



7^{mo}
Congreso de
Medio Ambiente

Actas 7mo Congreso de Medio Ambiente AUGM
22 al 24 de mayo de 2012. UNLP. La Plata Argentina

EFECTO DE LOS RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS PRESENTES EN SUERO DE LECHE SOBRE CULTIVOS AGRÍCOLAS CARACTERÍSTICOS DE ARGENTINA

**Effect of antibiotic residues present in milk whey on typical Argentinian
agricultural crops**

Jeremías Zimmermann^a, Agostina N Binci^a, Orlando Guillermo Nagel^a, María Pilar
Molina^b, Rafael Lisandro Althaus^{a*}

^aDpto. Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral,
R.P.L. Kreder 2805, (3000) Esperanza, Santa Fe, Argentina. ralthaus@fcv.unl.edu.ar

^bInstituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de
Vera, s/n, (46022) Valencia, España. pmolina@dca.upv.es

*Autor para correspondencia: +54 03496 420639

Palabras clave: Inhibidor, semilla, antimicrobiano, germinación, raíz

Keywords: Inhibitor, seed, antimicrobial, germination, root

Título abreviado: Efecto de residuos de antibióticos en suero de leche sobre cultivos

ABSTRACT

Antibiotic residues in milk have adverse effects on consumer health and may even inhibit industrial fermentation processes. The legislation prohibits the use of such milk by dairy industries to avoid possible contamination in the food chain. Therefore, a common practice is to dispose it on soils due to its organic content. In order to assess the impact that may result in the use of serum antibiotic residues, we analyzed the effects of different concentrations of enrofloxacin, kanamycin, penicillin, and tylosin on the rate of seed germination and root length of sunflower (*Helianthus annuus*), corn (*Zea mays*), soybean (*Glycine max*), wheat (*Triticum aestivum*) and sorghum (*Sorghum sp*) for 12 hours during 6 days. To do so, were placed duplicates of 50 seeds lots of each culture in plastics prouters with absorbent paper impregnated with dilutions of serum containing 0, 1, 10, 100 and 1000 times the Maximum Residue each of the antibiotics tested. Phytotoxic effects were observed for 1 mg.l⁻¹ (soybean) and 0,1 mg.l⁻¹ (soybean, wheat) of enrofloxacin, 10 mg.l⁻¹ (soybean, sorghum, wheat) and 0,04 mg.l⁻¹ (sunflower, sorghum, wheat) and 0,004 mg.l⁻¹ (corn) of penicillin. We conclude that milk whey containing antibiotic residues should not be poured on soils due to the negative effect it has on the normal development of crops.

RESUMEN

Los residuos de antibióticos presentes en la leche producen efectos nocivos sobre la salud del consumidor e incluso pueden inhibir los procesos fermentativos industriales. La legislación vigente prohíbe el ingreso de leche con residuos a la industria, a fin de evitar una posible contaminación en la cadena alimentaria. Por ello, una práctica habitual consiste en disponerla en suelos debido a su contenido orgánico. Con el propósito de evaluar el impacto que puede ocasionar el uso de suero con residuos de antibióticos, se analizaron los efectos de diferentes concentraciones de enrofloxacina, kanamicina, penicilina y tilosina sobre la velocidad de germinación de semillas y la longitud de las raíces de girasol (*Helianthus annuus*), maíz (*Zea mays*), soja (*Glycine max*), sorgo (*Sorghum sp*) y trigo (*Triticum aestivum*) a lo largo de 6 días con una frecuencia de análisis de 12 horas. Para ello, se dispusieron de duplicados de lotes de 50 semillas de cada cultivo en germinadores plásticos con papel absorbente impregnados con disoluciones de suero que contenían 0, 1, 10 100 y 1000 veces el Límite Máximo de

Residuo de cada uno de los antibióticos estudiados. Se observaron efectos fitotóxicos para concentraciones de de 1 mg.l⁻¹ (soja) y 0,1 mg.l⁻¹ (sorgo y trigo) de enrofloxacin; 10 mg.l⁻¹ (soja, sorgo y trigo) de kanamicina; 0.04 mg.l⁻¹ (girasol, sorgo y trigo) y 0.004 mg.l⁻¹ (maíz) de penicilina.. A modo de síntesis, se recomienda no verter suero conteniendo residuos de antibióticos a los suelos, debido al efecto negativo que produce sobre el normal desarrollo de los cultivos.

INTRODUCCIÓN

La utilización de antibióticos (ATBs) en la medicina veterinaria representa una práctica ampliamente difundida (McEwen *et al.*, 1991). En el ganado vacuno productor de leche, las principales enfermedades infecciosas son mastitis, metritis, neumonías, enteritis y afecciones podales (Zwald *et al.*, 2004; Sawant *et al.*, 2005). Para el tratamiento de estas patologías, es frecuente el uso de ATBs. Aquellos empleados para el tratamiento de las infecciones de la ubre, son muy comunes de encontrar en la leche (Miller, 1995).

Entre los riesgos toxicológicos que pueden producir los residuos de ATBs sobre la salud de los consumidores se destacan: desencadenamiento de alergias por sensibilidad que, en casos extremos pueden llevar a la anafilaxia, alteraciones en la flora intestinal (Archimbault, 1983; Debackere, 1995; Macri & Mantovani, 1995), las cuales pueden ser la causa de desarrollo de antibio-resistencias y en algunos casos efectos tóxicos (Moretain, 1996; Heeschen, 1997).

