

## Fitotoxicidad de quinolonas sobre semillas forrajeras

Nagel O, Martino T, Candiotti V, Althaus R.

Cátedra de Biofísica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, R.P.L. Kreder 2805 - (3080). Esperanza, Santa Fe, Argentina. onagel@fcv.unl.edu.ar

Las quinolonas se utilizan en Medicina Veterinaria para el tratamiento de enfermedades producidas por bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Estas moléculas se metabolizan en diferente grado, a excepción de oxofloxacina, y sus metabolitos con actividad antimicrobiana pueden excretarse a través de heces y orina, pudiendo contaminar suelos, aguas superficiales y/o subterráneas<sup>1</sup>. Para evaluar el impacto ambiental de los antibióticos, algunos autores analizaron su acción fitotóxica sobre la germinación de las semillas y el crecimiento de las plantas. El propósito de este trabajo fue evaluar la fitotoxicidad de seis quinolonas sobre la elongación de hipocótilos correspondientes a tres especies forrajeras cultivadas en Argentina. Se ensayaron cinco concentraciones según una escala logarítmica ( $C_0=0$  mg/l,  $C_1=0,1$  mg/l,  $C_2=1$  mg/l,  $C_3=10$  mg/l y  $C_4=100$  mg/l) de seis quinolonas (ciprofloxacina, enrofloxacina, levofloxacina, marbofloxacina, norfloxacina y ofloxacina) sobre tres semillas forrajeras: *Medicago sativa* (alfalfa), *Lolium perenne* (raigrás) y *Trifolium pratense* (trébol rojo).

Se utilizó el protocolo standard de pruebas de toxicidad en plantas terrestres propuesto por ASTM<sup>2</sup>. Para ello, se seleccionaron en forma aleatoria 1500 unidades experimentales de cada semilla. Por cada variedad de semilla (3) y concentración (5) de antibiótico (6) se analizaron quintuplicados (5) en placas de Petri (100 x 15 mm). En cada placa, se colocaron 10 semillas sobre un filtro de celulosa Whatman y se añadieron 10 ml de las disoluciones de quinolonas ( $C_0$ ,  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  y  $C_4$ ). Las placas se cubrieron con Parafilm M y se colocaron durante siete días en cámara de incubación a 25°C. Se realizaron duplicados de las mediciones de hipocótilos utilizando un calibre Vernier (sensibilidad de 0,05 mm). Se empleó el Análisis de la varianza ANOVA y test de Tukey para evaluar el efecto de las diferentes concentraciones de quinolonas sobre la elongación de hipocótilos.

En la Tabla 1 se expone el efecto de los diferentes niveles de quinolonas sobre las medias de las longitudes de los hipocótilos de las semillas forrajeras. Los resultados del ANOVA muestran que las seis quinolonas ensayadas afectan significativamente ( $p<0,05$ ) al desarrollo de los hipocótilos de las tres variedades forrajeras. En efecto, bajas concentraciones (0,1 mg/l) de enrofloxacina, marbofloxacina, levofloxacina y norfloxacina produce una disminución en la longitud de los hipocótilos de *M. sativa*; mientras que, se necesitan mayores concentraciones de ofloxacina (1 mg/l) y ciprofloxacina (10 mg/l) para ejercer un efecto negativo sobre el desarrollo de hipocótilo.

La variedad forrajera *L. perenne* presenta mayor sensibilidad a las quinolonas, puesto que 0,1 mg/l de prácticamente todas las moléculas ensayadas presentan efecto fitotóxico sobre el crecimiento de los hipocótilos, a excepción de enrofloxacina y norfloxacina que deben estar presentes a una concentración superior (1 mg/l).

Por último, el comportamiento de las quinolonas sobre los hipocótilos de *T. pratense* fue similar al observado para *L. perenne*; ya que 0,1 mg/l de ciprofloxacina, levofloxacina y ofloxacina producen disminuciones significativas en las longitudes de los hipocótilos, mientras que se necesitan mayores concentraciones de marbofloxacina (1 mg/l), norfloxacina (1 mg/l) y enrofloxacina (100 mg/l) para producir efecto significativo sobre sus tallos.

**Tabla 1.** Efecto de diferentes concentraciones de quinolonas sobre elongación de hipocótilos de semillas forrajeras (a,b,c,d,e: Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas con  $p < 0,05$ ).

