

El glifosato: ¿inocuo?

Iván Hernández-Ramírez*, Carlos M. Córdoba-Ortega**, Sergio A. Aranda-Rosero***

Resumen

Introducción: el cambio de comportamiento en la conducta excavadora de la larva de *Drosophila melanogaster* está relacionada con una mutación génica producto del efecto genotóxico de un agente químico de uso cotidiano en el control de las malezas. **Metodología:** mediante bioensayos que utilizaron sustratos contaminados con glifosato a diferentes concentraciones, fue posible establecer el efecto genotóxico de este herbicida catalogado como inocuo en humanos y especies animales por la Comisión Interamericana para el Control del Abuso de Drogas (Cicad), según informe preparado en respuesta a la solicitud formulada por los gobiernos de Colombia, Estados Unidos y Reino Unido, entregado el 31 de marzo de 2005. **Resultados:** concentraciones del producto Roundup recomendadas para la protección de cultivos de alta calidad al 3,2% fueron altamente tóxicas, mientras que la concentración recomendada para malezas al 1,0% mostró evidente cambio de comportamiento en *D. melanogaster*. **Conclusiones:** el locus de perforación o excavación presente en *D. melanogaster*, codifica para la biosíntesis de la enzima pteridina responsable de la muerte del embrión por defectos en la etapa de blastodermis; en humanos, la sobreexpresión de pteridina se relaciona con enfermedades proliferativas y estimulación de citoquinas involucradas en multiplicación de eritroides, astrocitos y macrófagos.

Palabras clave: bioensayo, *Drosophila melanogaster*, genotóxico, genes de la conducta, glifosato.

Glyphosate: Innocuous?

Abstract

Introduction: Behavior change in the excavator conduct of the larvae of *Drosophila melanogaster* is associated with a gene mutation product of the genotoxic effect of a chemical agent in everyday use in controlling weeds. **Methodology:** Using bioassays utilizing substrates contaminated with glyphosate at different concentrations, it was possible to establish the genotoxic effect of this herbicide listed as innocuous in humans and animals by the Inter-American Drug Abuse Control Commission (CICAD), says a report prepared in response to the request made by the governments of Colombia, the U.S. and the UK, delivered March 31, 2005. **Results:** The Roundup product concentrations recommended for the protection of high quality crops at 3.2% were highly toxic, whereas the recommended concentration to weeds at 1.0% showed obvious behavioral change in *D. melanogaster*. **Conclusions:** The drilling or excavation locus present in *D. melanogaster* encodes the pteridine enzyme biosynthesis responsible for the death of the embryo due to defects in the blastoderm stage. In humans the overexpression of pteridine relates to proliferative diseases and stimulation of cytokines involved in proliferation of erythroid, astrocytes and macrophages.

Keywords: bioassay, *Drosophila melanogaster*, genotoxic, behavioral genes, glyphosate.

O glifosato: inócuo?

Resumo

Introdução: a mudança de comportamento na conduta escavadora da larva de *Drosophila melanogaster* está relacionada com uma mutação génica produto do efeito genotóxico de um agente químico de uso cotidiano no controle das ervas daninhas. **Metodologia:** mediante bioensaios que utilizaram sustratos contaminados com glifosato a diferentes concentrações, foi possível estabelecer o efeito genotóxico deste herbicida catalogado como inócuo em humanos e espécies animais pela Comissão Interamericana para o Controle do Abuso de Drogas (Cicad), segundo relatório preparado em resposta à solicitação formulada pelos governos da Colômbia, dos Estados Unidos e do Reino Unido, entregue no dia 31 de março de 2005. **Resultados:** concentrações do produto Roundup recomendadas para a proteção de cultivos de alta qualidade a 3,2% foram altamente tóxicas, enquanto a concentração recomendada para ervas daninhas a 1,0% mostrou evidente mudança de comportamento em *D. melanogaster*. **Conclusões:** o locus de perfuração ou escavação presente em *D. melanogaster*, codifica para a biosíntese da enzima pteridina responsável pela morte do embrião por defeitos na etapa de blastodermis; em humanos, a sobre-expressão de pteridina se relaciona com enfermidades proliferativas e estimulação de citoquinas envolvidas na multiplicação de eritroides, astrocitos e macrófagos.

Palavras-chave: bioensaio, *Drosophila melanogaster*, genotóxico, genes da conduta, glifosato.

* Magíster (c) en Epidemiología, Universidad del Valle. Coordinador de Investigaciones del Programa de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia, sede Pasto.