Además, se debe destacar que del total de ATBs que se administran en forma oral a los animales, un elevado porcentaje se excreta por la orina y/o estiércol sin experimentar cambios en su molécula (Kumar *et al.*, 2005). De este modo, los ATBs pueden llegar al

suelo. Chee-Sanford *et al.* (2001) consideran que la eliminación reiterada al suelo de estiércol conteniendo residuos de ATBs, puede contaminar las aguas subterráneas (Pedersen *et al.*, 2003) e incorporarse a la cadena alimentaria, llegando finalmente al consumidor.

Cuando estos ATBs se introducen en los suelos, algunos de ellos pueden inhibir microorganismos nativos (Thiele & Beck, 2001), pudiendo producir cambios en la composición de la flora microbiana de estos suelos (Mc Cracken & Foster, 1993; Chander *et al.*, 2005).

Este inconveniente podría tener un mayor impacto ambiental, en caso de verterse la leche o el suero de leche contaminado con residuos de antibióticos a los suelos. Así, por ejemplo, los residuos de tetraciclinas pueden permanecer en el suelo durante varios meses debido a su fijación a iones calcio (Höper, 2002).

En Argentina, se registran aproximadamente 11500 tambos, que incluyen 1.8 millones de vacas en ordeño, con una producción de 10300 millones de litros (MAGyP, 2010).

Por ello, y a fin de minimizar el riesgo que implica la llegada de los ATBs por diferentes vías (estiércol, orina, leche, etc.) a los suelos y por consiguiente a los demás componente del medio natural tales como flora, fauna y recursos hídricos, resulta necesario llevar a cabo estudios para evaluar esta problemática.

MARCO TEÓRICO

Los ABTs contenidos en la leche de animales tratados pueden tomar contacto con los suelos como consecuencia de la aplicación de técnicas para el tratamiento y disposición de la leche tales como el tratamiento en lagunas y/o el landfarming. Como consecuencia de ello, los ATBs pueden ser absorbidos por las raíces de los vegetales presentes y acumularse en sus diferentes estructuras.

Numerosas moléculas de ATBs están disponibles en los suelos para su posterior absorción por parte de plantas y vegetales (Langhammer *et al.*, 1989). Al respecto, Migliore *et al.* (1998) evaluaron el uso de estiércol procedente de ganado vacuno tratado con sulfadimetoxina como fertilizante y su efecto en cultivos de mijo (*Panicum miliaceum*), arveja (*Pisum sativum*) y maíz (*Zea mays*) durante un período de ocho días. Estos autores concluyen que la bioacumulación de la sulfadimetoxina es muy persistente en las plantas de mijo, puesto que llegan a concentrar hasta 2070 mg.kg⁻¹ (raíz) y 110 mg.kg⁻¹ (tallos/hojas), mientras que el maíz puede alcanzar concentraciones de 269 mg.kg⁻¹ (raíz) y 13 mg.kg⁻¹ (tallos/hojas) y los cultivos de arveja hasta 179 mg.kg⁻¹ (raíz) y 60 mg.kg⁻¹ (tallos/hojas). Posteriormente, Jjemba (2002) destaca que la mayoría de los ATBs resultan tóxicos a diversas especies vegetales a concentraciones del orden de partes por millón (mg.kg⁻¹) y que pueden hallarse en el medio ambiente. De todos los ATBs analizados en dicho estudio, se destacan la clortetraciclina y oxitetraciclina que resultan fitotóxicos a cultivos de porotos (*Phaseolus vulgaris L*) en bajas concentraciones (10 – 50 mg.kg⁻¹).

Por todo ello, y debido al potencial riesgo que representa para la salud del consumidor, el consumo de vegetales que contengan residuos de ATBs, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto fitotóxico de cinco concentraciones para cuatro ATBs (enrofloxacina, kanamicina, penicilina y tilosina) presentes en suero de leche sobre la velocidad de germinación de las semillas y la longitud de las raíces medidas a los seis días para cinco cultivos (soja, trigo, maíz, girasol y sorgo) ampliamente difundidos en la producción agrícola de nuestro país.

METODOLOGÍA

Preparación de las muestras de suero con ATBs: Se fortificaron disoluciones de suero (3%p) conteniendo 0 (control negativo), 1, 10, 100 y 1000 veces el Límite Máximo de Residuo (LMR) para antibióticos: Enrofloxacina (ENR): 0.1; 1; 10 y 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ y Kanamicina (KAN); Penicilina (PEN): 0,004; 0,04; 0.4 y 4 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ y Tilosina (TIL): 0.05; 0.5; 5 y 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

Germinadores y cultivos estudiados: Se utilizaron semillas de girasol (*Helianthus annuus*), maíz (*Zea mays*), soja (*Glycine max*), sorgo (*Sorghum sp*) y trigo (*Triticum aestivum*). Por cada variedad de semilla se emplearon duplicados de 5 germinadores plásticos (25 cm x 20 cm) conteniendo papel absorbente y se colocaron 50 semillas en cada uno de ellos, según la metodología descrita por Peretti (1994). Con el propósito de evaluar el efecto de las concentraciones y tipo de ATBs, una vez distribuidas las semillas, se agregaron 40 ml. de cada una de las disoluciones detalladas anteriormente.

Los germinadores se recubrieron con bolsas plásticas de polietileno a fin de evitar la evaporación del agua y se colocaron en cámara cerrada a 25°C.

