

Comunicación Técnica

## Toxicidad crónica en ratones del herbicida Dicamba y su derivado 2-metoxi-3,6-diclorobenzaldoxima.

Artemisa Romero,\*<sup>1</sup> Guillermo James,<sup>1</sup> Mineko Shibayama,<sup>2</sup> Kazuko Aoki,<sup>1</sup> Luis Jiménez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco, Calzada del Hueso # 1100, Col. Villa Quietud. Delegación Coyoacán, C.P. 04960, México, D. F. E-mail: rom47@cueyatl.uam.mx

<sup>2</sup> Departamento de Patología Experimental, CINVESTAV, IPN, Av. IPN, # 2508, esq. Calz. Ticomán, C.P. 07000, México, D. F.

Recibido el 8 de julio del 2002; aceptado el 6 de febrero del 2003

**Resumen.** Se estudió el efecto tóxico del herbicida Dicamba (ácido 2-metoxi-3,6-diclorobenzoico) y de su derivado oxima (2-metoxi-3,6-diclorobenzaldoxima) por administración crónica en ratones, a dosis de 0.20g / kg de Dicamba y 0.49 o 0.83 g de oxima / kg de peso corporal, durante dos meses dos veces por semana. Por observación directa tanto del aspecto físico como del comportamiento de los animales, se vio que el herbicida Dicamba les ocasionó depresión, pero se recuperaron rápidamente; sin embargo, la oxima los debilitó paulatinamente y además, a dosis alta desarrollaron un absceso piógeno encapsulado. Estudios histopatológicos de hígado y de riñón de los ratones tratados tanto con el herbicida como con su derivado, mostraron severos daños en los tejidos.

**Palabras clave:** Herbicidas, Dicamba, toxicidad crónica.

**Abstract.** Toxic effect of herbicide Dicamba (2-methoxy-3,6-dichlorobenzoic acid) and its derivative oxime (2-methoxy-3,6-dichlorobenzaldoxime) was studied, for chronic dosing on mice at 0.20 g / kg of Dicamba, 0.49 and 0.83 g / kg of oxime, during two months, two times a week. By direct observations of animal aspect and behavior: they depressed at the start, but a few minutes after Dicamba dosing, they recovered completely; however, they weaken gradually by oxime application, and also, at high dose, they developed an encapsulated pyogenic abscess. Histopathologic studies of hepatic and renal tissue, of both, Dicamba and oxime treated mice reveled severe tissular damage.

**Key words:** Herbicides, Dicamba, Chronic toxicity.

### Introducción

El uso de herbicidas y plaguicidas para combatir los daños causados por la invasión de plagas tanto de origen animal como vegetal [1], se ha incrementado en los últimos años tanto en México como en otras partes del mundo, ya que las pérdidas ocasionadas por éstas en la agricultura han sido cuantiosas, en México alcanzan el 30% [2].

Existen diversos métodos para eliminar plagas y uno de los métodos de mayor éxito en la protección de los cultivos, es la aplicación de herbicidas de preemergencia o postemergencia, para controlar el desarrollo de las malezas.

Los herbicidas auxínicos cuya actividad se basa en el principio de síntesis letal [3], son sustancias que tienen poca o ninguna actividad biológica, pero ésta se activa mediante enzimas vegetales, al transformar ésteres, amidas, nitrilos de ciertos indoles y fenóxidos, al ácido carboxílico correspondiente dentro de la planta y de este modo son los causantes de la destrucción de las malezas [4].

