

## EFFECTOS TÓXICOS AGUDOS DE METALES PESADOS SOBRE EL CRECIMIENTO RADICULAR DE *LACTUCA SATIVA*

### ACUTE TOXIC EFFECTS OF HEAVY METALS ON ROOT GROWTH OF *LACTUCA SATIVA*

FERNANDO S. ALONSO<sup>1</sup>, TOMÁS LÓPEZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias - Universidad de Córdoba-España. E-mail: fernapi@live.com

<sup>2</sup> Laboratorio de Mutagénesis Ambiental- Facultad de Ciencias Exactas y Naturales- Universidad Nacional de Asunción- Paraguay

**Resumen:** En este trabajo se presentan los resultados de bioensayos de toxicidad aguda realizados para evaluar la sensibilidad de *Lactuca sativa*, determinando la inhibición de crecimiento radicular (IP) frente a seis metales pesados, mediante los compuestos de  $\text{SO}_4\text{Zn}$ ,  $\text{SO}_4\text{Cu}$ ,  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  y  $\text{SO}_4\text{Ag}_2$ , abarcando los intervalos de exposición de 12,5 a 1000mg.  $\text{L}^{-1}$ . La toxicidad relativa de los metales analizados fue:  $\text{Cd} > \text{Cr} > \text{Cu} > \text{Ag} > \text{Zn} > \text{Pb}$ .

**Palabras clave:** inhibición, bioensayos, toxicidad.

**Abstract:** This paper presents the results of bioassays to evaluate the sensitivity of *Lactuca sativa* to heavy metals, by determining the growth inhibition (IP) under the influence of the compounds  $\text{SO}_4\text{Zn}$ ,  $\text{SO}_4\text{Cu}$ ,  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  and  $\text{SO}_4\text{Ag}_2$ , covering exposure intervals 1000 to 12.5 mg.  $\text{L}^{-1}$ . The relative toxicity of the analyzed metals was:  $\text{Cd} > \text{Cr} > \text{Cu} > \text{Ag} > \text{Zn} > \text{Pb}$ .

**Key words:** inhibition, bioassays, toxicity.

### INTRODUCCIÓN

Actualmente se reconoce la importancia de evaluar el nivel de riesgo ambiental de los metales pesados sobre diversos representantes de ecosistemas terrestres y acuáticos, utilizando bioensayos ecotoxicológicos (Iannacone & Alvarino, 2005); para el efecto se dispone de una batería de organismos bioindicadores representativos de diversos taxones y ambientes (López, *et al.*, 2013), con las que es factible determinar la toxicidad de diversas sustancias, y predecir sus posibles impactos ambientales.

Los bioensayos con plantas vasculares aportan informaciones relevantes sobre los posibles efectos de los contaminantes, tanto en el medio acuático como en el terrestre. Iannacone & Alvarino (2005) señalan las ventajas de realizar ensayos de fitotoxicidad con semillas por la facilidad de almacenarlas, el costo de mantenimiento mínimo, las muestras testeadas no requieren aireación durante el ensayo, no se requiere filtración de muestras turbias y las pruebas se pueden desarrollar sin necesidad de ajustar el pH. En este sentido, el bioensayo de

toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*), prueba estática de toxicidad aguda (120 horas de exposición) evalúa los efectos fitotóxicos de compuestos de diversa naturaleza, como metales pesados, plaguicidas, aguas residuales (Dutka, 1989; Lewis, 1995; Mohan & Hosetti, 1999; Castillo, 2004), sobre el proceso de desarrollo de las plántulas, durante los primeros días de crecimiento (Hulzebos *et al.*, 1993; Wang & Freemark, 1995; Blackburn & Boutin, 2003).

Se sabe que algunos metales pesados en pequeñas dosis (trazas) son beneficiosos para el crecimiento de la planta, no obstante se han informado con frecuencia de estudios sobre el efecto tóxico de los metales en las plantas individuales o comparaciones de la toxicidad de los metales; la literatura al respecto es numerosa, se pueden encontrar referencias de estudios que miden el efecto del cobre en *Agrostis tenuis* (McNeilly & Bradshaw, 1968; Wu & Antonovics, 1975); plomo en *Festuca ovina* (Wilkins, 1957) y *Agrostis tenuis* (Jowett, 1964); zinc y cobre en *Agrostis stolonifera* (Wu & Antonovics, 1975). Combinaciones factoriales de plomo,

zinc y cadmio fueron evaluados con *Holcus lanatus* (Coughtley & Martin, 1978) y el efecto aditivo del cobre, níquel y zinc en *Hordeum vulgare* (Beckett & Davis, 1978).