Mediciones efectuadas: Transcurridos los 6 días del inicio del experimento, para cada semilla y concentración de antibiótico se midió la longitud de las raíces por duplicado, utilizando un calibre con sensibilidad 0,1 mm. Además, para cada variedad de semilla, se determinó el efecto de la concentración de antibiótico sobre la frecuencia de semillas germinadas al momento de germinación total de las muestras controles negativos.

Análisis Estadístico: Para cada variedad de cultivo y tipo de ATB, se utilizó el test estadístico ANOVA para la evaluación del efecto de la concentración de ATB sobre las longitudes de las raíces utilizando el programa estadístico StatGraphics® Centurión. Posteriormente se aplicó el test de los intervalos LSD para evaluar diferencias significativas para cada nivel de ATBs.

El efecto de la concentración de antibiótico sobre la velocidad de germinación de cada semilla y antibiótico, se evaluó utilizando la opción stepwise del modelo de regresión logística para respuesta de tipo dicotómica (“germinó” o “no germinó”):

$$Y = \text{Logist } L_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 T_i + \sum \beta_{0j} Z_j + \varepsilon_{ijk}$$

Donde: $Y = \text{Logist } L_{ijk}$: Función logística = $\ln [P_{ijkl}/(1 - P_{ijkl})]$: P_{ijkl} de semilla germinada y $(1 - P_{ijkl})$: probabilidad de semillas no germinadas. β_0 : Ordenada al origen, β_0 , β_1 , β_{0j} : coeficientes estimados por el modelo logístico, T_i : Efecto del tiempo de germinación de las semillas ($i=12$), Z_{0j} : Efecto de la concentración de ATBS en términos de variable

dummy (s/ATB: $Z_1=0, Z_2=0, Z_3=0$ y $Z_4=0$; LMR: $Z_1=1, Z_2=0, Z_3=0$ y $Z_4=0$; 10 LMR: $Z_1=0, Z_2=1, Z_3=0$ y $Z_4=0$; 100 LMR: $Z_1=0, Z_2=0, Z_3=1$ y $Z_4=0$; 1000 LMR: $Z_1=0, Z_2=0, Z_3=0$ y $Z_4=1$) y ε_{ijk} error residual del modelo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los ATBs sobre las longitudes de las raíces de las semillas germinadas

En la Tabla 1 se resumen los valores medios, desviaciones estándares y parámetros estadísticos (valor de F y valor de p) obtenidos mediante la aplicación del ANOVA. También se muestran los niveles de ATBs que producen diferencias significativas luego de aplicar el test estadístico de los intervalos LSD.

Para girasol, se observa que 10 LMR de enrofloxacina ($1\mu\text{g.l}^{-1}$) y de tolisona ($0.5\mu\text{g.l}^{-1}$) producen un efecto promotor sobre la longitud de las raíces para disminuir significativamente a las 1000 LMR., mientras que penicilina produce un efecto fitotóxico a bajas concentraciones ($10\text{ LMR} = 0.04\mu\text{g.l}^{-1}$).

Con respecto al maíz, concentraciones equivalente al LMR de enrofloxacina ($0.1\mu\text{g.l}^{-1}$), kanamicina ($0.1\mu\text{g.l}^{-1}$) y 10 LMR de tilosina ($0.5\mu\text{g.l}^{-1}$) producen un efecto promotor de las longitudes de las raíces, para disminuir en forma significativa ($p < 0.05$) a concentraciones de 1000 LMR. Por el contrario, la presencia de bajas concentraciones de penicilina ($0.004\mu\text{g.l}^{-1}$) produce un efecto fitotóxico sobre este parámetro. Si bien no existen investigaciones acerca de los efectos que producen los ATBs ensayados

sobre los cultivos de maíz, debe destacarse que Migliore *et al.* (1994) observaron un efecto fitotóxico a elevadas concentraciones de sulfadimetoxina (300 mg.l^{-1}).

Respecto de las semillas de soja, se aprecia un efecto fitotóxico para 10 LMR de enrofloxacin ($1 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$) y 100 LMR de kanamicina ($10 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$), aunque los residuos de tilosina evidencian un efecto promotor significativo ($p < 0.05$) a 10 LMR ($0.5 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$) y 100 LMR ($5 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$), para manifestar luego un efecto negativo a mayores concentraciones (1000 LMR, $50 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$). Sin embargo Jjemba *et al.* (2002) señalaron un efecto fitotóxico de los residuos de tilosina sobre los cultivos de soja a niveles superiores en suelo (500 mg.kg^{-1}).

Finalmente se observaron efectos fitotóxicos sobre las longitudes de las raíces de sorgo y trigo para concentraciones del LMR de enrofloxacin ($0.1 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$), 100 LMR de kanamicina ($10 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$) y 10 LMR de penicilina ($0.04 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$). Mientras que la tilosina, en concentraciones equivalentes a LMR y 100 LMR produce un efecto promotor en las longitudes de las raíces de sorgo ($0.05 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$) y trigo ($5 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$), respectivamente.

