



Universidad Nacional de Entre Ríos
Facultad de Ciencias Agropecuarias

Trabajo presentado en: XII JORNADAS DE JÓVENES INVESTIGADORES DE LA AUGM. Universidade Federal do Paraná. Brasil. 1 y 2 de septiembre de 2004. Resúmenes p. 55

Bioensayo de germinación con semillas de *Eruca sativa* Mill. (rúcula) para la detección de salinidad y presencia de herbicida en agua.

María Natalia Foti.

Becaria de Iniciación en la Investigación. PID-UNER N° 2076 y Cátedra de Fisiología Vegetal. Facultad Ciencias Agropecuarias. UNER. C.C. 24, E3100WAA Paraná, Entre Ríos. República Argentina.

e-mail: nfoti@fca.uner.edu.ar

Director: Ing. Agr. Víctor H. Lallana

Resumen

Se analizó la incidencia de soluciones salinas y de herbicidas sobre la germinación de semillas de *Eruca sativa* Mill., con el objetivo de poner a punto el ensayo y verificar la sensibilidad para determinar toxicidad. Para los tratamientos de salinidad se utilizaron soluciones de ClK de 6,67; 4,50; 2,50 y 1,00 dS/m. Para los tratamientos con herbicida se emplearon dosis de Tordon D30 (Picloram + 2,4 D) de 15,2; 1,52; 0,76 y 0,30 gramos de ingrediente activo. Ambos ensayos tuvieron un tratamiento Testigo con agua destilada.

Las evaluaciones se realizaron a las 48 h registrando el número de semillas germinadas y la longitud radicular. Se calculó un índice de germinación, y se lo expresó como porcentaje respecto al Testigo (100%). Tanto la salinidad como las soluciones de herbicidas no afectaron la germinación, pero si el crecimiento radicular; lo que permitió detectar diferencias entre tratamientos.

Palabras claves: Bioensayo de germinación – Toxicidad

Introducción

Los bioensayos o pruebas biológicas son herramientas útiles para detectar la toxicidad de diversos compuestos (González et al., 2003). Consisten en métodos rápidos, de escasos requerimientos instrumentales que cuantifican respuestas biológicas en las etapas iniciales del desarrollo vegetal (Ortega et al., 2000). Las pruebas de ecotoxicidad utilizan organismos vivos y procesos biológicos con el objeto de mensurar los efectos a corto y largo plazo de la exposición a sustancias químicas (Ríos y Nudelman, 2000).

La reducción del porcentaje de germinación y/o inhibición del desarrollo radicular de semillas recién germinadas, son las respuestas biológicas consideradas en bioensayos de germinación. (Ortega et al., 2000). En las pruebas de fitotoxicidad se cuantifica la variación en presencia de distintas concentraciones del contaminante de algún objetivo de valoración previamente determinado en una especie vegetal. Sin embargo la incidencia de los efectos tóxicos sobre la etapa de germinación no han sido tan estudiados. Las pruebas de fitotoxicidad en la etapa de germinación tienen ventajas respecto a otros métodos ya que resultan mas rápidos y económicos (Lewis, 1995).

La justificación para realizar este bioensayo radica en la importancia de eventos de desarrollo temprano basados en la velocidad de germinación que presenta la rúcula. Se citan otras especies utilizadas en diversos test biológicos como lechuga (Souto et al., 1993; Waligora, 1997; Chou, 1999), rabanito (Lallana et al., 2001) y berro (Abad et al., 1993), entre otras.

El objetivo es evaluar el comportamiento de las semillas de rúcula para detectar salinidad y presencia de herbicida en agua.

Materiales y Métodos

Para realizar este bioensayo se utilizó semilla de rúcula con un poder germinativo del 90 %. Se realizaron dos ensayos, uno con 4 concentraciones salinas y un testigo (agua destilada) y el otro con 4 soluciones de herbicida y un testigo (agua destilada) según el siguiente detalle:

Tratamientos	Ensayo 1		Ensayo 2	
	Salinidad		Dosis herbicida	
	CE (dS/m)	Molaridad ClK	l/ha	g i.a.
1	Testigo	0	Testigo	0
2	6,67	0,050	0,05	15,205
3	4,50	0,034	0,005	1,521
4	2,50	0,019	0,0025	0,760
5	1,00	0,007	0,001	0,304

Se empleó el herbicida Tordón D30 (Picloram 6,41 g / 100 cm³ + 2,4 D 24 g / cm³).

Para los ensayos de germinación se utilizaron cajitas plásticas con tapa. En el fondo de cada recipiente se colocó papel absorbente embebido con 2 ml de la solución correspondiente a cada tratamiento donde se colocaron 10 semillas de rúcula, luego se tapó y se llevó a cámara de crecimiento a 25 ± 1°C. Para cada tratamiento se realizaron 4 repeticiones de 10 semillas cada una.

A las 48 h se evaluó número de semillas germinadas y la longitud de la radícula utilizando un calibre electrónico bajo lupa de mesa. Se calculó el promedio de la longitud radicular y el porcentaje de germinación de cada repetición. Estos valores se utilizaron para obtener un índice de germinación (IG) multiplicando el número de semillas germinadas por la longitud media de la radícula, expresando ambos parámetros como porcentaje respecto al Testigo (Lallana et al., 2001).