Uno de los criterios para evaluar los efectos fitotóxicos, es mediante la determinación de la inhibición en la elongación de la radícula de *L. sativa* (Lewis, 1995; Wang & Freemark, 1995; Castillo, 2004). Es importante destacar que durante el período de germinación y los primeros días de desarrollo de la plántula ocurren numerosos procesos fisiológicos, en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir alterando la supervivencia y el desarrollo normal de la planta, siendo por lo tanto una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos (Boutin *et al.*, 1993; Mohan & Hosetti, 1999; Zakrzewski, 1991; Newman & Jagoe, 1996). Por otra parte, muchas de las reacciones y procesos fisiológicos involucrados en la germinación son comunes para la gran mayoría de las plantas con semillas, por lo que la respuesta de esta especie y los datos obtenidos a partir de la aplicación de esta prueba son en gran medida representativos de los efectos en semillas o plántulas en general (Mohan & Hosetti, 1999; Lytle & Lytle, 2001; Castillo, 2004).

A diferencia de la prueba tradicional de germinación de semillas, la evaluación del efecto en la elongación de la radícula de las plántulas permite ponderar el efecto tóxico de compuestos solubles, presentes en niveles de concentración tan bajos que no son suficientes para inhibir la germinación, pero que sin embargo pueden retardar o inhibir completamente los procesos de elongación, dependiendo ello del modo y sitio de acción del compuesto (Lewis, 1995; Wang y Freemark, 1995; Mohan & Hosetti, 1999). Los ensayos de fitotoxicidad con semillas germinadas son simples, versátiles y útiles para evaluar la toxicidad de aguas, sedimentos y muestras de suelo (Boutin *et al.*, 1993; Lewis, 1995). De esta manera, la inhibición en la elongación de la radícula constituye un indicador subletal muy sensible para la evaluación de efectos biológicos en vegetales aportando información complementaria a la proporcionada al estudiar el efecto en la

germinación.

El objetivo de este estudio es evaluar los efectos fitotóxicos de seis metales sobre la inhibición y elongación del crecimiento radicular de *Lactuca sativa* y la determinación de algunos aspectos de la ecotoxicidad de estos metales pesados empleando bioensayos sencillos y prácticos para catalogar toxicológicamente muestras ambientales contaminadas con estas sustancias, esto contribuirá a tomar medidas para evaluar la perturbación de los ecosistemas y promover alternativas de biorremediación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron semillas de *L. sativa* var. mantecosa, obtenidas de un comercio local de productos agropecuarios. Antes de su empleo todas las semillas se mantuvieron en condiciones de oscuridad y a temperaturas de 6°C para inhibir su germinación y mantener su fertilidad, según el criterio propuesto por Wang (1991). Se descartaron las semillas dañadas y se utilizaron las de un mismo tamaño.

En la prueba, se tomaron 20 semillas de tamaño similar, forma y color; se distribuyeron uniformemente sobre papel filtro Quanty, impregnado con 4 ml de la muestra de la solución dentro de una caja de Petri, posteriormente las placas fueron colocadas en bolsas de plástico de cierre hermético, e incubadas en oscuridad a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 120 horas en una estufa modelo LAB-LINE modelo AMBI-HI-LO. CHAMBER (Castillo, 2004). Se utilizó como control negativo y como diluyente agua dura reconstituida (APHA, 1998) y se determinó la toxicidad de los metales pesados: zinc, cobre, cadmio, cromo, plomo y plata en diferentes soluciones, tomando 2 réplicas de la solución a diferentes concentraciones (tratamientos) (Tabla 1):

Transcurridos el tiempo de exposición se procedió a la determinación del número de semillas germinadas para cada ensayo y la longitud de las raíces. Con estos datos, se elaboraron gráficas dosis-respuesta, colocando en la ordenada el porcentaje de inhibición de crecimiento radicular (IP) y en la abscisa la concentración. Mediante el uso de programas estadísticos, se calcula la concentración que produce el 50% de inhibición ( $CI_{50}/CE_{50}$ ) para