Tabla 1. Efecto de los niveles de antibióticos en suero de leche sobre las longitudes de las raíces de cultivos agrícolas de la región medidos a los seis días

Table 1. Effect of antibiotic levels in milk whey on the lengths of the roots of crops in the region measured at six days

ATBs	Cultivo	Concentración					Valor F	Valor p
		S/ATBs	LMR	10 LMR	100 LMR	1000 LMR		
Enrofloxacina	Girasol	1.82 _a ± 0.66	2.13 _a ± 0.95	2.29 _b ± 0.70	1.66 _a ± 0.65	1.66 _a ± 0.36	5.04	0.0008
	Maíz	1.39 _a ± 0.37	1.77 _b ± 0.47	1.73 _b ± 0.46	1.89 _b ± 0.60	1.46 _a ± 0.44	7.27	0.0001
	Soja	2.12 _a ± 0.49	1.86 _a ± 0.29	2.08 _a ± 0.44	1.40 _b ± 0.29	1.62 _b ± 0.45	5.20	0.0009
	Sorgo	7.41 _a ± 1.39	6.16 _b ± 2.08	3.88 _c ± 0.62	2.82 _d ± 0.79	2.81 _d ± 0.56	110.91	0.0001
	Trigo	5.36 _a ± 0.95	4.26 _b ± 0.87	3.89 _b ± 0.78	2.37 _c ± 0.34	1.92 _c ± 0.45	30.50	0.0001
Kanamicina	Girasol	1.21 ± 1.23	0.90 ± 0.79	1.15 ± 0.76	1.20 ± 0.78	0.87 ± 0.48	1.26	0.2870
	Maíz	1.16 _a ± 0.54	1.54 _b ± 0.42	1.17 _b ± 0.37	1.31 _{ac} ± 0.44	0.88 _d ± 0.34	14.45	0.0001
	Soja	1.79 _a ± 0.64	1.31 _b ± 0.49	1.47 _b ± 0.59	1.61 _{ba} ± 0.51	1.42 _b ± 0.41	3.79	0.0056
	Sorgo	4.72 _a ± 1.74	5.09 _a ± 2.08	5.52 _a ± 2.49	2.78 _c ± 0.92	1.45 _d ± 0.60	61.41	0.0001
	Trigo	5.10 _a ± 1.14	5.43 _a ± 0.74	5.29 _a ± 0.96	2.26 _b ± 0.45	1.13 _c ± 0.29	78.38	0.0001
Penicilina	Girasol	2.73 _a ± 1.13	1.68 _b ± 0.88	1.59 _b ± 0.94	1.67 _b ± 0.94	2.08 _b ± 1.36	6.22	0.0001
	Maíz	2.01 _a ± 0.59	1.59 _b ± 0.20	1.75 _b ± 0.58	1.10 _b ± 0.45	1.73 _b ± 0.55	3.53	0.0044
	Soja	2.16 ± 0.79	1.92 ± 0.64	2.09 ± 0.58	2.02 ± 0.78	2.08 ± 0.61	0.35	0.8402
	Sorgo	8.32 _a ± 2.46	7.58 _b ± 2.51	6.23 _b ± 1.79	6.60 _b ± 1.47	6.36 _b ± 2.04	7.26	0.0001
	Trigo	6.03 _a ± 1.08	5.17 _b ± 0.78	5.18 _b ± 1.01	5.34 _b ± 0.61	5.36 _b ± 1.01	3.33	0.0179
Tilosina	Girasol	0.93 _a ± 0.48	1.12 _a ± 0.56	2.16 _b ± 1.09	3.48 _c ± 1.73	0.79 _a ± 0.31	47.52	0.0001
	Maíz	1.66 _a ± 0.48	1.76 _a ± 0.41	2.33 _b ± 0.58	4.77 _c ± 1.32	1.65 _a ± 0.51	143.77	0.0001
	Soja	2.16 _a ± 0.70	2.22 _a ± 0.64	3.67 _b ± 1.54	5.42 _c ± 1.84	1.76 _a ± 0.53	64.63	0.0001
	Sorgo	4.46 _a ± 1.54	5.98 _b ± 1.83	8.23 _c ± 2.39	11.25 _d ± 3.42	5.52 _b ± 1.59	58.21	0.0001
	Trigo	4.84 _a ± 1.13	4.78 _a ± 1.69	4.97 _a ± 1.61	6.95 _b ± 2.54	3.68 _a ± 1.88	4.16	0.0049

a, b, c, d: diferentes subíndices para valores de una misma fila señalan diferencias significativas a un nivel de $p < 0.05$. $LMR_{Enrofloxacina}$: $0.1 \mu\text{g.l}^{-1}$, $LMR_{Kanamicina}$: $0.1 \mu\text{g.l}^{-1}$, $LMR_{Penicilina}$: $0.004 \mu\text{g.l}^{-1}$, $LMR_{Tilosina}$: $0.05 \mu\text{g.l}^{-1}$,

Efecto de los ATBS sobre la frecuencia de germinación de las semillas

En Tabla 2 se exponen los resultados estadísticos del efecto de la concentración de ATBS sobre las frecuencias relativas de germinación de cada semilla calculados mediante el Modelo de Regresión Logístico.

Tabla 2. Parámetros estadísticos del efecto de los niveles de antibióticos en suero de leche calculados mediante el modelo de regresión logística.

Table 2. Statistical parameters of the effect of antibiotic levels in milk whey calculated by logistic regression model.