Correo-e:
ivan.hernandez@ucc.edu.co

** Estudiante de la Facultad de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia, sede Pasto.

Correo-e:
carlos.cordoba@campusucc.edu.co

*** Estudiante de la Facultad de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia, sede Pasto.

Correo-e:
sergio.aranda@campusucc.edu.co

Recibido: 5 de junio del 2012

Aprobado: 10 de octubre del 2012

Cómo citar este artículo: Hernández-Ramírez, I., Córdoba-Ortega, C. M. y Aranda-Rosero, S. A. (2013). El glifosato: ¿inocuo? *Memorias*, 11(19), 87-94.

Introducción¹

El estudio en el que se basa este artículo se realizó en el Laboratorio de Fisiología de la Universidad Cooperativa de Colombia, sede Pasto, durante el periodo comprendido entre junio del 2010 y mayo del 2011, tiempo durante el cual se analizaron 22 generaciones y cerca de 25 mil individuos pertenecientes a la especie modelo *Drosophila melanogaster*.

Sobre el particular, hace varios años, el médico investigador Kaczewer (2011), de la Universidad de Buenos Aires (Argentina), ha documentado los daños ocasionados por glifosato en humanos y animales. En su artículo “Toxicología del glifosato: riesgos para la salud humana”, Kaczewer describe los efectos adversos en todas las categorías estandarizadas de pruebas toxicológicas de laboratorio, en la mayoría de las dosis ensayadas: toxicidad subaguda (lesiones en glándulas salivales), toxicidad crónica (inflamación gástrica), daños genéticos (en células sanguíneas humanas), trastornos reproductivos (recuento espermático disminuido en ratas; aumento de la frecuencia de anomalías espermáticas en conejos), y carcinogénesis (aumento de frecuencia de tumores hepáticos en ratas macho, y de cáncer tiroideo en hembras).

Las bases de datos generadas mediante el registro individual de prestación de servicios en salud (RIPS) dan cuenta de la situación de cada paciente y, mediante el estudio exhaustivo de estos, se describe la situación observada en las personas que habitan regiones expuestas al glifosato, lo que podría corroborar la información sobre anomalías observadas por los profesionales de la salud que laboran en zonas afectadas por las fumigaciones aéreas.

Ante la dificultad de investigar en personas, en los laboratorios se utilizan organismos modelo² que aunque aparentemente tienen diferencias con los humanos, las aproximaciones generales de sus análisis genéticos son similares y fácilmente adaptables a las de estos. Vale la pena anotar que los avances en genética

humana se deben en gran parte a los trabajos que por más de un siglo vienen desarrollando muchos investigadores con dichos organismos (Griffiths et al., 2008).

Precisamente el MBNL (MuscleBliNd-Like) es un gen mutado —ubicado en 3q_{25.1}—³ responsable de las proteínas *muscleblind-like* implicadas en la distrofia miotónica en humanos, que tiene su homólogo (genes ortólogos: implican homología de procesos) en *Drosophila*: el gen Mbl, que afecta el desarrollo embrional tardío causando la muerte antes de la eclosión de la larva.⁴

Es posible entonces aplicar los métodos ideados para localizar mutaciones morfológicas en el mapa destino de *Drosophila* (organismo modelo), que también se han ampliado a las mutaciones que afectan el comportamiento. La técnica en tales casos es observar la relación entre el carácter particular de comportamiento y los tejidos que quedan separados por un límite de mosaico (Strickberger, 1998).

Tal parece que el locus de perforación o excavación codifica para la biosíntesis de la enzima pteridina (guanosina trifosfato ciclohidrolasa), responsable de la muerte del embrión por defectos en la epata de blastodermo, y en los humanos, la sobreexpresión de la pteridina está involucrada con enfermedades proliferativas, como lo establecen Brew (1990) y Shasckan (1992), y estimulación de citoquinas relacionadas con proliferación de eritroides, astrocitos y macrófagos según Tanaka (1989), Milstein (1985) y Werner-Felmayer (1993), lo que puede explicar algunos de los signos planteados por Kaczewer (2002).

Como es de conocimiento público, en Colombia se está aplicando el glifosato sobre los cultivos ilícitos, y en una concentración hasta 26 veces mayor a la recomendada,⁵ con el agravante de que se le está adicionando el surfactante Cosmo-Flux 411F, el cual puede cuadruplicar la acción biológica del Roundup (nombre comercial del glifosato, producido por la firma Monsanto). A esta lamentable situación se añade algo más: denuncias de que se aplican cuatro, seis, o hasta doce fumigaciones al mismo campo.⁶

1 Artículo resultado del proyecto de investigación “Efecto del glifosato en el comportamiento de *Drosophila melanogaster*” aprobado en el 2010 en la convocatoria de trabajos de grado del Comité Nacional para el Desarrollo de la Investigación (Conadi) y desarrollado por el grupo de investigación “Grupo Interdisciplinario de Investigación en Salud y Enfermedad”.