**Tabla 1.** Concentraciones de diferentes metales utilizadas en este trabajo.

SO <sub>4</sub> Zn	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	SO <sub>4</sub> Ag <sub>2</sub>	SO <sub>4</sub> Cu	Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
1000 mg. L <sup>-1</sup>	1000 mg. L <sup>-1</sup>	300 mg. L <sup>-1</sup>	100 mg. L <sup>-1</sup>	100 mg. L <sup>-1</sup>	100 mg. L <sup>-1</sup>
500 mg. L <sup>-1</sup>	500 mg. L <sup>-1</sup>	150 mg. L <sup>-1</sup>	50 mg. L <sup>-1</sup>	50 mg. L <sup>-1</sup>	50 mg. L <sup>-1</sup>
250 mg. L <sup>-1</sup>	250 mg. L <sup>-1</sup>	75 mg. L <sup>-1</sup>	25 mg. L <sup>-1</sup>	25 mg. L <sup>-1</sup>	25 mg. L <sup>-1</sup>
125 mg. L <sup>-1</sup>	125 mg. L <sup>-1</sup>	37,5 mg. L <sup>-1</sup>	12,5 mg. L <sup>-1</sup>	12,5 mg. L <sup>-1</sup>	12,5 mg. L <sup>-1</sup>

cada punto final evaluado. Se graficó la distribución normal estándar inversa, respecto al logaritmo de la concentración para visualizar las diferencias entre los tratamientos.

Todos estos ensayos se han realizado en el Laboratorio de Mutagénesis Ambiental de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción.

Los datos utilizados para establecer el índice de toxicidad fueron determinadas mediante la siguiente ecuación:

$$IP = \frac{(\text{Longitud Promedio del control} - \text{longitud promedio del tratamiento})}{\text{Longitud promedio del control}} \times 100$$

La concentración efectiva que causa el 50% (CE<sub>50</sub>) de la inhibición del crecimiento de la raíz, y los intervalos de confianza al 95% se determinaron mediante el programa estadístico EPA Probit versión 1. 5; otros análisis estadístico se realizaron con Excel 2007, y el SPSS 15. 0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

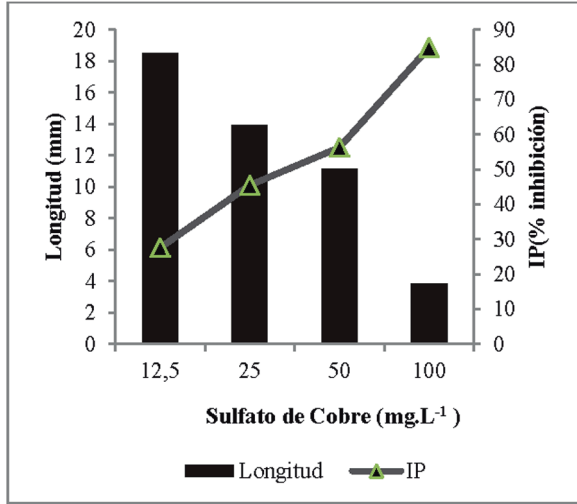
### Toxicidad del Cobre

Se analizaron los resultados obtenidos con el test agudo tras las 120h de exposición al SO<sub>4</sub>Cu (Tabla 2 y Fig. 1). La CE<sub>50</sub> obtenida por el método Probit para el compuesto fue de 31. 70 mg. L<sup>-1</sup> (20. 546 - 46. 518), de esta cantidad 12,56 mg. L<sup>-1</sup> corresponde a Cu<sup>+2</sup>.

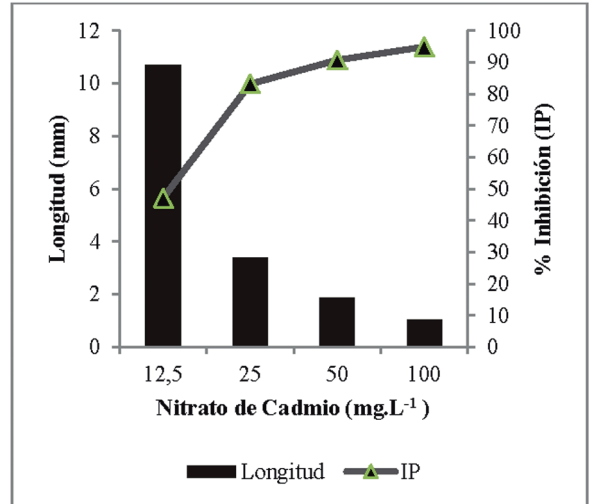
El cobre es un micronutriente esencial para el desarrollo de las plantas, habitualmente se encuentra en el suelo en la forma Cu<sup>+2</sup> a una concentración promedio de 6 mg. L<sup>-1</sup>, contribuye como activador enzimático e incrementa el contenido de azúcares; no obstante a concentraciones superiores puede presentar efectos adversos. La CE<sub>50</sub> (Figura 7) para el metal determinada en este estudio (12.56 mg. L<sup>-1</sup>), es similar los demostrados por otros autores, McNeilly & Brandshaw (1968) mencionan que a 25 mg. L<sup>-1</sup> se inhibe el crecimiento total de *Agrostis tenuis*. Más recientemente, Duarte (2009) reporta