ATBs	Cultivo	Valor χ^2	Valor p
Enrofloxacina	Girasol	0.0040	0.9495
	Maíz	7.8829	0.0050
	Soja	3.5286	0.0001
	Sorgo	2.7254	0.0926
	Trigo	0.0952	0.7576
Kanamicina	Girasol	2.1398	0.1435
	Maíz	4.7137	0.0299
	Soja	0.0277	0.8479
	Sorgo	0.0701	0.7913
	Trigo	0.1192	0.7299
Penicilina	Girasol	12.4696	0.0004
	Maíz	3.8047	0.0511
	Soja	0.0216	0.9883
	Sorgo	2.7889	0.0949
	Trigo	0.0005	0.9817
Tilosina	Girasol	4.5584	0.0328
	Maíz	22.0172	0.0001
	Soja	4.0880	0.0284
	Sorgo	2.3254	0.1403
	Trigo	0.5893	0.4427

Para aquellas variedades de semillas y ATBs que manifestaron efectos significativos sobre la velocidad de germinación (valores de $p < 0.05$ de la Tabla 2), se aplicó la opción stepwise del modelo logístico y se calcularon las Ecuaciones que se resumen en la Tabla 3. Los niveles de LMR y 10 LMR prácticamente no presentaron influencia sobre la frecuencia de germinación de las semillas ($p > 0.05$), a excepción de la penicilina que afectó al crecimiento de la semilla de girasol a bajas concentraciones y la tilosina que mostró un efecto significativo sobre las semillas de maíz y soja.

Además, se aprecia en Tabla 3 que los coeficientes de concordancia fueron elevados, al estar comprendidos entre 0.9651 (penicilina, maíz) y 0.9897 (enrofloxacina, soja), poniendo de manifiesto el adecuado ajuste logrado mediante el modelo de regresión logística.

La mayoría de los ATBs que afectan en forma significativa a la velocidad de germinación (Tabla 2), también presentan una acción promotora del crecimiento a bajas concentraciones (LMR, 10 LMR y hasta 100 LMR) puesto que los valores de los coeficientes " β_{0i} " poseen signos positivos. Por el contrario, a elevadas concentraciones de ATBs (1000 LMR), enrofloxacina, penicilina y tilosina muestran un efecto fitotóxico sobre el crecimiento de las semillas de maíz con valores negativos de los coeficientes " β_{0i} " (Tabla 2).

Tabla 3. Ecuaciones logísticas que expresan los efectos de las concentraciones de antibióticos en suero sobre las curvas de germinación de semillas.

Table 3. Logistic equation expressing the effects of antibiotic concentrations in milk whey on the curves of seed germination.

Antibiótico	Semilla	$Y = \text{Logit [L]} = \beta_0 + \beta_1 [T] + \sum \beta_{oi} [Z_i]$	C
Enrofloxacina	Maíz	$Y = -6.9046 + 0.1428 [T] + 0.9459 [Z3] - 0.3896 [Z4]$	0.9762
	Soja	$Y = -9.4461 + 0.1760 [T] + 0.4948 [Z3] + 1.5508 [Z4]$	0.9897
Kanamicina	Maíz	$Y = -7.2882 + 0.1446 [T] + 1.3935 [Z3] + 0.6901 [Z4]$	0.9691
Penicilina	Girasol	$Y = -4.6494 + 0.1625 [T] - 0.9634[Z1] - 0.8413[Z2] - 1.31518 [Z3] - 1.5068 [Z4]$	0.9651
	Girasol	$Y = -8.3868 + 0.1625 [T] + 0.6596[Z2] + 0.1386[Z3]$	0.9816
Tilosina	Maíz	$Y = -10.2635 + 0.1912 [T] + 1.6212[Z2] + 3.4962[Z3] - 0.2631[Z4]$	0.9860
	Soja	$Y = -9.3044 + 0.1467[T] - 0.3774[Z1] + 1.6149[Z2] + 3.4066[Z3] + 1.3831[Z4]$	0.9685

C: Porcentaje de concordancia del modelo logístico, [T]: Tiempo de germinación (horas), [Z₁]: LMR; [Z₂]: 10 LMR; [Z₃]: 100 LMR; [Z₄]: 1000 LMR;

Con el propósito de visualizar los efectos de las concentraciones de aquellos ATBs que presentaron efectos significativos sobre las velocidades de germinación de los cultivos, se construyeron Figura 1 (enrofloxacina), Figura 2 (kanamicina), Figura 3 (penicilina) y Figura 4 (tilosina). En todos los casos se observa que concentraciones equivalentes a 100 LMR de cada ATBs produce un incremento en la velocidad de germinación de los cultivos, señalando una posible acción promotora sobre el crecimiento para estos cultivos. Por el contrario, el incremento de las concentraciones de ATBs presentes en el suero de la leche (1000 LMR) produce un retraso en la velocidad de germinación de las semillas, poniendo de manifiesto la acción fitotóxica de los ATBs a elevados niveles. Mientras que bajas concentraciones de ATBs (equivalentes a LMR y 10 veces el LMR), no producen un desplazamiento significativo de las curvas sigmoideas.

Por ello, conviene destacar que el uso de tratamientos térmicos, tal como la pasteurización a elevadas temperaturas, podría disminuir los efectos fitotóxicos observados al disponer en los suelos, leche y/o suero que contenga ATBs. Así, por ejemplo, estudios previos realizados en leche contaminada con residuos de ATBs demuestran que la pasteurización a 120 °C durante un tiempo de 20 minutos produce disminuciones en la actividad antimicrobiana del 95 % para la kanamicina (Zorraquino *et al.*, 2009), 61 % para la penicilina (Roca *et al.*, 2011) y 51 % para la tilosina (Zorraquino *et al.*, 2011). Sin embargo, los residuos de quinolonas requieren de la búsqueda de tratamientos térmicos más rigurosos, puesto que esta pasteurización produce una disminución de tan solo un 18 % en leche contaminada con moléculas de enrofloxacina (Zorraquino *et al.*, 2008).

