies Derived from Intensive Agriculture in a Tropical Region of Southern Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. DOI 10.1007/s00128-014-1328-0.
- Sanchís, J., Kantiani, L., Llorca, M., Rubio, F., Ginebreda, A., Fraile, J., Garrido, T. & Farre, M.** 2011. Determination of glyphosate in groundwater samples using an ultrasensitive immunoassay and confirmation by on-line solid-phase extraction followed by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 402: 2335-2345.

- Samsel, A. & Seneff, S.** 2013. Glyphosate's suppression of cytochrome P450 enzymes and amino acid biosynthesis by the gut microbiome: pathways to modern diseases. *Entropy*, 15: 1416–1463.
- Schuette, J.** 1998. Environmental fate of glyphosate. *Environmental Monitoring & Pest Management*. Department of Pesticide Regulation Sacramento. CA 95824-5624. Disponible: <http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/glyphos.pdf> (Fecha de acceso: 16/06/2013)

JOVANI RUIZ-TOLEDO y DANIEL SÁNCHEZ-GUILLÉN*

El Colegio de la Frontera Sur - Km 2.5 carretera Antiguo Aeropuerto, 30700 Tapachula, Chiapas, México. <dsanchez@ecosur.mx>