**Tabla 2.** Resultados de los análisis de inhibición de crecimiento por el método Probit de *Lactuca sativa* con SO<sub>4</sub>Cu.

Ecuación Lineal	R <sup>2</sup>	χ <sup>2</sup> Calculado	χ <sup>2</sup> Tabulado	CE <sub>50</sub> (mg. L <sup>-1</sup> )	Intervalo de confianza 95% (mg. L <sup>-1</sup> )
Y=1,7056x + 2,4786	0,9448	0. 941	5. 991	31. 707	20.546 - 46.518



**Figura 1.** Toxicidad aguda del Sulfato de Cobre en *L. sativa*. Longitud promedio de las raíces y efecto de Inhibición del crecimiento radicular (IP).



**Figura 2.** Toxicidad aguda del Nitrato de Cadmio en *L. sativa*. Longitud promedio de las raíces y efecto de Inhibición del crecimiento radicular (IP).

unos valores de 4,11 mg. L<sup>-1</sup> para *L. sativa*. Otros investigadores (Wu, 1975) reportan valores de inhibición para CuO de 12,9 mg. L<sup>-1</sup> que son similares a los obtenidos en este trabajo.

Sin embargo, ensayos realizados con otros modelos vegetales (Wong & Bradshaw, 1982) obtienen 0,02 mg. L<sup>-1</sup> de Cu utilizando *Lolium perenne*, Craig (1978) con varias especies de prueba, reporta valores de inhibición DL<sub>50</sub> a concentraciones muy inferiores, tales como: 0,04 mg. L<sup>-1</sup> para *Chlorisgayana*, 0,26 mg. L<sup>-1</sup> para *Panicum maximun*, y 0,27 mg. L<sup>-1</sup> para *Zea mays*. Estas diferencias podrían ser debidas a la sensibilidad de cada planta.

**Toxicidad del Cadmio**

El Cadmio, analizado en forma de sal de nitrato, presentó un valor de CE<sub>50</sub>, inferior al de los demás metales estudiados(Tabla 3, Figura 2); la toxicidad

del compuesto en forma de sal fue de 12,17 mg. L<sup>-1</sup> (4. 210 -18. 410), de esta cantidad 4,42 mg. L<sup>-1</sup> corresponde a Cd<sup>+2</sup>.

El cadmio es un elemento no esencial y poco abundante en la corteza terrestre, con una concentración promedio de 0,1-0,2 mcg. g<sup>-1</sup> y a bajas concentraciones puede ser tóxico para todos los organismos vivos; concentraciones iguales o inferiores a 0,22 mg. L<sup>-1</sup> estimulan el crecimiento radical, pero concentraciones mayores a 2,2 mg. L<sup>-1</sup> inhiben el crecimiento radical en forma proporcional a la concentración del metal utilizada, bloqueándose completamente el desarrollo a una concentración de 100 mg. L<sup>-1</sup>. Concentraciones menores de 5 mg. L<sup>-1</sup> pueden producir clorosis en *Nicotiana tobacum* variedad turca (Spencer, 1937). En su informe de toxicidad con *Lolium perenne*, Wong & Bradshaw, (1982) reporta una DL<sub>50</sub> de 1,85 mg. L<sup>-1</sup>.

**Tabla 3.** Resultados de los análisis de inhibición de crecimiento por el método Probit de *Lactuca sativa* con Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O.