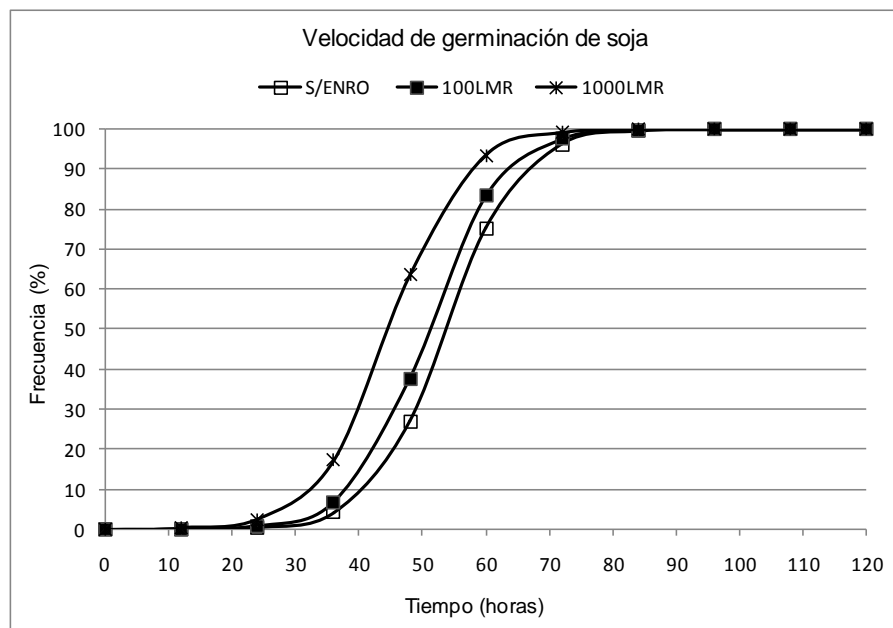
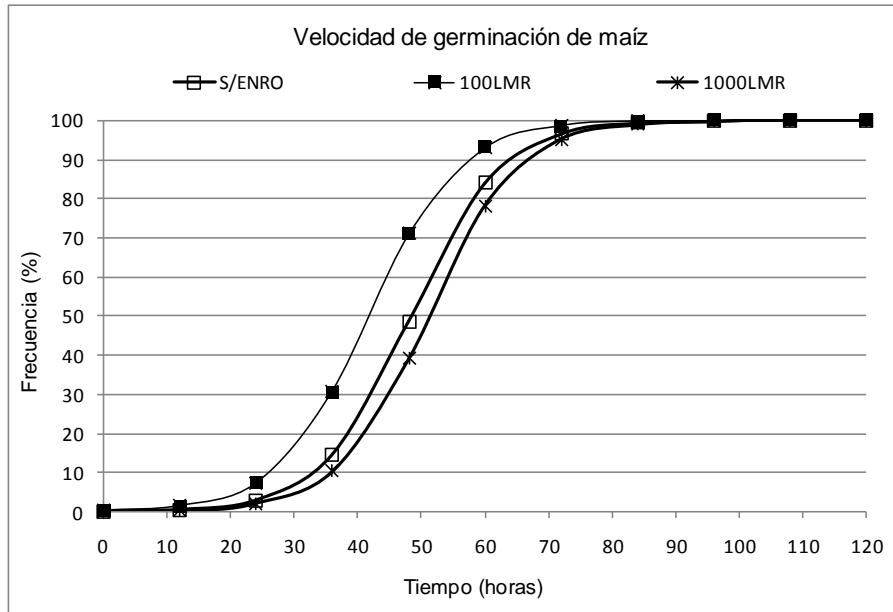


Figura 1. Efecto de las concentraciones de enrofloxacin sobre la velocidad de germinación de semillas de maíz y soja.

Figure 1. Effect of enrofloxacin concentrations on the germination rate of corn and soybeans.

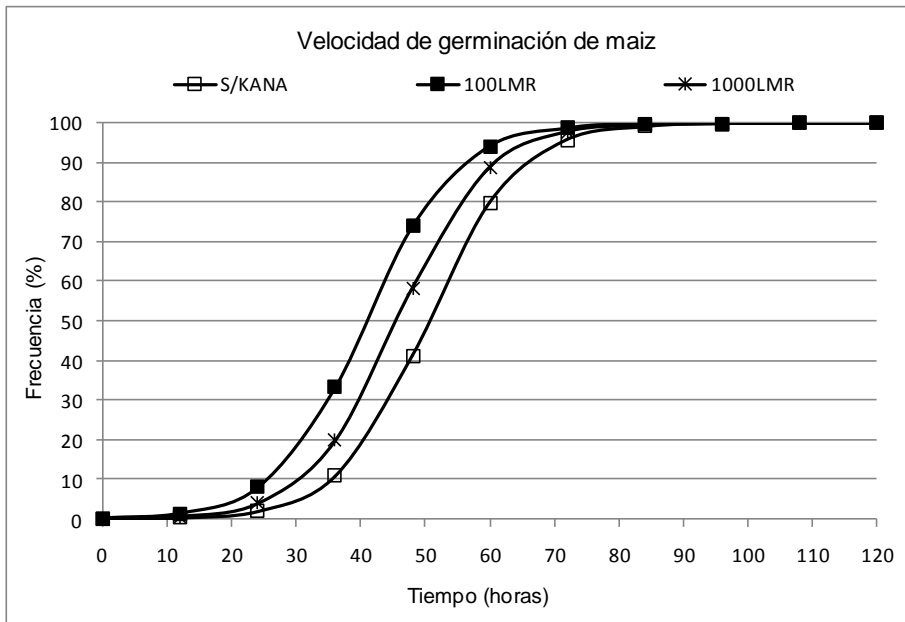


Figura 2. Efecto de las concentraciones de kanamicina sobre la velocidad de germinación de semillas de maíz.