2 El concepto de organismo modelo hace referencia a análisis genéticos similares a los de los humanos, lo que implica ciclo de vida, nivel de ploidía, tamaño, forma, propiedades genómicas, presencia de plásmidos y transposones naturales.

3 Indica el locus o lugar de ubicación del gen en el cromosoma, en este caso: brazo largo del cromosoma 3, zona dos, subzona cinco punto uno.

4 El gen humano MBNL y el gen de la *Drosophila melanogaster* Mbl son intercambiables funcionalmente (García y Llobell, s.f.).

5 Según el fabricante, Roundup® viene al 74% (74.000 ppm) y debe emplearse al 48% (1,5 a 2,5 L/ha) hasta 62% (1,1 a 1,9 L/ha), pueden encontrarse cantidades equivalentes a la mitad de la concentración en suelo a 70 días.

6 Afirmación que es *vox pópuli* entre campesinos y habitantes de las regiones cercanas a los cultivos de coca.

Por tanto, se deben adelantar estudios basados en la genética toxicológica, disciplina científica que identifica y analiza la acción de un grupo de agentes tóxicos que son capaces de interactuar con el material genético de los organismos (compuestos genotóxicos).

Desde 1927 Hermann Muller demostró de manera inequívoca que las radiaciones ionizantes son capaces de producir alteraciones genéticas en la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y definió las mutaciones como los cambios en la cantidad, cualidad y arreglo de los genes. Muller también desarrolló técnicas cuantitativas para medir en este organismo la proporción de mutaciones inducidas, y llamó la atención de la comunidad científica al sugerir que las radiaciones podrían producir cambios en las células somáticas de los tejidos, y en los que se dividen activamente podrían producirse distintos tipos de cáncer incluyendo las leucemias, esto último según Godoy-Herrera (2001).

Asimismo, las conductas larvales de forrajeo⁷ en *Drosophila* están relacionadas con los genes, lo cual implica una evolución tanto en la conducta simple como en las conductas complejas, así como la existencia de patrones de desarrollo de conductas larvales con la filogenia de las especies del grupo (Godoy-Herrera, 2001).

Tal cambio de conducta en la excavación observada en la superficie del sustrato está involucrado con el desarrollo embriológico de la mosca y, por ende, con procesos relacionados en los humanos (Chen, 1994).

Esta problemática no ha sido descrita únicamente por la información médica, sino que el colectivo de abogados “José Alvear Restrepo” publica en su página web cifras interesantes relacionadas con el impacto de las fumigaciones aéreas con glifosato en el departamento del Putumayo, año 2005, como por ejemplo: problemas respiratorios (964 casos), problemas gastrointestinales (876 casos) y problemas dermatológicos (524 casos), entre otras complicaciones; desafortunadamente no los describe (Restrepo, 2011).

Teniendo en cuenta el polimorfismo conductual originado por la segregación de genes responsables del cambio de conducta excavadora de las larvas (descrito por Godoy-Herrera, 2001), el cual modifica la superficie del sustrato, es posible establecer que existe un efecto toxigénico del glifosato, lo cual corrobora la posición de Kaczewer (2011), que depende de los genes involucrados según la literatura científica (Griffiths et al., 2008; Strickberger, 1998; Rodríguez, 2011).

7 El término forrajeo hace referencia a la excavación que realiza la larva.

Metodología

El estudio es experimental, basado en bioensayos con *Drosophila melanogaster* variedad silvestre, o mosca de la fruta. Es de tipo observacional-descriptivo, en el cual el investigador informa las características de lo observado, interpretando detalladamente lo que vio: larvas provenientes de una unidad reproductiva, compuesta por seis machos y seis hembras de *Drosophila melanogaster* variedad silvestre, que generaban un promedio de 120 imagos, en una puesta, a pocas horas de emerger de la pupa, manteniendo un valor aproximado de 20 huevos por hembra-día. El seguimiento se hizo por 22 generaciones consecutivas.

Los bioensayos se hacen con Roundup, producto fabricado por la multinacional Monsanto y distribuido en Colombia por Cosmoagro, empresa colombiana con sede en Palmira, Valle. El producto se presenta comercialmente por 15 kilos, que representan un 74,4% (744.000 ppm) de sal monoamónica del ácido glifosato (ácido N-[fosfometil] glicina),⁸ y usa el Cosmo-Flux 411F —descrito por Nivia (2011)— como aditivo para aspersión de agroquímicos.