Ecuación Lineal	R <sup>2</sup>	X <sup>2</sup> Calculado	X <sup>2</sup> Tabulado	CE <sub>50</sub> (mg. L <sup>-1</sup> )	Intervalo de confianza 95% (mg. L <sup>-1</sup> )
Y = 1,8427x + 3,112	0,9127	1. 326	5. 991	12. 170	4. 210 - 18. 410

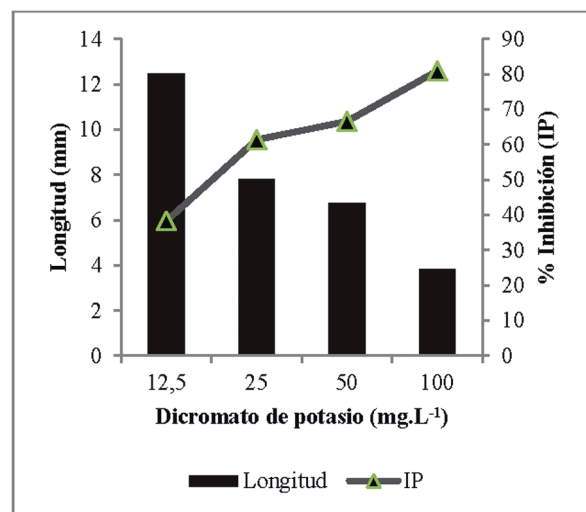
**Tabla 4.** Resultados de los análisis de inhibición por el método Probit de crecimiento de *Lactuca sativa* con  $K_2Cr_2O_7$ .

Ecuación Lineal	R <sup>2</sup>	X <sup>2</sup> Calculado	X <sup>2</sup> Tabulado	CE <sub>50</sub> (mg. L <sup>-1</sup> )	Intervalo de confianza 95% (mg. L <sup>-1</sup> )
Y = 1,2327x + 3,4142	0,9582	0.308	5.991	18. 944	2. 130 - 33. 944

### Toxicidad del cromo

En los resultados tras realizar el ensayo con  $K_2Cr_2O_7$  se presentan en la Tabla 4 y la Fig. 3. La CE<sub>50</sub> por el método Probit para el compuesto fue 18. 94 mg. L<sup>-1</sup> (2. 130 - 33. 944), de esta cantidad 6,61 mg. L<sup>-1</sup> corresponde a Cr.

El cromo se encuentra en la naturaleza en tres formas estables: como cromo metálico, Cr (III) y Cr (VI) siendo distintas sus propiedades tóxicas según su valencia, es el vigésimo primer elemento más abundante de la corteza terrestre, con una concentración promedio de 100 mg. kg<sup>-1</sup>. Concentraciones de 6 mg. L<sup>-1</sup> de Cromo en *Oriza sativa* producen inhibición de crecimiento de la raíz (Mukherji & Roy, 1977), este valor es similar al determinado en este estudio. No obstante, Duarte (2009) reporta unos valores aproximados a 35,43 mg. L<sup>-1</sup> de  $K_2Cr_2O_7$  para *L. sativa*.

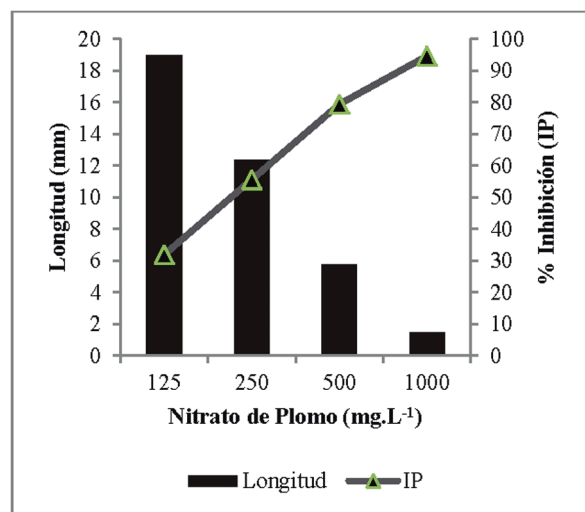


**Figura 3.** Toxicidad aguda del Dicromato de potasio en *L. sativa*. Longitud promedio de las raíces y efecto de Inhibición del crecimiento radicular (IP).

### Toxicidad del Plomo

La toxicidad del Plomo fue testada con  $Pb(NO_3)_2$  (Tabla 5 y Fig. 4). La CE<sub>50</sub> obtenida por el método Probit para el compuesto fue de 205. 883 mg. L<sup>-1</sup> (141. 642 - 268. 248), de la que 128. 75 mg. L<sup>-1</sup> corresponde a  $Pb^{+2}$ .

