

Evaluación del efecto fitotóxico de suero contaminado con tilosina sobre el crecimiento de semillas de cultivo y forrajeras de la región pampeana

Eluk D., Frank R., Nágel O. Althaus R.

Cátedra de Biofísica. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral (UNL).
ralthaus@fcv.unl.edu.ar

Proyecto CAI+D (PI 501201110152LI) de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Litoral y PICT 2012-455 de la Agencia de Promoción Científica y Tecnológica: “Diseño de un sistema sustentable para el tratamiento de leche contaminada con antibióticos”

En Argentina, el destino de la leche contaminada con residuos de medicamentos se contempla en el Art. 556 del Código Alimentario Argentino², el cual establece que, en caso de verificar la presencia de residuos de antimicrobianos en cantidades superiores los LMRs, la leche contaminada no debe incorporarse a la cadena alimentaria y debe retirarse de su comercialización. Por ello, tanto la leche como el suero de leche contaminado con residuos de antibiótico constituyen un serio problema. Entre las diferentes alternativas, se destaca el uso de “landfarming” como técnica de biorremediación. Esta técnica representa una opción viable de bajos costos de construcción-operación y fácil de implementar, aunque requiere de grandes parcelas de tierra. Además, las tasas de degradación suelen ser lentas y van acompañadas de elevados períodos de estabilización para completar el tratamiento^{1,3}. Sin embargo, numerosas moléculas como por ejemplo los antibióticos macrólidos presentan moderada inactivación, pudiendo producir cambios en la composición de la flora microbiana de estos suelos⁴. En este trabajo se evaluó el efecto fitotóxico que produce el suero de leche contaminado con tilosina (como molécula representativa de los macrólidos) sobre la frecuencia de germinación de semillas y longitud de la radícula. Para la preparación de las muestras, se fortificaron disoluciones de suero (3%p) conteniendo 0 (control negativo), 1 (50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), 10 (500 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), 100 (5 mg.kg^{-1}) y 1000 (50 mg.kg^{-1}) veces el Límite Máximo de Residuo de tilosina (LMR= 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$). Se utilizaron cinco cultivos de la región: girasol (*Helianthus annuus*), maíz (*Zea mays*), soja (*Glycine max*), sorgo (*Sorghum spp*), trigo (*Triticum aestivum*) y tres especies forrajeras: alfalfa (*Medicago sativa*), melilotus (*Melilotus albus*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). Por cada especie de semilla se emplearon duplicados de 5 germinadores plásticos (25x20 cm) conteniendo papel absorbente. En cada germinador se colocaron 50 semillas y se agregaron luego 40 ml de cada una de las disoluciones de tilosina detalladas anteriormente. Los germinadores se cubrieron con bolsas plásticas de polietileno a fin de evitar la evaporación del agua y se colocaron en cámara cerrada a 25°C. Con una frecuencia de control de 12 horas y hasta el 7^{mo} día, se determinaron las semillas germinadas para cada variedad y nivel de tilosina. Luego se calcularon las frecuencias relativas de germinación considerando los controles negativos. Transcurridos 7 días del inicio del experimento, para cada semilla y concentración de antibiótico se midieron por duplicado las longitudes de las raíces utilizando un calibre con sensibilidad 0.1 mm. Se realizó un análisis de la variancia (ANOVA) para la evaluación del efecto de la concentración de antibiótico sobre la longitud de la raíz, posteriormente se aplicó el test LSD para determinar las diferencias significativas entre grupos mediante el programa estadístico StatGraphics® Centurión. El efecto de los niveles de tilosina sobre la longitud de las raíces de los ocho cultivos ensayados se resume en la Tabla 1 (valor de F y p). Se observa que *Glycine max* es sensible a los residuos de tilosina presentes en el suero de leche, mostrando una disminución significativa en la longitud de las raíces ($p < 0.05$) a un nivel equivalente al LMR (50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) y que la longitud de las raíces de *Melilotus albus* presentaron una disminución significativa a 100 veces el LMR (Figura 1). Para el resto de las semillas estudiadas no se observó efecto fitotóxico significativo. Con el propósito de analizar el efecto de la concentración de tilosina sobre la frecuencia de germinación de las ocho semillas, se utilizó el modelo de regresión logística. Los resultados indican un efecto significativo únicamente sobre *Sorghum spp* (valores de $p < 0.05$, Tabla 2). Por ello, Figura 2 representa el efecto de la concentración de tilosina sobre las frecuencias de germinación de *Sorghum spp*. Se aprecia un efecto fitotóxico que se manifiesta en un retraso en la

frecuencia germinativa de las semillas a un nivel equivalente al LMR, que resulta más elevado en la medida que se incrementan los niveles de tilosina en suero de leche.