En la Fase I del experimento se buscó identificar las concentraciones letales y subletales del producto, teniendo en cuenta las consideraciones del fabricante, de la siguiente manera:

- Concentración 1: la concentración recomendada en soya de alta calidad es de hasta 3,2 k/ha, lo cual implica diluir 3,2 k en 100 litros de agua obteniendo una solución al 3,2%, que equivale a una concentración de 159.360 ppm.
- Concentración 2: se preparó una concentración normal de aspersión útil en malezas, al 1% (49.800 ppm).
- Concentración 3: se obtiene diluyendo la Concentración 2 en 10 litros de agua para tener 4.980 ppm, concentración cercana a la letal para la mitad de los animales tratados (LC_{50})⁹: 5.000 ppm (en ratas), reportado en el informe de la Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas de América Latina (RAP-AL, 2011).

Para el sustrato o medio de cultivo de las moscas, se preparaban 400 ml para 20 frascos de cultivo (20 ml

8 Muy por encima del recomendado, cuya concentración de glifosato es de 48% en el mismo contenido.

9 La concentración letal al 50% de individuos expuestos (LC_{50}) se mide en mg/L, mientras que la dosis letal media (LD_{50}) se da en mg/kg de peso del individuo.

por frasco, área 78,54 cm²), y después se inoculaban los medios con la concentración a prueba.

Teniendo en cuenta la recomendación del fabricante, en cada medio de cultivo se aplicaron a nivel superficial 7,8 ml, correspondientes a un área de 78,54 cm².

El proceso planteado anteriormente muestra tres concentraciones por generación (G₀, G₁, G₂): Concentración 1, 159.360 ppm; Concentración 2, 49.800 ppm, y Concentración 3, 4.980 ppm. Cada *tratamiento*, como llamaremos a las diferentes concentraciones, contó con tres réplicas, como se puede apreciar en el diagrama representado en la figura 1. Se hizo observación diaria de los adultos desde la siembra hasta la aparición de las pupas (momento en que se extraían los adultos para facilitar el conteo de jóvenes) y conteo de los imagos al día 15¹⁰ para confirmar tamaño poblacional. G₀, G₁, G₂ indican la generación sucesiva de la que se obtienen los nuevos imagos.

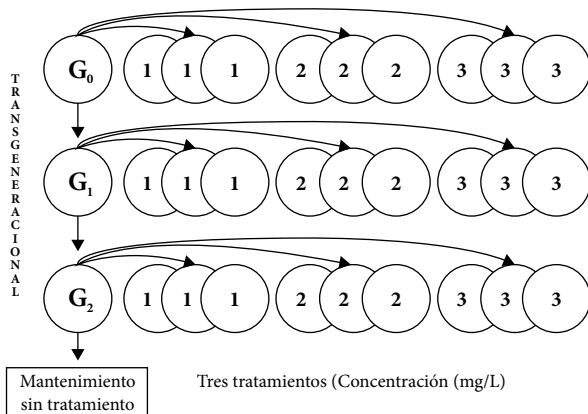


Figura 1. Proceso para comparar concentraciones sugeridas por el fabricante
Fuente: elaboración propia

En la Fase II se compararon durante 20 generaciones subsecuentes las dos concentraciones elegidas como subletal¹¹ (Tratamiento 2 con cinco réplicas: T₂R1,2,3,4,5) e inocua¹² (Tratamiento 3 con cinco réplicas: T₃R1,2,3,4,5) (figura 2). Se procedió de la misma manera que en la Fase I, contando los imagos el día 15, o en su defecto una vez emergieran. En cada frasco se sembró el número preestablecido: 6 hembras y 6 ma-

10 Teóricamente, para el día 15, se contarían los imagos procedentes de dos posturas de cada hembra en la unidad reproductiva, así: 20 huevos/día por hembra, se calcularían entre 240 y 300.

11 Subletal porque la mortalidad observada se encontraba entre 10% y 15%.

12 Inocua porque no se observó mortalidad en ningún momento.

chos, en total 14 frascos repartidos entre “Controles” y “Tratamientos”, y se emplearon 3.360 individuos en las 20 generaciones estudiadas.

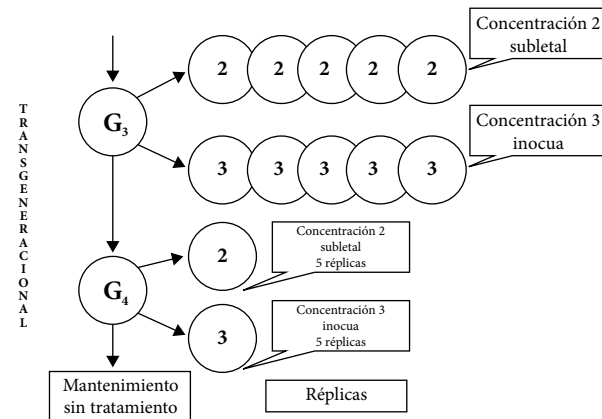


Figura 2. Proceso para observar cambios en el comportamiento de la larva *D. melanogaster* a dos concentraciones de Roundup
Fuente: elaboración propia

A nivel transgeneracional (sucesiones), el mantenimiento de los imagos y adultos se realizó en medio preparado sin Roundup, es decir libre de tóxico, conservando los individuos de cada generación (G₃, G₄, G₅, etcétera) sin tratamiento, con cuatro réplicas para cada generación, lo que permitió realizar observaciones en individuos que actúan como controles y comparar con las cinco réplicas por tratamiento empleado.