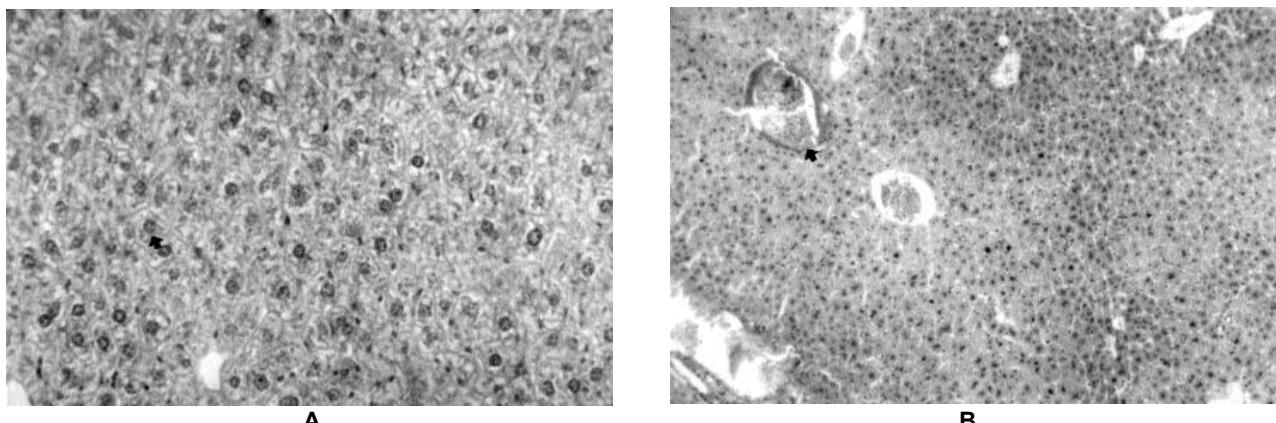
En los años 40 se desarrollaron los herbicidas auxínicos que contienen el grupo fenoxi, se han utilizado ampliamente en los Estados Unidos de Norteamérica y otros países, debido a su propiedad para eliminar hierbas de hoja ancha [5]. Sin

embargo, estos mismos pueden causar daños irreversibles tanto a los cultivos de interés, como a los animales y al hombre mismo [6].

El herbicida comercial Dicamba y tres derivados del mismo sintetizados en la UAM [7] se probaron biológicamente y se determinó su efecto a diferentes dosis y tiempos, sobre la germinación y el desarrollo de cultivos de frijol (*Phaseolus vulgaris*). Se encontró que tanto el herbicida comercial como uno de los derivados (aldehído) afectaban el desarrollo de dichos cultivos, mientras que, en el caso de los otros derivados (oxima y alcohol), no ocurrió así [8].

Se efectuó un estudio sobre el tejido celular de cultivos de frijol tratados con los herbicidas. El estudio sugirió que el alcohol y la oxima son buenos candidatos como herbicidas para cultivo de frijol, pues no causaron daño aparente [9].

Por estudios toxicológicos preliminares, realizados al herbicida comercial Dicamba (ácido 2-metoxi-3,6-diclorobenzoico) y tres derivados: alcohol (Alcohol 2-metoxi-3,6-diclorobencílico), aldehído (2-metoxi-3,6-dicloro-benzaldehído) y oxima (2-metoxi-3,6-diclorobenzaldoxima), usando animales de experimentación para determinar las dosis letales 50 (DL<sub>50</sub>), se llegó a la conclusión que tanto el derivado alcohólico como el aldehídico, resultaron ligeramente más tóxicos



**Fig. 1.** Análisis morfológico de tejido hepático de animales tratados durante 2 meses con una dosis de 0.83 g / kg de oxima y teñidos con hematoxilina-eosina. (A) Testigo, 425X, (↑) hepatocitos normales. (B) Oxima, 215X, (↑) congestión vascular considerable, con zonas de isquemia.

**Tabla 1.** Resumen de los resultados.

Herbicida	Dosis (g / kg)	Número de animales	Animales muertos	Observación directa	Ánalisis histopatológico*
Control	-	33	18 %	Normal	Normal
Dicamba	0.20	26	33 %	Reacción adversa durante aplicaciones de herbicidas y posterior recuperación	Tanto el hígado como el riñón muy dañados
Oxima	0.49	15	20 %	Debilitamiento progresivo ligero, sin un daño notorio al final del experimento	Hígado: congestión vascular ligera. Riñón: aparentemente normal
Oxima	0.83	20	25 %	En varios animales se observó después de la sexta semana pérdida drástica de peso y el desarrollo de un absceso piógeno	Dependiendo del ratón, se observaron daños de moderados a graves en la mayoría de los tejidos, principalmente en hígado y riñón

\*Los estudios histopatológicos se realizaron únicamente seleccionando al azar de 2 a 3 animales

( $DL_{50} = 0.49$  y  $0.83$  g / kg de peso corporal respectivamente) que el Dicamba, ( $DL_{50} = 1.39$  g / kg), mientras que el derivado oxima no resultó letal en el rango de dosis estudiadas, pero a la dosis más alta experimentada de 2.3 g / kg, les indujo a varios ratones el desarrollo de un nódulo lipomatoso debajo de la pata delantera izquierda cuando se observaron durante varios días [10].