Figure 2. Effect of kanamycin concentrations on the germination rate of corn.

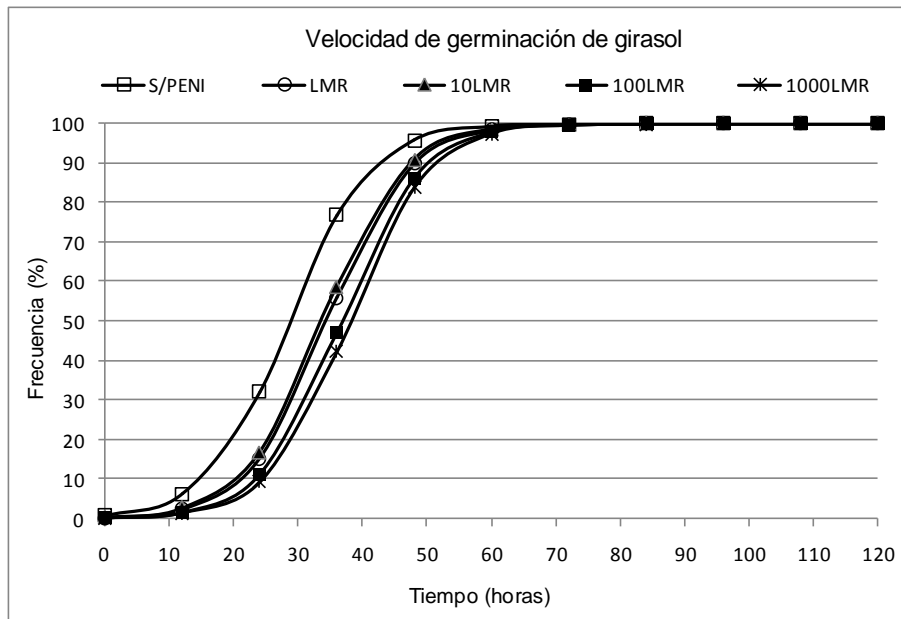


Figura 3. Efecto de las concentraciones de penicilina sobre la velocidad de germinación de semillas de girasol.

Figure 3. Effect of the concentrations of penicillin on the speed of germination of sunflower seeds.

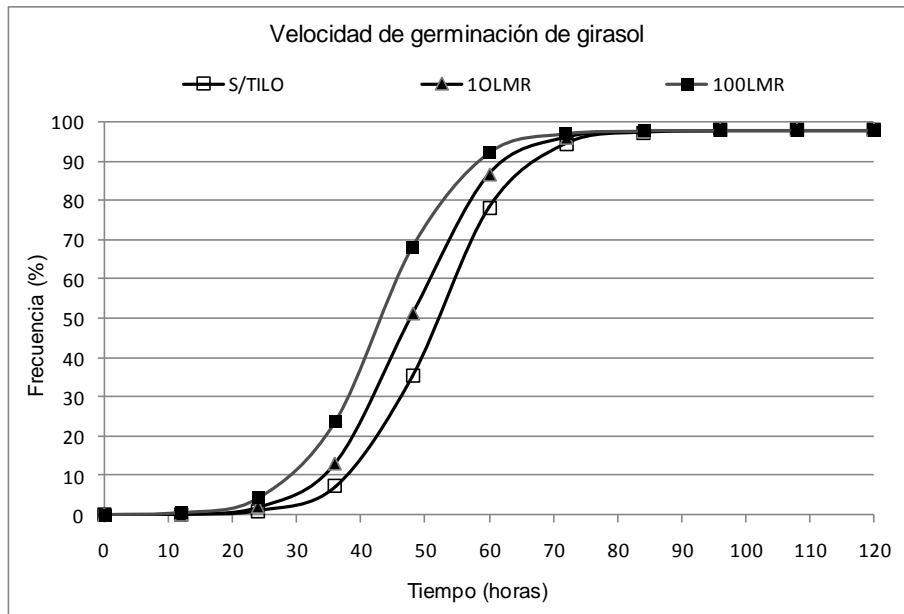


Figura 4. Efecto de las concentraciones de tilosina sobre la velocidad de germinación de semillas de girasol, maíz y soja.

Figure 4. Effect of tylosin concentrations on the germination rate of sunflower seeds, corn and soybeans.

CONCLUSIONES

Los efluentes que contiene residuos de antibióticos (enrofloxacina, kanamicina, penicilina y tilosina) provenientes de los tambos constituyen un problema cuando se vierten a los suelos, puesto que producen efectos fitotóxicos que se manifiestan en la disminución en las longitudes de las raíces y en la ralentización de la velocidad de germinación de girasol, maíz, soja, sorgo y trigo. Al respecto, sería recomendable investigar el efecto de tratamientos térmicos previos, como la pasteurización a elevadas temperaturas o la esterilización, con el propósito de disminuir la acción antimicrobiana

de estas moléculas. De este modo, se podría evitar los efectos fitotóxicos sobre los cultivos, la bioacumulación en plantas y semillas, así como también su posterior incorporación a la cadena alimenticia, evitando posibles efectos tóxicos sobre la salud de los consumidores.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado con fondos provenientes de la Universidad Nacional del Litoral, a través del Programa de Curso de Acción para la Investigación y el Desarrollo CAI+D 12-173 (Res C.S. N° 100/09 del 29 de mayo de 2009) de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Litoral.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Archimbault P. 1983. Persistence in milk of active antimicrobial intramammary substances. *Proceedings of the 2nd Symposium of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology*. Toulouse.
- Chander Y, Kumar K, Sagar ML, Goyalb & Gupta SC. 2005. Antibacterial Activity of Soil-Bound Antibiotics. *Journal of Environmental Quality*, 34:1952-1957
- Chee-Sanford JC, Aminov RI, Krapac IJ, Garrigues-Jeanjean N & Mackie RI. 2001. Occurrence and diversity of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater underlying two swine production facilities. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 1494-1502