De esta manera, se verificó que ninguno de los componentes del medio de cultivo (sustrato o papilla) ejerce el efecto esperado con el tratamiento, es decir, cambios en la superficie del sustrato (montículos).

Resultados

En los últimos años se ha impulsado el estudio de la conducta y el comportamiento social en *Drosophila melanogaster* (Kaidanovich-Beilin et al., 2011; Simón et al., 2011). Es importante el descubrimiento de secuencias nucleotídicas similares en animales segmentados, lo cual indica que la segmentación en muchos grupos puede tener un origen evolutivo común (Strickberger, 1998).

Estas mutaciones conocidas, que afectan el comportamiento en *D. melanogaster*, fueron descubiertas mediante la observación de la relación entre un carácter particular de comportamiento y los tejidos que quedan separados por límite mosaico, como plantean Anholt (2010) y Desroches et al. (2010).

La conducta expresa actividad del sistema nervioso, la cual puede medirse por actividad muscular y glandular. Por otra parte, la neurofisiología también proporciona información útil respecto al funcionamiento del sistema nervioso (Godoy-Herrera, 2001).

Mediante la aplicación de técnicas de inmunofluorescencia, aplicación de enzimas inhibitoras, producción de anticuerpos y microscopia inmunoelectrónica, Chen et al. (1994) demostraron muerte del embrión y división nuclear temprana, lo que sugiere alteraciones en la disyunción cromosómica.

El mismo grupo de investigadores relaciona el evento con el locus *Punch* de la *D. melanogaster* —que codifica la biosíntesis de la pteridina— y demuestran el hecho empleando un inhibidor de la guanosina trifosfato ciclohidrolasa (Chen, 1994; Mackay, 1983).

La pteridina es una proteína perteneciente al grupo de los biocromos que, junto con los carotenoides, presenta pigmentos verdaderos (pteridina: color amarillo o xantoforo), y tiene como precursor el guanosin trifosfato (GTP). Así, la pteridina es un componente del ácido fólico (Pita, 1988), conocido anteriormente como vitamina B9, de gran utilidad en los humanos para la correcta formación de las células sanguíneas (eritrocitos), el metabolismo de purinas y pirimidinas, y la transferencia de grupos monocarbonados (Tefferi y Pruthi, 1994).

La deficiencia de ácido fólico en los humanos se puede manifestar por medio de los siguientes signos y síntomas: anemia megaloblástica, bajo peso, falta de apetito, debilidad, palidez, fatiga, náuseas, diarrea, mal humor, depresión, inflamación y llagas linguales, úlceras bucales, taquicardia, retraso del crecimiento y cabello canoso. Algunos estudios han demostrado efecto teratogénico relacionado con la deficiencia del ácido fólico, como defectos de cierre del tubo neural, daños en la formación de la médula espinal y el cerebro, anencefalia, espina bífida, encefalocele, paladar hendido y labio leporino (Gaby, 1992).

Según indicaciones del fabricante, las concentraciones del producto dependen del tipo de cultivo, in-

formación con la que se encontró la concentración máxima letal observada. En aquellos cultivos susceptibles al ataque de malezas, la aspersión implica concentraciones altas, de hasta 3,2%, es decir 159.360 ppm (Roundup, 2011). En el estudio se observó que con esta concentración (denominada Concentración 1 o Tratamiento 1 - tres réplicas) ocurrió una catástrofe, pues no sobrevivió ningún imago colonizador del medio, por lo que podemos considerarla como la concentración máxima letal (CML).

La Concentración 2 (Tratamiento 2), preparada en 1% (49.800 ppm) y recomendada para cultivos menos susceptibles, tuvo una participación más benévola: en los 9 frascos emergieron 1.811 imagos, de los cuales 221 murieron a las pocas horas, es decir el 12% (subletal comparada con la Concentración 1).

La comparación con el grupo de individuos que emergieron de los cultivos no contaminados es dramática: 2.764 total en 9 frascos, no hubo muertes, sugiriendo que la disminución de la población en un 42% se debió al efecto letal del glifosato sobre larvas sensibles.