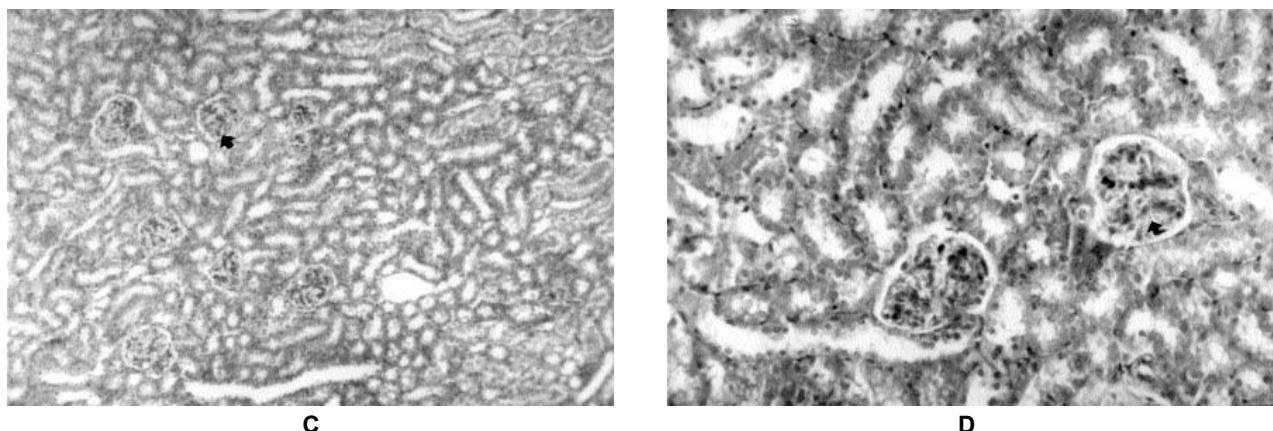
Por esta razón, se llevaron a cabo experimentos con administración crónica de oxima durante dos meses, para comprobar si realmente este último compuesto es menos dañino que el Dicamba y descartar la posibilidad de que se acumule en el organismo.

## Resultados y discusión

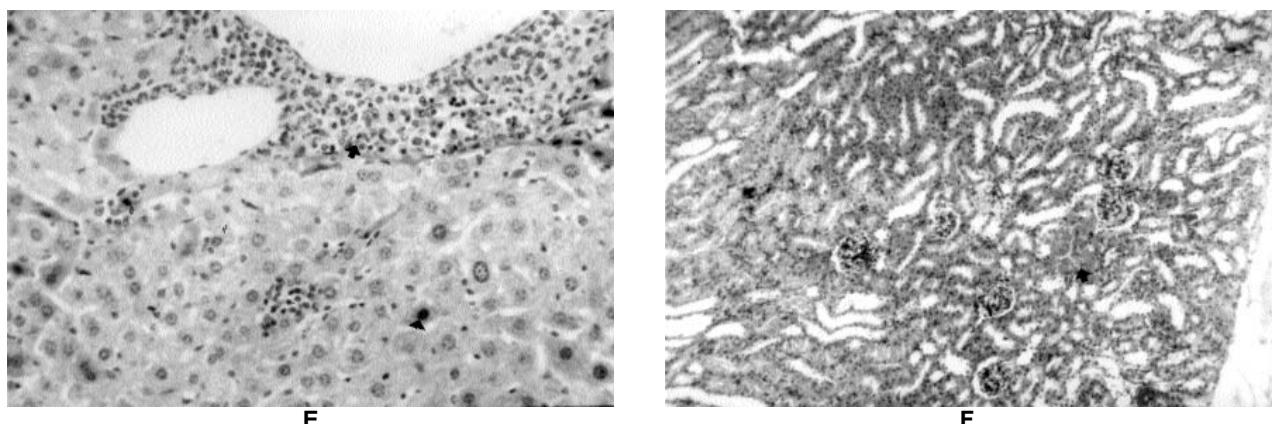
**Observaciones directas.** Durante el periodo de experimentación, los animales del grupo control que recibieron únicamente el aceite de cacahuate, no sufrieron alteración ni en su comportamiento, ni en su aspecto físico. De los 33 ratones utilizados (Tabla 1), murieron alrededor del 18 % en el transcurso de 2 meses, por diferentes causas.

