

COMPARACION DE LOS EFECTOS OXIDATIVOS DEL GLIFOSATO Y UN FORMULADO COMERCIAL SOBRE CULTIVOS DE *Chlorella vulgaris*

Juan Manuel Ostera, Gabriela Malanga, Susana Puntarulo
Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular (IBIMOL), Universidad de Buenos Aires
(UBA)- CONICET. Físicoquímica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Junín 956
(C1113AAD), Buenos Aires, Argentina. E-mail: jostera@ffyb.uba.ar

Introducción

El glifosato (N-(fosfonometil) glicina) es un herbicida de amplio espectro que se utiliza principalmente para el control de malezas en cultivos de interés agrícola. El glifosato y sus formulaciones comerciales pueden alcanzar los cuerpos de agua cercanos a las zonas de aplicación de herbicidas principalmente mediante escorrentía. Se han presentado evidencias que indican que el glifosato y sus formulaciones comerciales generan situaciones de estrés oxidativo en cianobacterias (Chen y col., 2012), microalgas (Lipoký col., 2010) y plantas superiores no blanco de este herbicida (Ahsan y col., 2008). Romero y col. (2011) estudiaron el daño asociado al estrés oxidativo generado por la exposición a un formulado comercial con agregado de surfactante (concentraciones de glifosato puro en el medio de cultivo 40-70 mg/L) sobre una cepa extremófila autóctona de la microalga *Chlorella kessleri*, observando un incremento en la actividad de las enzimas antioxidantes, una disminución en los contenidos de antioxidantes no enzimáticos y alteraciones morfológicas en aquellos cultivos expuestos a las concentraciones más elevadas del herbicida. Una de las microalgas más utilizadas para ensayos de toxicidad a nivel de laboratorio es *Chlorella vulgaris*, dado que es fácilmente cultivable en laboratorio, se encuentra en multitud de ambientes acuáticos de agua dulce y puede considerarse un buen bioindicador de la presencia de contaminantes ambientales. Se han realizado numerosos estudios de toxicidad con *C. vulgaris*, en presencia de distintos contaminantes, entre los cuales se incluye al glifosato y sus formulaciones comerciales (Qian y col., 2009; Reno, 2016). El objetivo del trabajo fue evaluar comparativamente el efecto oxidativo de concentraciones bajas y moderadas de glifosato grado analítico y un formulado comercial (RoundupUltraMax) sobre cultivos de *C. vulgaris*.

Metodología

Los cultivos de *C. vulgaris* CPCC 90 (Canadian Phycological Culture Centre) se desarrollaron en medio Basal de Bold suplementado con glucosa 1 g/L (Bold y Wayne, 1978), a 20°C de temperatura y bajo ciclos luz-oscuridad de 12 h. El crecimiento se siguió mediante espectrofotometría y recuento celular. Los cultivos fueron expuestos a concentraciones del principio activo glifosato de 0 a 8,87 µM (concentraciones equivalentes a las que se pueden encontrarse en aguas superficiales de ambientes cercanos a zonas de aplicación intensiva del herbicida). En fase exponencial y estacionaria de desarrollo se cosecharon muestras para la determinación de antioxidantes liposolubles (α -tocoferol y β -caroteno) mediante técnicas de HPLC (Desai, 1984). La determinación del contenido de radicales lipídicos (RL*) como índice de daño oxidativo a lípidos fue medido mediante espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (EPR) utilizando como atrapador de spin α -piridil-1-óxido-N-terbutilnitrona (POBN) (Malanga y Puntarulo, 2012).

Resultados

La tabla 1 muestra los valores de DO encontrados en las distintas fases de crecimiento para cultivos controles y expuestos a glifosato o el formulado comercial.

Tabla 1. Efecto del glifosato y el formulado comercial (FC) sobre el crecimiento de cultivos de *C. vulgaris*.

Glifosato (mM)	Lag		OD		Estacionaria	
	Glifosato	FC	Exponencial Glifosato	FC	Glifosato	FC
0	0.26±0.04	0.24±0.07	0.51±0.09	0.49±0.16	0.65±0.04	0.53±0.13
0.088	0.26±0.14	0.27±0.07	0.47±0.04	0.42±0.05	0.68±0.02	0.55±0.16
0.177	0.30±0.09	0.25±0.09	0.52±0.14	0.52±0.17	0.69±0.07	0.57±0.03
0.295	0.27±0.13	0.28±0.15	0.55±0.16	0.51±0.05	0.69±0.07	0.61±0.12
0.887	0.46±0.12		0.80±0.07		0.80±0.01	
8.87	0.24±0.05		0.51±0.10		0.57±0.05	

La exposición de los cultivos a glifosato o el formulado comercial no llevó a diferencias significativas en el crecimiento en ninguna de las fases de desarrollo (fase de latencia, exponencial y estacionaria). La velocidad de generación de RL^* , no mostró diferencias significativas frente a los tratamientos analizados en ninguna de las fases estudiadas. Sin embargo, en fase exponencial se observó un incremento del contenido de α -tocoferol en cultivos expuestos a 0,088 μ M y 0,177 μ M glifosato del 70% y 2 veces, respectivamente. En fase estacionaria, el contenido de α -tocoferol no se modificó respecto del control en todo el rango de concentraciones evaluadas tanto para el glifosato como para el formulado comercial. En ambas fases el contenido de β -caroteno no se modificó significativamente en ninguno de los tratamientos estudiados.

Conclusiones

Estos resultados sugieren que no se evidencian diferencias significativas en la respuesta del cultivo frente a la presencia o ausencia del surfactante en el rango de concentración estudiado. El daño oxidativo frente a la exposición al glifosato puro o su formulado comercial, puede ser controlado a nivel lipofílico en forma diferencial por el sistema antioxidante no enzimático. Además, el control de la aparición de daño en las membranas lipídicas se basa en respuesta en el contenido de α -tocoferol y no del β -caroteno.

Referencias

Ahsan N, Lee DG, Lee KW, Alam I, Lee SH, Bahk JD, Lee BH (2008) Plant Physiol. Biochem. 46: 1062-1070. **Bold HC, Wynne MJ** (1978). En Introduction to the Algae Structure and Reproduction. (Mc Elroy y CP Swanson eds.) Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, p.571. **Chen L, Xie M, Bi Y, Wang G, Deng S, Liu Y** (2012) Ecotoxicol. Environ. Saf. 80: 224-230. **Desai I** (1984) Meth. Enzymol. 105: 138-146. **Lipok J, Studnik H, Gruyaert S.** (2010). Ecotox. Environ Safe. 73(7): 1681-1688. **Qian H, Chen W, Li J, Wang J, Zhou Z, Liu W, Fu Z** (2009). Aquat. Toxicol. 92:250-257. **Malanga G y Puntarulo S.** (2012). En Book on Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems. (D Abele, T Zenteno-Savín y Vázquez-Medina JP eds.) Wiley-Blackwell Cap 35, pp 448. West Sussex, Reino Unido. **Romero DM, Ríos de Molina MC, Juárez AG.** (2011). Ecotox. Environ. Safe. 74(4): 741-747. **Reno U, Regaldo L, Vidal E, Mariani M, Zalazar C, Gagnet AM** (2016). J. Appl. Phycol. 28: 2279-2286.