Los datos se analizaron estadísticamente empleando la prueba de Dunnet (Montgomery, 1999), con un nivel de confianza del 95 %, comparando cada uno de los tratamientos con el Testigo.

Resultados

Ensayo 1: Salinidad

Tabla 1. Número de semillas germinadas de rúcula, longitud radicular (mm) promedio y desvío estándar (DE) para cada tratamiento de salinidad a las 48 h. Valores del índice de germinación (IG) y su expresión en porcentaje.

Tratamiento	Nº semillas germinadas	Longitud radicular	DE	IG	% IG
1	9	9,40	2,33	87,69	100,00
2	9	9,89	1,83	99,47	113,43
3	10	11,31	1,80	129,98	148,23
4	9	4,41	4,32	44,32	50,54
5	9	2,45	0,35	26,06	29,71

El porcentaje de germinación promedio en el ensayo de salinidad fue del 90 %, idéntico al poder germinativo inicial de las semillas, lo cual indica que la capacidad de germinación no se vio afectada por las concentraciones salinas ensayadas. Las diferencias se observaron en la

longitud del crecimiento radicular, lo cual influye directamente sobre los resultados del índice de germinación.

La mayor variabilidad en la longitud radicular se observó en el tratamiento 4 y en el Testigo, la menor en el tratamiento 5 (Tabla 1).

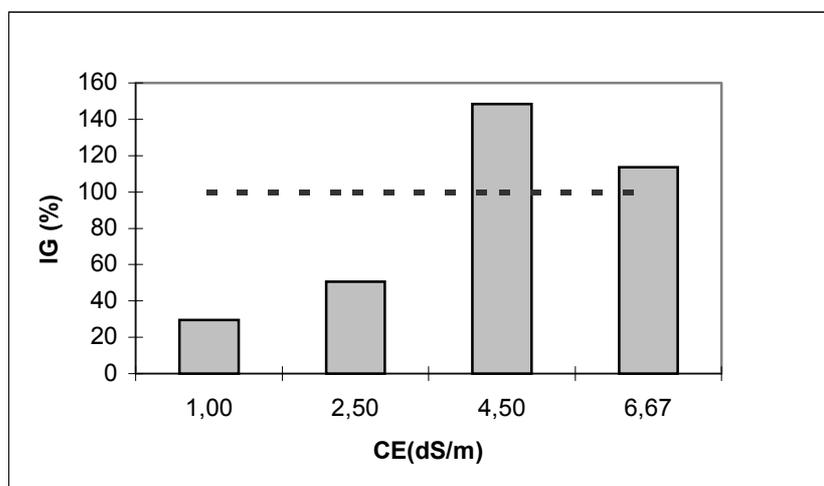


Figura 1. Índice de germinación (IG) en rúcula para los tratamientos de salinidad expresados en valores de conductividad eléctrica (CE) comparados con el Testigo (100%, línea de puntos).

Tabla 2. Análisis de los datos de la longitud radicular (mm) de rúcula mediante la prueba de Dunnett, para el ensayo de salinidad.

Mínima diferencia significativa = **5,2889** Alfa = 0.05

Comparación Tratamiento - Testigo	Diferencia entre medias	
2 - 1	0,485	ns
3 - 1	1,903	ns
4 - 1	4,998	ns
5 - 1	6,953	***

ns diferencia no significativa ***diferencia altamente significativa

Solo se observaron diferencias significativas al comparar el tratamiento 5 (1,00 dS/m) con el testigo (Tabla 2).

Ensayo 2: Herbicida

Tabla 3. Número de semillas germinadas de rúcula, longitud radicular (mm) promedio y desvío estándar (DE) para cada tratamiento con herbicida a las 48 h. Valores del índice de germinación (IG) y su expresión en porcentaje.

Tratamiento	Nº semillas germinadas	Longitud radicular	DE	IG	% IG
1	9	8,63	2,86	76,81	100,00
2	8	0,74	0,17	7,37	9,60
3	9	1,11	0,16	12,86	16,74
4	9	1,58	0,16	18,30	23,83
5	9	1,89	0,15	21,24	27,65

El porcentaje de germinación promedio en el ensayo con herbicida fue del 88 % y teniendo en cuenta que el poder germinativo inicial de las semillas fue del 90 %, se demuestra que no hubo una marcada incidencia negativa en los porcentajes de germinación con las dosis ensayadas. Al

igual que en el ensayo anterior (salinidad) las diferencias entre los tratamientos se detectaron en el crecimiento de la radícula. La mayor variabilidad en la longitud radicular se observó en el tratamiento Testigo (Tabla 3).

Las dosis de herbicida ensayadas provocaron una disminución en la longitud radicular del 73 al 90 %, según dosis crecientes, respecto al testigo (Figura 2).