La Concentración 3 (Tratamiento 3, preparado a partir de la Concentración 2), reduciendo el producto activo al 10% (4.980 ppm), no produjo muertes. Emergieron 2.718 imagos, cifra muy semejante a los emergidos en el cultivo sin glifosato (2.764), con una diferencia de 0,016% (16 muertes por cada 1.000 nacidos vivos), que se puede atribuir al efecto del glifosato; sin embargo, es una mortalidad baja, lo que permite llamar “inocua” a esta concentración. El resumen de esta información se encuentra en la tabla 1.

En la G_0 es evidente la catástrofe con los adultos sembrados en el Tratamiento 1. La mortalidad en el Tratamiento 2, sin lugar a dudas depende de la presencia de glifosato en el medio; sin embargo, en este momento del estudio, el Tratamiento 3 no referencia efecto del glifosato, pues como se observa, nacieron más individuos que en los medios libres de Roundup.

En la G_1 observamos por segunda vez mortalidad total de los imagos sembrados en el Tratamiento 1,

Tabla 1. Comportamiento de los tres tratamientos en tres generaciones (G_0 , G_1 , G_2)

Generación	Control		Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3		Total	
	Nacidos vivos	Muertes	Nacidos vivos	Muertes	Nacidos vivos	Muertes	Nacidos vivos	Muertes	Nacidos vivos	Muertes
G0	917	0	0	0	704	64	931	0	2.552	64
G1	955	0	0	0	609	144	915	0	2.479	144
G2	892	0	0	0	498	13	872	0	2.262	13
Total	2.764	0	0	0	1.811	221	2.718	0	7.293	221

Fuente: elaboración propia

y corroboramos la actividad letal del glifosato con la mortalidad observada en Tratamiento 2, que en esta oportunidad supera el pasado ensayo en 80 individuos muertos. Analizamos el comportamiento del Tratamiento 3, que muestra una reducción en el número de individuos respecto a la anterior generación, lo que sugiere efecto letal del glifosato sobre el 4% de los individuos.

La G_2 sugiere como observación final la condición de concentración letal para el Tratamiento 1 y sus réplicas, es decir, la concentración de 3,2% (159.360 ppm) es la concentración máxima letal (CML).

Por la mortalidad observada, que no alcanza al 50% de los individuos, se puede pensar que la Concentración 2 del 1% (49.800 ppm), es mínima letal, o subletal; de igual manera, la Concentración 3 al 0,1% (4.980 ppm), debido a que no causó muertes, se denomina "inocua", razón por la cual ambas concentraciones permitirán evaluar la Fase II del estudio.

Para la Fase II, se utilizan cinco réplicas por tratamiento durante 20 generaciones subsecuentes, lo cual permitirá hacer una comparación en el comportamiento sin glifosato en el medio.

El cambio de comportamiento de la *D. melanogaster*, se relaciona con la formación de lomas en la superficie del sustrato, posiblemente por exacerbación de la expresión génica excavatoria, como se puede observar en la figura 3, el día séptimo de la colonización de los imagos, cinco días después de la eclosión larval y cuatro días antes de la pupación.

Los montículos (figura 3) que se observan en la parte inferior izquierda del frasco de cultivo, sobre el sustrato, muestran la exacerbación de la conducta excavadora de la larva, inducida por el glifosato.

Es posible, además, observar la conducta excavadora normal de las larvas, las cuales elaboran cavernas claramente visibles en la zona media del sustrato. En el mismo medio también pueden verse larvas que se desplazan por la superficie indicando la inexistencia de la conducta excavadora.

Esta observación es la que no permite usar como criterio relevante la conducta excavadora o no excavadora de las larvas, puesto que en el mismo medio existe la variabilidad genética (figura 4).

Considerando la formación de montículos en la superficie del medio como criterio que soporta el cambio de conducta de la larva, en la tabla 2 podemos ver por generación y por tratamiento estudiado, el número de medios que cambiaron, y comparar con los medios no inoculados, cuya situación fue es-



Figura 3. Medio inoculado con glifosato. Muestra montículos y larvas alargadas de color blanco
Fuente: elaboración propia



Figura 4. Presencia de larvas no excavadoras en la superficie y excavadoras (pared inferior del frasco)
Fuente: elaboración propia

table en todas las generaciones (ningún cambio, ningún muerto).

El número de individuos obtenidos de las cuatro réplicas-control (C_1, C_2, C_3, C_4) fue de 24.426. Vale la pena anotar que el C_1 se utilizó para restituir la nueva generación: C_1, C_2, C_3 y C_4 con las réplicas de T_2 y T_3 (fueron en total 20 generaciones y 3.360 imagos, 168 por generación). El grupo control C_1 produjo en las 20 generaciones un total de 6.160 imagos. La cifra de comparar con los tratamientos fue 18.266, correspondiente a la producción de las réplicas C_2, C_3, C_4 , no se observó mortalidad o cambio alguno en la conducta de la larva, la superficie del medio quedó sin alteraciones.