Entre los metales pesados de número atómico mayor de 60, el plomo es el más abundante en la corteza de la tierra. Aunque el plomo no es esencial para las plantas, éste es incorporado en mediante la unión a los compuestos de la pared celular y posteriormente es internalizado a las células. Según los datos obtenidos en este trabajo, el Plomo es el metal menos tóxico entre los seis metales testados, con una CE<sub>50</sub> muy superior al resto. Sin embargo, otros estudios presentan valores diferentes a los resultados obtenidos en esta investigación. Wong & Bradshaw (1982) reportan valores de 1,7 mg.



**Figura 4.** Toxicidad aguda del Nitrato de plomo en *L. sativa*. Longitud promedio de las raíces y efecto de Inhibición del crecimiento radicular (IP).

**Tabla 5.** Resultados de los análisis de inhibición de crecimiento por el método Probit de *Lactuca sativa* con  $Pb(NO_3)_2$ .

Ecuación Lineal	R <sup>2</sup>	X <sup>2</sup> Calculado	X <sup>2</sup> Tabulado	CE <sub>50</sub> (mg. L <sup>-1</sup> )	Intervalo de confianza 95% (mg. L <sup>-1</sup> )
Y = 2,2698x – 0,2866	0,9983	0.397	5.991	205.883	141.642 - 268.248

**Tabla 6.** Resultados de los análisis de inhibición de crecimiento por el método Probit de *Lactuca sativa* con SO<sub>4</sub>Zn.

Ecuación Lineal	R <sup>2</sup>	X <sup>2</sup> Calculado	X <sup>2</sup> Tabulado	CE <sub>50</sub> (mg. L <sup>-1</sup> )	Intervalo de confianza 95% (mg. L <sup>-1</sup> )
Y = 3,004x – 1,5894	0,9796	0.543	5.991	158.382	110.972 - 199.538

L<sup>-1</sup> de Pb utilizando *Lolium perenne*, Craig (1978) obtiene un valor de DL<sub>50</sub> de 11,2 mg. L<sup>-1</sup> para *Zea mays*, y de 10 mg. L<sup>-1</sup> para *Festuca ovina*.

### Toxicidad del Zinc

Los resultados tras realizar el ensayo con SO<sub>4</sub>Zn, (Tabla 6 y Fig. 5), donde la CE<sub>50</sub> obtenida por el método Probit para el compuesto fue de 158.38 mg. L<sup>-1</sup>, de esta cantidad 63,94 mg. L<sup>-1</sup> sería de Zn.

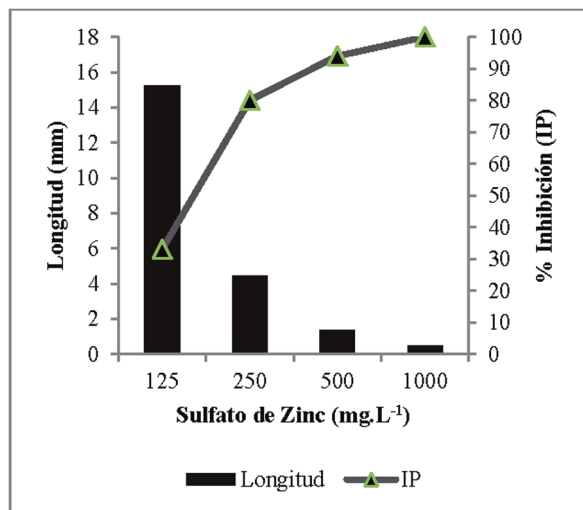
El Zinc es otro micronutriente esencial en la

planta, se encuentran en la naturaleza en la forma Zn<sup>+2</sup> a una concentración habitual de 20 mg. L<sup>-1</sup>, posee contribuciones funcionales destacadas en la formación de hormonas de crecimiento y la síntesis de proteínas; presentándose efectos tóxicos a concentraciones superiores. La CE<sub>50</sub> del Zn (63,94 mg. L<sup>-1</sup>) determinada en nuestro estudio con *L. sativa*, es considerablemente superior a los resultados de Wong & Bradshaw (1982), que reportan valores de DL<sub>50</sub> de 1,6 mg. L<sup>-1</sup> en *Lolium perenne*. Craig (1978) obtiene un valor de DL<sub>50</sub> de 8,37 mg. L<sup>-1</sup> para *Zea mays*, y para la inhibición total de crecimiento de 5 mg. L<sup>-1</sup> para *Phaseolus vulgaris*. Sutcliffe & Marshall (1971) exponen que 7 mg/L produce la muerte en *Agrostis tenuis*.