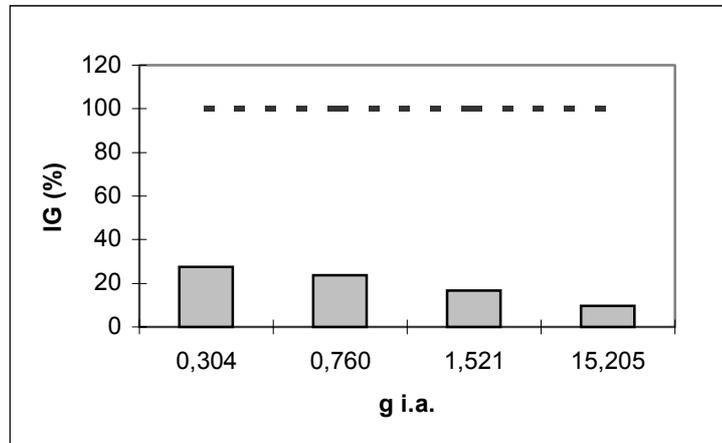


Figura 2. Índice de germinación (IG) en rúcula en los tratamientos con herbicida expresados en gramos de ingrediente activo (g i.a.) comparados con el Testigo (100%, línea de puntos).

Tabla 4. Análisis de los datos de la longitud radicular (mm) de rúcula mediante la prueba de Dunnet, para el ensayo de herbicida.

Mínima diferencia significativa = 2,6232 Alfa = 0.05		
Comparación Tratamiento - Testigo	Diferencia entre medias	
2 - 1	7,8900	***
3 - 1	7,5225	***
4 - 1	7,0525	***
5 - 1	6,7450	***

***: diferencia altamente significativa.

Todos los tratamientos presentaron diferencias altamente significativas al compararlos con el testigo (Tabla 4)

Conclusiones

- Tanto la salinidad como las soluciones de herbicidas no afectaron la germinación pero si el crecimiento radicular, lo que permitió detectar diferencias entre tratamientos.
- Concentraciones salinas de 4,5 y 6,67 dS/m, favorecieron el crecimiento radicular, con lo que se podría deducir que esta especie es tolerante a condiciones de alta salinidad en las primeras etapas de vida. Solo se observaron diferencias significativas al comparar el tratamiento de menor concentración salina con el testigo.
- Con las soluciones de herbicida de mayor concentración se observaron coloraciones anormales (blanquecinas y violáceas) en los cotiledones y en radícula.
- Las dosis de herbicida ensayadas provocaron una disminución en la longitud radicular del 73 al 90 %, según dosis crecientes, respecto al testigo.

Con este ensayo preliminar no se pudo calcular la concentración efectiva (CE₅₀) de salinidad y herbicida, ya que faltaron probar concentraciones intermedias para tener un mejor ajuste de las curvas.

Bibliografía

- Abad, M.; Martínez, M.D.; Martínez, P.F. y Martínez, J.(1993). Evaluación agronómica de los sustratos de cultivo. Actas de Horticultura 11: 141 – 154.
- Chou, Ch. (1999). Methodologies for allelopathic research: from fields to laboratory. En Recent Advances in Allelopathy. Eds. Macias. Galindo. Molinillo y Cutler. Vol 1: 3 – 24. Universidad Cádiz.
- González, A. M.; Presa, M.F.; Lurá, M.C. (2003). Ensayo de Toxicidad a *Artemia salina*: puesta a punto y aplicación a micotoxinas. Revista FABICIB. Vol. 7: 117 – 122.
- Lallana, V. H.; Cardona, O.; Valenzuela O.R.(2001). Bioensayo de germinación como test rápido para la valoración de lombricompostos. Horticultura Argentina (enviado a publicar).
- Lewis, M. (1995). Use of Freshwater Plants for Phytotoxicity Testing: A Review, Environmental Pollution, 87, 319
- Montgomery, D.C.(1999). Diseño y Análisis de Experimentos. Grupo Editorial Iberoamericana. 589 páginas.
- Ortega, M. C.; Aguado, M. T.; Ordovás, J.; Moreno, M.T.; Carmona, E. (2000). Propuesta de Bioensayos para detectar factores fitotóxicos en sustratos y enmiendas. Actas de Horticultura nº 32: 363 - 376.
- Ríos, S.M.; Nudelman, N. (2000). Contaminación de suelos por la explotación petrolera. Fitotoxicidad en la etapa de germinación. Ingeniería Sanitaria y Ambiental nº 49: 53 – 58.
- Souto, X.C.; González, L.; Reigosa, M.J. (1993). Estudio de los efectos alelopáticos producidos por partes aéreas de distintas especies arbóreas (*Eucalyptus globulus*, *Acacia melanoxylon*, *Quercus robur*, *Pinus radiata*) en descomposición en el suelo. Actas del I Congreso Forestal Español. Volumen I: 189 – 193.
- Torres Rodríguez, M.T. (2003) Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales.http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol41_2-3_03/hie092-3203.htm
- Waligora, D. (1997). Rape glucosilones and alfalfa saponins as allelopathic factors for lettuce seed's germination. Journal of Plant Protection Research 37: 109 – 112.
- Zucconi, F.; Pera, A.; Forte, M.; De Bertoldi, M.(1981). Evaluating toxicity of immature compost. BioCycle 22: 54 – 57.