En cuanto al Tratamiento 2, concentración denominada subletal (al 1%, 49.800 ppm), se obtuvieron 13.505 imagos provenientes de 5 réplicas en 20 genera-

Tabla 2. Resumen de la Fase II del estudio

Generación	Tratamiento	Cambio	Sin cambio	Nacidos vivos	Muertos
G ₃	T ₂ (5 réplicas)	5	0	1.359	37
	T ₃ (5 réplicas)	3	2	1.449	5
G ₄	T ₂ (5 réplicas)	3	2	1.229	64
	T ₃ (5 réplicas)	3	2	1.329	0
G ₅	T ₂ (5 réplicas)	4	1	1.110	28
	T ₃ (5 réplicas)	4	1	1.558	2
G ₆	T ₂ (5 réplicas)	4	1	1.012	48
	T ₃ (5 réplicas)	2	3	1.384	9
G ₇	T ₂ (5 réplicas)	5	0	778	57
	T ₃ (5 réplicas)	3	2	1.351	9
G ₈	T ₂ (5 réplicas)	4	1	882	30
	T ₃ (5 réplicas)	2	3	1.164	0
G ₉	T ₂ (5 réplicas)	5	0	678	45
	T ₃ (5 réplicas)	4	1	1.331	4
G ₁₀	T ₂ (5 réplicas)	3	2	629	49
	T ₃ (5 réplicas)	3	2	1.390	3
G ₁₁	T ₂ (5 réplicas)	4	1	568	0
	T ₃ (5 réplicas)	5	0	1.223	0
G ₁₂	T ₂ (5 réplicas)	3	2	712	35
	T ₃ (5 réplicas)	4	1	1.082	3
G ₁₃	T ₂ (5 réplicas)	2	3	669	27
	T ₃ (5 réplicas)	5	0	1.064	0
G ₁₄	T ₂ (5 réplicas)	5	0	537	36
	T ₃ (5 réplicas)	2	3	1.098	1
G ₁₅	T ₂ (5 réplicas)	5	0	555	0
	T ₃ (5 réplicas)	3	2	1.182	0
G ₁₆	T ₂ (5 réplicas)	4	1	437	9
	T ₃ (5 réplicas)	5	0	1.040	1
G ₁₇	T ₂ (5 réplicas)	4	1	441	24
	T ₃ (5 réplicas)	2	3	1.096	0
G ₁₈	T ₂ (5 réplicas)	5	0	558	20
	T ₃ (5 réplicas)	5	0	1.085	0
G ₁₉	T ₂ (5 réplicas)	5	0	359	45
	T ₃ (5 réplicas)	4	1	1.110	0
G ₂₀	T ₂ (5 réplicas)	5	0	357	15
	T ₃ (5 réplicas)	5	0	1.164	0
G ₂₁	T ₂ (5 réplicas)	4	1	441	14
	T ₃ (5 réplicas)	4	1	1.118	0
G ₂₂	T ₂ (5 réplicas)	5	0	194	0
	T ₃ (5 réplicas)	2	3	909	16
Totales	200	154	46	36.786	636

Fuente: elaboración propia

ciones; las bajas, 583, representan el 4%. Pero para esta fase el criterio relevante es el cambio en la superficie del sustrato que indica alteración en la conducta excavadora, 84 de 100 réplicas presentaron el cambio (84%).

El Tratamiento 3, correspondiente a la concentración “inocua” (0,1%, 4.980 ppm), obtuvo 23.917 imágos provenientes de 5 réplicas en 20 generaciones, 53 bajas (0,003%). Cambio en la superficie del medio se observó en 70 de 100 réplicas (70%).

Conclusiones

La concentración recomendada por el fabricante del producto Roundup para cultivos como soya, en eliminación de malezas: 3,2% (159.360 ppm), resultó ser una concentración máxima letal (CLM) al eliminar al 100% de los adultos de *Drosophila melanogaster* sembrados en el medio inoculado.

Concentraciones recomendadas como normales: 1% (49.800 ppm), mostraron un comportamiento su-

bletal, al eliminar a 30 de cada 1.000 nacidos vivos y lograr un descenso en el número de imagos de un 30% aproximadamente, así como un 84% de los cultivos cambió en el comportamiento, lo que sugiere reducción en el número de larvas por su actividad letal en la fase embrionaria (huevo).

La concentración aparentemente inocua: 0,1% (4.980 ppm), aunque presentó una actividad letal mínima, el 70% de los medios de cultivo mostraron cambio en el comportamiento de la larva.

Las anteriores observaciones sugieren la potencial actividad genotóxica del Roundup (glifosato), en el organismo modelo *Drosophila melanogaster*.