### Toxicidad de la Plata

La CE<sub>50</sub> obtenida por el método Probit para SO<sub>4</sub>Ag<sub>2</sub> (Tabla 7 y Fig. 6) fue de 79.722 mg. L<sup>-1</sup>, de la que 55,03 mg. L<sup>-1</sup> corresponde a Ag.

El tiosulfato de plata es utilizado normalmente para revertir el sexo de las plantas. Desde el punto de vista ecotoxicológico existe gran cantidad de información que sugiere que la responsable de la toxicidad de la plata es asignable a su forma iónica monovalente (Ag<sup>+</sup>). En lo que respecta a las distintas sales utilizadas en los ensayos de toxicidad, se observa que cuando se utiliza nitrato de plata la

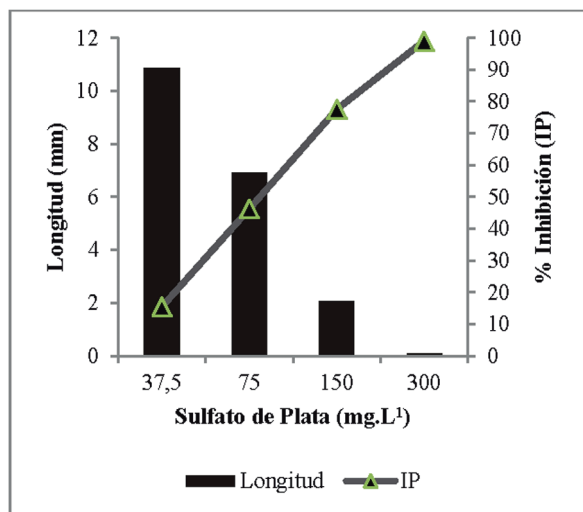


**Figura 5.** Toxicidad aguda del Sulfato de Zinc en *L. sativa*. Longitud promedio de las raíces y efecto de Inhibición del crecimiento radicular (IP).



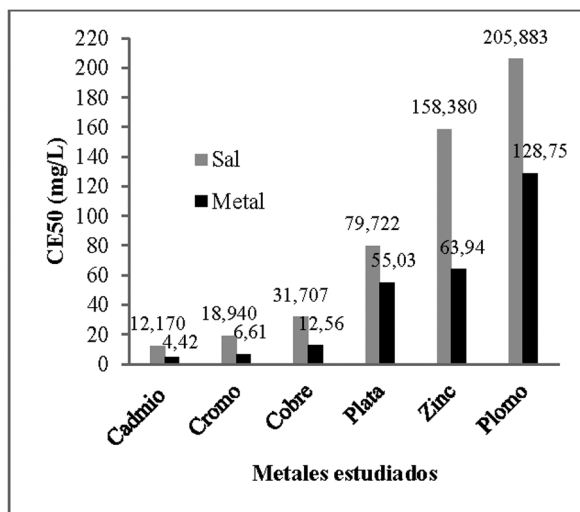
**Tabla 7.** Resultados de los análisis de inhibición de crecimiento por el método Probit de *Lactuca sativa* con  $\text{SO}_4 \text{Ag}_2$ .

Ecuación Lineal	R <sup>2</sup>	X <sup>2</sup> Calculado	X <sup>2</sup> Tabulado	CE <sub>50</sub> (mg. L <sup>-1</sup> )	Intervalo de confianza 95% (mg. L <sup>-1</sup> )
$y = 3,715x - 1,979$	0,9937	0. 752	5. 991	79. 722	57. 747 - 106. 618

**Figura 6.** Toxicidad aguda del Sulfato de plata en *L. sativa*. Longitud promedio de las raíces y efecto de Inhibición del crecimiento radicular (IP).

toxicidad es superior en varios órdenes de magnitud a la observada cuando se utilizan tiosulfato o cloruro de plata. Según Pérez y Baracaldo (2010), la concentración de inhibición (CE<sub>50</sub>-120) para compuestos puros de la Plata ( $\text{Ag}^+$ ) sobre la especie de semillas de lechuga (*L. sativa*) fue de 85,6mg. L<sup>-1</sup>.