Semilla	Quinolonas	Concentración de quinolona (mg/l)				
		0	0,1	1	10	100
<i>Medicago sativa</i> (Alfalfa)	Ciprofloxacina	5,85 <sub>a</sub> ±0,61	5,73 <sub>a</sub> ±0,54	5,27 <sub>a</sub> ±0,45	4,16 <sub>b</sub> ±0,31	4,49 <sub>b</sub> ±0,18
	Enrofloxacin	6,22 <sub>a</sub> ±0,76	3,99 <sub>b</sub> ±0,50	3,96 <sub>b</sub> ±0,53	3,49 <sub>c</sub> ±0,35	2,55 <sub>d</sub> ±0,28
	Levofloxacin	6,22 <sub>a</sub> ±0,76	5,35 <sub>b</sub> ±0,61	5,39 <sub>b</sub> ±0,44	4,41 <sub>c</sub> ±0,30	3,81 <sub>d</sub> ±0,29
	Marbofloxacina	5,85 <sub>a</sub> ±0,61	4,96 <sub>b</sub> ±0,23	4,36 <sub>b</sub> ±0,52	4,13 <sub>c</sub> ±0,58	2,72 <sub>d</sub> ±0,47
	Norfloxacin	6,22 <sub>a</sub> ±0,76	4,55 <sub>b</sub> ±0,79	4,05 <sub>c</sub> ±0,22	3,18 <sub>d</sub> ±0,68	3,13 <sub>d</sub> ±0,56
	Ofloxacin	6,13 <sub>a</sub> ±0,66	6,48 <sub>a</sub> ±0,63	5,35 <sub>b</sub> ±0,61	5,44 <sub>b</sub> ±0,27	3,74 <sub>c</sub> ±0,21
<i>Lolium perenne</i> (Raigrás)	Ciprofloxacina	10,94 <sub>a</sub> ±1,05	7,91 <sub>b</sub> ±0,62	7,90 <sub>b</sub> ±0,61	6,95 <sub>c</sub> ±0,37	4,92 <sub>d</sub> ±0,76
	Enrofloxacin	9,74 <sub>a</sub> ±0,58	10,11 <sub>a</sub> ±0,45	8,31 <sub>b</sub> ±0,54	6,43 <sub>b</sub> ±0,35	4,36 <sub>d</sub> ±0,62
	Levofloxacin	10,94 <sub>a</sub> ±1,05	8,02 <sub>b</sub> ±0,42	6,82 <sub>c</sub> ±0,66	5,41 <sub>d</sub> ±0,42	2,98±0,42
	Marbofloxacina	10,94 <sub>a</sub> ±1,05	8,53 <sub>b</sub> ±0,72	6,42 <sub>c</sub> ±0,62	3,86 <sub>d</sub> ±0,49	2,22 <sub>e</sub> ±0,57
	Norfloxacin	9,74 <sub>a</sub> ±0,58	9,31 <sub>a</sub> ±0,49	7,89 <sub>b</sub> ±0,41	6,05 <sub>c</sub> ±0,29	3,94 <sub>d</sub> ±0,53
	Ofloxacin	10,94 <sub>a</sub> ±1,05	8,02 <sub>b</sub> ±0,42	3,73 <sub>c</sub> ±0,26	5,49 <sub>d</sub> ±0,38	3,98 <sub>e</sub> ±0,40
<i>Trifolium pratense</i> (Trébol Rojo)	Ciprofloxacina	4,40 <sub>a</sub> ±0,26	3,10 <sub>b</sub> ±0,36	4,18 <sub>b</sub> ±0,25	3,92 <sub>b</sub> ±0,29	3,45 <sub>c</sub> ±0,23
	Enrofloxacin	4,15 <sub>a</sub> ±0,54	3,84 <sub>a</sub> ±0,54	3,97 <sub>a</sub> ±0,50	3,93 <sub>a</sub> ±0,34	3,32 <sub>b</sub> ±0,32
	Levofloxacin	4,40 <sub>a</sub> ±0,26	4,09 <sub>b</sub> ±0,24	4,10 <sub>b</sub> ±0,35	3,65 <sub>c</sub> ±0,41	1,15 <sub>d</sub> ±0,36
	Marbofloxacina	4,42 <sub>a</sub> ±0,30	4,65 <sub>a</sub> ±0,25	3,63 <sub>b</sub> ±0,32	3,21 <sub>c</sub> ±0,43	3,05 <sub>c</sub> ±0,39
	Norfloxacin	4,65 <sub>a</sub> ±0,54	4,81 <sub>a</sub> ±0,31	4,31 <sub>b</sub> ±0,27	3,63 <sub>c</sub> ±0,15	3,31 <sub>d</sub> ±0,33
	Ofloxacin	4,40 <sub>a</sub> ±0,26	4,12 <sub>b</sub> ±0,21	3,73 <sub>c</sub> ±0,26	3,57 <sub>c</sub> ±0,23	3,18 <sub>d</sub> ±0,27

Eluk et al.<sup>3</sup> cuando analizan el efecto fitotóxico de cinco antibióticos sobre la elongación radicular de tres especies forrajeras (*M. sativa*, *M. Albus* y *T. repens*), señalan que 0,1 mg/l de enrofloxacin afecta a las tres especies.

El efecto fitotóxico de las quinolonas sobre elongación de hipocótilos de las tres especies forrajeras puede atribuirse a la posible acción anticloroplástica de estas moléculas, según lo señala Brain et al.<sup>4</sup> cuando analizan el efecto de lomefloxacina (25-38 mg/l) sobre el crecimiento de *Lemna gibba*.

A modo de síntesis, se puede establecer que la especie *L. perenne* representa un adecuado biomarcador dentro de las especies forrajeras porque presenta buena sensibilidad hacia las seis quinolonas, constituyendo un adecuado biosensor para detectar la presencia de residuos de quinolonas en suelo o agua.

## Bibliografía

1. Campagnolo, E.; Johnson, K.; Karpati, A.; Rubin, C.; Kolpin, D.; Meyer, M.; Esteban, J.; Currier, R.; Smith, K.; Thu, K.; Mc Geehin, M. (2002). Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations. *Science of the Total Environment*, 299, 89-95.
2. ASTM, American Society for Testing Materials. (2003). Standard guide for conducting terrestrial plant toxicity tests. ASTM International, West Conshohocken, PA, 1534-1554.
3. Eluk, D.; Franck, R.; Nagel, O. G; Molina, M P.; Althaus, R. L., 2017. Phytotoxic Effect of Antibiotic Residues on Forage Seeds. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 5, 828-848.
4. Brain, R.; Johnson, D.; Richards, J.; Sanderson, H.; Sibley, P.; Solomon, S. (2004). Effects of 25 pharmaceutical compounds to *Lemna gibba* using a seven-day static-renewal test. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(2), 371-382.