Los animales tratados con dosis de 0.20 g / kg del herbicida Dicamba, manifestaron calambres en sus miembros posteriores en el momento de la administración de la muestra, de los cuales se recuperaron rápidamente y tanto su comportamiento como su aspecto físico a lo largo de la experimentación se mantuvieron aparentemente normales. De los 26 ratones tratados (Tabla 1), murieron el 33 % en un periodo de 2 meses.

El grupo de ratones que recibieron la dosis de 0.49 g / kg de peso de oxima, sufrió depresión ligera, sin embargo, tanto su comportamiento como su aspecto físico posterior a la administración del herbicida fueron comparables a los del grupo control. No así, los animales del grupo que fue tratado con la dosis de 0.83 g / kg de peso, los cuales se deprimieron más, se debilitaron gradualmente y alrededor de la sexta semana de tratamiento, la pérdida de peso que sufrieron fue notoria y se les empezó a desarrollar un absceso piógeno a varios de ellos, y aparentemente, dependiendo de la condición del animal, el absceso aumentó de tamaño hasta adquirir una dimensión de 2 cm de altura x 2 cm de ancho y 1.5 cm de profundidad. Algunos de ellos empezaron a supurar y otros fueron reabsorvidos por el organismo hasta desaparecer completamente



**Fig. 2.** Fotomicrografías de cortes transversales de tejido renal de animales tratados crónicamente con oxima y teñidos con hematoxilina-eosina. C) Testigo, 215X (↑) glomérulo. D) Oxima, 425X, (↑) hiperplasia glomerular.



**Fig. 3.** Tejido hepático (E) con Dicamba 425X. Reacción inflamatoria aguda periportal. Hepatocitos eosinófilos con núcleos picnóticos. Tejido renal (F) con Dicamba 215X, (↑) congestión vascular con reacción inflamatoria ligera.

cuando se suspendió la administración del herbicida. Los decesos presentados en estos grupos fueron del 20 % y 25 %, respectivamente (Tabla 1).

**Observaciones histopatológicas.** Los estudios realizados principalmente en hígado y en riñón de ratones tratados con 0.83 g / kg de oxima (Fig. 1 y Fig. 2, respectivamente), mostraron que este derivado dañó estos tejidos en magnitud de moderada a grave, es dependiente de la dosis recibida y de la condición del animal, ya que al parecer se trata de un compuesto que se va acumulando en los tejidos y/o su efecto es sumatorio e irreversible. Con respecto al resto de los tejidos analizados: intestino delgado, pulmón, absceso y tejidos adyacentes, resultaron igualmente muy dañados en los animales tratados con esta dosis de oxima.

En forma similar, por análisis histoquímico, los ratones tratados durante dos meses con el Dicamba, mostraron serias alteraciones tanto en hígado como en riñón a pesar de que el

aspecto de los tejidos estudiados, así como la apariencia física del animal completo resultaron normales.

## Parte experimental

Se utilizaron ratones blancos CD-1 hembras, entre 20 y 25 g de peso corporal, 12 animales por caja. Tanto los controles como los experimentales se mantuvieron en las mismas condiciones ambientales y de alimentación.