- Debackere M. 1995. Comparison of disk assay. Intest and Delvotest P sensitivity for antibiotic residues in milk. *Proceedings of the IDF-Symposium in Kiel*, Bruselas, Belgica: 243.
- Heeschen W. 1997. Factores determinantes de la calidad e higiene de la leche. *XIV Jornadas de Técnicos y Especialistas en Mamitis y Calidad de la Leche*, Palma de Mallorca, España: 21
- Höper H, Kues J, Nau H & Hamscher G. 2002. Eintrag und Verbleib von Tierarzneimittelwirkstoffen in Böden. *Bodenschutz*, 4: 141-148
- Jjemba PK. 2002. The potential impact of veterinary human therapeutic agents in manure biosolids on plants grown on arable land: a review. *Agriculture, ecosystems & environment*, 93: 267-278
- Kumar K, Gupta SC, Cher Y & Singh AK. 2005. Antibiotics in agriculture and its impact on the terrestrial environment. *Advances in Agronomy*, 87: 1-54
- Langhammer JP. 1989. *Untersuchungen zum Verbleib antimikrobiell wirksamer Arzneistoffe als Rückstände in Gülle und im landwirtschaftlichen Umfeld*. PhD thesis, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität. Bonn.
- Macri A & Mantovani A. 1995. The safety evaluation of residues of veterinary in farm animal tissues and products. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 14 (2): 119-129
- McCracken DI & Foster GN. 1993. The effect of ivermectin on the invertebrate fauna associated with cow dung. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 12: 73-84
- McEwen SA, Meek AH & Black WD. 1991. A dairy farm survey of antibiotic treatment practices. Residue control methods and associations with inhibitors in milk. *Journal of food protection*, 54: 454-459
- Migliore L, Brambilla G, Cozzolino S & Gaudio L. 1994. Effect on plants of sulphadimethoxine used in intensive farming (*Panicum miliaceum*, *Pisum sativum* *Zea mays*). *Agriculture, Ecosystems Environment*, 52: 103-110

- Migliore L, Civitareale C, Cozzolino S, Casoria P, Brambilla G & Gaudio L. 1998. Laboratory models to evaluate phytotoxicity of sulphadimethoxine on terrestrial plants. *Chemosphere*, 37: 2957-2961
- Miller R, Dowlen H & Norman H. 1995. Relationship of sire's Predicted Transmitting Ability for milk somatic cell score (PTASCS) to daughter's incidence of clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 78: 175
- MAGyP (Ministerio de Agricultura ganadería y Pesca de la Nación). 2010. Producción primaria: Sectores Alimentarios y Agroindustriales. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/sectores.php?secc=la_cteos
- Moretain JP. 1996. Elimination des médicaments vétérinaires dans le lait. Conferencia en *XIII Reunión de especialistas en control de mamitis y calidad de leche (G-Temcal)*. Pamplona, España
- Pedersen J, Yeager M & Suffet I. 2003. Xenobiotic organic compounds in runoff from fields irrigated with treated wastewater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1360-1372
- Peretti A. 1994. *Manual para análisis de semillas*. Editorial Hemisferio Sur, 1ed, Buenos Aires: 286 p
- Roca M, Villegas L, Kortabitarte ML, Althaus RL & Molina MP. 2011. Effect of heat treatments on stability of β -lactams in milk. *Journal of Dairy Science*, 94:1155–1164
- Sawant AA, Sordillo LM & Jayarao BM. 2005. A Survey on Antibiotic Usage in Dairy Herds in Pennsylvania. *Journal of Dairy Science*, 88: 2991-2999
- Thiele S & Beck IC. 2001. Wirkungen pharmazeutischer Antibiotika auf die Bodenmikroflora - Bestimmung mittels ausgewählter bodenbiologischer Testverfahren. *Mitteilgn. Dtsch Bodenkundl Gesellsch*, 96: 383-384

- Zorraquino MA, Roca M, Castillo M, Althaus RL & Molina MP. 2008. Effect of thermal treatments on the activity of quinolones in milk. *Milchwissenschaft*, 63:192–195
- Zorraquino MA, Althaus RL, Roca M & Molina MP. 2009. Effect of Heat Treatments on Aminoglycosides in Milk. *Journal of Food Protection*, 72: 1338-1341
- Zorraquino MA, Althaus RL, Roca M & Molina MP. 2011. Heat Treatment Effects on the Antimicrobial Activity of Macrolide and Lincosamide Antibiotics in Milk. *Journal of Food Protection*, 74: 311–315
- Zwald AG, Ruegg PL, Kaneene JB, Warnick LD, Wells SJ, Fossler C & Halbert LW. 2004. Management Practices and Reported Antimicrobial Usage on Conventional and Organic Dairy Farms. American Dairy Science Association. *Journal of Dairy Science*, 87: 191-200