Tabla 1: Parámetros estadísticos del efecto del nivel de Tilosina sobre la longitud de las raíces obtenidos con ANOVA

Semillas	Valor F	Valor p
<i>Glicine max</i>	9.42	0.0001
<i>Sorghum spp</i>	1.10	0.3661
<i>Trifolium pratense</i>	1.66	0.1624
<i>Triticum spp</i>	1.27	0.2943
<i>Zea mays</i>	1.15	0.4523
<i>Helianthus annuus</i>	1.79	0.1319
<i>Medicago sativa</i>	1.82	0.1257
<i>Melilotus albus</i>	10.09	0.0001

Tabla 2: Parámetros estadísticos del efecto del nivel de Tilosina en suero calculados mediante el modelo de regresión logística.

Semilla	Valor χ^2	Valor p
<i>Glicine max</i>	6.97	0.1452
<i>Sorghum spp</i>	95.0	0.0001
<i>Trifolium pratense</i>	1.22	0.7465
<i>Triticum spp</i>	7.03	0.4665
<i>Zea mays</i>	1.20	0.1465
<i>Helianthus annuus</i>	8.63	0.0709
<i>Medicago sativa</i>	4.44	0.3488
<i>Melilotus albus</i>	5.43	0.2822

Figura 1: Efecto de los niveles Tilosina sobre las longitudes de las raíces de semillas que mostraron efecto de inhibición significativo a los 7 días

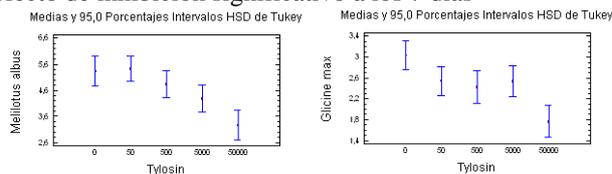
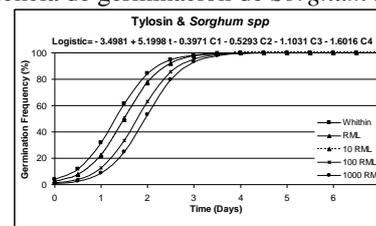


Figura 2: Efecto concentraciones de Tilosina sobre la frecuencia de germinación de *Sorghum spp*



Se concluye que el suero de leche que contiene residuos de tilosina provenientes de queserías representa un problema cuando se vierte a los suelos, puesto que producen efectos inhibitorios que se manifestaron en la disminución en las longitudes de las raíces de *Melilotus albus* y *Glicine max* y en la disminución de la frecuencia de germinación de *Sorghum spp*. Futuros estudios tendientes a evaluar el posible impacto ambiental que producen los residuos de tilosina deberían desarrollarse. En este sentido, estudios de ecotoxicidad mediante el empleo de bioindicadores representan una herramienta interesante. El uso de organismo indicadores de contaminación (algas, bacterias, protozoos, macroinvertebrados y peces, entre otros) permitiría conocer las tolerancias ecológicas, así como sus adaptaciones para resistir contaminantes agudos y crónicos.

Bibliografía

1. **Branford, M.L.; Kishnamoorthy R.** (1991) Consider bioremediation for waste site cleanup. Chemical Engineering Progress, 87, 80–85, 1991.
2. **CAA (Código Alimentario Argentino).** (2001). Capítulo VIII: Alimentos Lácteos (artículos 555, 556, 556 bis). Decreto 2126/71 del Código Alimentario Argentino.
3. **Levin M.A., Gealt M.A.** (1993). Overview of bio-treatment practices and promises. In: M. A. Levin & M.A. Gealt, Eds. Bio treatment of industrial and hazardous waste. 1-18. McGraw-Hill, USA, 1993.
4. **Zorraquino M.A., Althaus R.L., Roca M., Molina M.P.** (2011). Heat Treatment Effects on the Antimicrobial Activity of Macrolide and Lincosamide Antibiotics in Milk. Journal of Food Protection. 74 (2): 311-315.