*Preparación de las muestras.* Ambos herbicidas se disolvieron en aceite de cacahuate a las concentraciones adecuadas para aplicarse un volumen de 0.3 mL por ratón. En el momento de utilizarse se calentaron ligeramente en baño María, cuidando de no subir la temperatura a más de 40 °C.

*Tratamiento y observación.* Los herbicidas se administraron por vía oral, por medio de una aguja de tubo curvo de acero

inoxidable con punta redondeada (20 / 38 mm, Fisher Scientific), a las dosis de 0.47 g / kg y 0.83 g / kg de oxima y 0.20 g / kg de Dicamba (No se utilizó la dosis de Dicamba comparativa de 0.47 g / kg de oxima, debido a que a esta dosis mueren alrededor del 33 % de los animales después de la primera administración). Simultáneamente al grupo control se le administró el mismo volumen del vehículo.

Se trataron durante dos meses, dos veces por semana, registrándose diariamente los cambios en su comportamiento, aspecto físico y reacción ante su agresor, así como el tiempo de recuperación.

Al término del tratamiento, se sacrificaron los animales para llevar a cabo los estudios histopatológicos de hígado y riñón, principalmente. En los casos en que los daños causados por los herbicidas fueron evidentes, se analizaron además del hígado y el riñón los siguientes tejidos: intestino delgado, pulmón, absceso y tejidos adyacentes.

**Estudios histológicos.** Las muestras libres de tejido contaminante, se cortaron y fijaron en solución de formaldehído al 10 %, y se procesaron por inclusión convencional en parafina y tinción con hematoxilina eosina para su posterior análisis al microscopio Nikon Optiphot [11].

**Herbicidas.** El ácido 2-metoxi-3,6-diclorobenzoico se extrajo de una muestra del herbicida comercial Banvel 480, la cual fue proporcionada por el Laboratorio Novartis. La 2-metoxi-3,6-diclorobenzaldoxima fue sintetizada y purificada en el laboratorio.

## Conclusiones

A la dosis de 0.20g / kg de Dicamba, aparentemente no ocasionó un daño grave, sin embargo por análisis histopatológico, se observó que sí presentan lesiones importantes tanto en hígado como en riñón.

Con la oxima, a dosis de 0.83 g / kg de peso (Dosis alta), se observan daños mayores.

A pesar de los serios daños causados a dosis alta del derivado oxima, a una dosis comparativa baja de 0.20 g / kg, el herbicida comercial Dicamba resultó ser más tóxico en este estudio.

## Referencias

1. Sanders, H. J. *Chem. Eng. News.* **1981**, 59, 20-35.
2. Rodríguez, T. M. *Plantas Nocivas y Cómo combatirlas.* Ed. Limusa, México, **1990**, 19-23.
3. Wain, R. L. *Los reguladores de las plantas y los insectos.* CONACyT, México, **1979**, 13-25
4. Rius, A. C.; Wain, R. L. *Ann. Appl. Biol.* **1978**, 88, 288 .
5. Calvin, D. L. *Florida's Organo-Auxin Herbicide Rule.* Agronomy Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, **1996**.
6. Cremlin, R. *Plaguicidas Modernos y su Acción Bioquímica.* Ed. Limusa, México, **1992**, 11-26.
7. Romero, M. A.; James, M. G.; Miramontes, F. B.; Haro, C. J. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **1995**, 39, 15-22.
8. Romero, M. A.; James, M. G.; Juárez O. C.; Miramontes, F. B.; Haro, C. J. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **1997**, 41, 164-170.
9. James, M. G.; Romero, M. A.; Haro, C. J.; Sandoval, E. *Información Tecnológica,* **2001**, 12, 27-33.
10. Aoki, M. K.; Romero, M. A.; James, M. G.; Juárez, O. C.; Pieza, R. G.; Haro, C. J. *Abstract Book, The Fifth Chemical Congress of North America*, 11-15 de noviembre de **1997**, Cancún, Quintana Roo, México.
11. Shibayama, M.; Campos, R. R.; Ramírez, R. A.; Flores, R. L.; Espinosa, T. M.; Martínez, P. A.; Tsutsumi, V. *Exper. Parasitology*, **1998**, 88, 20-27.