Describir con seguridad un criterio como excavar, puede generar ciertas contradicciones entre los observadores, pues depende del número de larvas que se encuentren en la superficie, y tomar una decisión con base en este valor es difícil, puesto que aunque se observe mucha porosidad, cambio en el color de la superficie del sustrato y las proyecciones hacia el fondo del medio, también hay muchas larvas que se desplazan por la superficie.

Referencias

- Anholt, R. R. (2010). Making scents of behavioural genetics: lessons from *Drosophila*. *Genetic Research*, 92(5-6), 349-359.
- Brew B. J., Bhalla, R. V., Schwartz, M., McArthur, J. y Price R.W. (1990). Cerebrospinal fluid concentrations of neopterin in human immunodeficiency virus infection. *Ann Neural*, 28, 556-560.
- Chen, X. et al. (1994). Locus de perforación en *Drosophila melanogaster* necesario para división de blastodermo. *Jour of Cell Science, Great Britain*, 107, 3501-3513.
- Desroches, C. E. et al. (2010). Quantitative trait locus mapping of gravitaxis behavior in *Drosophila melanogaster*. *Genetics Research*, 92(3), 167-74.
- Gaby, S. K. y Bendich, A. (1992). Folic acid. *Annual Review of Nutrition*, 12(9), 279-298.
- García y Llobell (s.f.). Recuperado de <http://www.um.es/estructura/equipo/vic-estudiantes/arquimedes2003/pdf/005-AmparoGarcia-Carmen%20Llobell.pdf>
- Godoy-Herrera, R. (2001). La conducta de larvas de *Drosophila* (Diptera; Drosophilidae): su etología, desarrollo, genética y evolución. *Revista Chilena Historia Natural*, 748(1), 55-64. Recuperado de http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-078X2001000000011
- Griffiths, A. et al. (2008). *Genética*. (9ª ed.). España: McGraw-Hill.
- Kaczewer J. (2011). Toxicología del glifosato: Riesgos para la salud humana. *Ambiente, ecología y naturaleza*. Recuperado de www.ecoportal.net/temasEspeciales/Salud
- Kaidanovich-Beilin, O. et al. (2011). Assessment of social interaction behaviors. *Journal of visualized experiments*, 25(48), 2473.
- Mackay W. J. y O'Donnell, J. M. (1983). A genetic analysis of the pteridine biosynthetic enzyme, guanosine triphosphate cyclohydrolase, in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 105(1), 35-53.
- Milstein C. (1985). From the structure of antibodies to diversification of the immune system. *EMBO J*, 4, 1083-1092.
- Nivia, E. (2011). Cosmo flux 411f coadyuvante adicionado al Roundup Ultra en la erradicación forzosa de cultivos ilícitos en Colombia. Recuperado de www.usfumigation.org
- Pita, R. G. (1988). Acido fólico y vitamina B₁₂ en la nutrición humana. *Revista Cubana de Alimentos y Nutrición*, 12(2), 107-119.
- Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas de América Latina (RAP-AL). (2011). *Informe Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas de América Latina (RAP-AL)*. Recuperado de www.rap-la.org
- Restrepo, J. A. (2011). *Impacto de las fumigaciones con glifosato*. Recuperado de www.colectivodeabogados.org
- Rodríguez, R. (2011). Toxinas ambientales y sus efectos genéticos. *Ciencia para todos*. Recuperado de www.bibliotecadigital.ilce.edu.mx
- Monsanto. (2011). *Ficha técnica del producto Roundup®*. Recuperado de www.rap-al.org
- Shaskan, E., Brew, B., Rosenblum, M., Thompson, R. y Price R. (1992). Increased neopterin levels in brain of patients with human HIV type I infection. *J Neurochem* 59, 1541-1546.
- Simón, A. F. et al. (2011). A simple assay to study social behavior in *Drosophila* measurement of social space within a group. *Genetics Brain and Behavior*, 10(111), 1601.
- Strickberger, M. (1998). *Genética*. (3ª ed.). España: Omega, S.A.
- Tanaka, K., Kaufman, S. y Milstien, S. (1989). Tetrahydrobiopterin, the cofactor for aromatic amino acid hydroxylases, is synthesized by and regulates proliferation of erythroid cells. *ProcNatlAcadSci U S A*. Aug;86(15), 5864-5867. [PMC free article] [PubMed]
- Tefferi, A. y Pruthi, R. L. (1994). The biochemical basis of cobalamin deficiency. *Clinic proceeding*, 69(2), 181-186.
- Werner-Felmayer, G., Golderer, G., Werner, E., Gröbner, P. y Wachter, H. (1994). Pteridinebiosynthesis and nitric oxide synthase. *Physarumpolycephalum. Biochem J*. 304(1), 105-111.