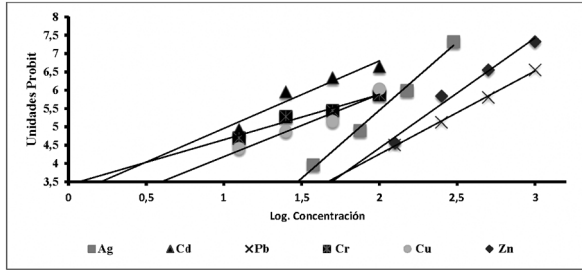
La figura 7 muestra los valores comparativos de inhibición de crecimiento radicular en términos de CE<sub>50</sub> y la cantidad de metal existente en cada compuesto. La comparación de resultados con otras investigaciones es complicada puesto que se utilizan diferentes especies de plantas vasculares. Según los resultados de otros autores (Iannacone *et al.*, 2005) utilizando plántulas como *A. cepa*, *B. vulgaris*, *O. sativa* y *Raphanus sativa* podemos afirmar que el Pb es el metal menos tóxico tanto para *L. sativa* como para las otras plantas, hay varias excepciones que nombran al Zn como el menos

**Figura 7.** Comparación de los valores de CE<sub>50</sub> y cantidad de metal de cada compuesto ensayado.

tóxico antes que al Pb (Vargas-Palomino *et al.*, 2007) pero son valores similares.

Las discrepancias más grandes que hemos encontrado con nuestro trabajo han sido los determinados por Duarte (2005) el cual reporta valores más tóxicos para el Cu que para el Cr. Según Wong & Bradshaw (1982), esta es la secuencia de toxicidad utilizando *Lolium perenne* para la inhibición de crecimiento  $\text{Cu} > \text{Pb} > \text{Cd} > \text{Zn} > \text{Cr}$ , y esta es la que proponen Cheung & Wong (1989) para *Brassicapa rachinensis*  $\text{Cd} > \text{Cu} > \text{Zn} > \text{Pb}$ . Estas diferencias pueden ser debidas a la fisiología de cada planta.

La inhibición en el crecimiento de la radícula de *L. sativa*, causada por los metales, sería una consecuencia de la alteración de los procesos normales de división y elongación celular durante los primeros días de crecimiento de las plantas (Samantary,2002). De acuerdo a los análisis de regresión del modelo log-Probit para cada com-



**Figura 8.** Rectas de regresión para el modelo Log-Probit sobre *L. sativa* 120h para cada uno de los compuestos ensayados.

puesto, mostrados en la Figura 8, la secuencia de toxicidad de metales en orden decreciente según la inhibición de crecimiento radicular (Figuras 7 y 8) fue: Cd > Cr > Cu > Ag > Zn > Pb, siendo el plomo con gran diferencia el menos tóxico y el cadmio el más tóxico, con valores similares al cromo. Al comparar los índices de inhibición del crecimiento radicular, concluimos que este es muy sensible según los resultados obtenidos.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los directivos de la FACEN por la oportunidad de realizar la estancia para el desarrollo de la investigación, así como a los estudiantes e investigadores del Laboratorio de Mutagénesis Ambiental, sin quienes no sería factible este trabajo.

### LITERATURA CITADA

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). 1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Editorial Diaz de Santos, S. A., Madrid. 1,576 pp.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. Part 8000, Toxicity. Clesceri, L. S.; Greenberg, A. E.; Eaton, A. D. Joint Editorial Board. 20th Ed.
- BECKETT, P.H.T. & DAVIS, R.D. 1978. The additivity of the toxic effects of copper, nickel and zinc in young barley. *New Phytologist*, 81, 155-173.
- BLACKBURN, L. & BOUTIN, C. 2003. Subtle effects of herbicide use in the context of genetically modified crops: A case study with glyphosate (Roundup R). *Ecotoxicology* 12, 271-28
- CASTILLO, G. (Ed.). 2004. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas. Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones. Edición conjunta IDRC, SEMARNAT, IMTA, México. 188 pp.
- CHEUNG, Y.H.; WONG, M.H. & TAM, N.F.Y. 1989. Root and Shoot Elongation as an Assessment of Heavy Metal Toxicity and Zn Equivalent Value of Edible Crops. *Hydrobiologia*, 188/189: 377-383.
- COUGHTLEY, P.J. & MARTIN, M. H. 1978. Tolerance of *Holcus lanatus* to lead, zinc and cadmium infactorial combination. *New Phytologist*, 81, 147-154.
- DUTKA, B. 1989. Short-term root elongation toxicity bioassay. *Methods for Toxicological Analysis of Waters, Wastewaters and Sediments*. National Water Research Institute (NWRI). Environment Canada.
- ENVIRONMENT CANADA. 1999. Guidance document on application and interpretation of single-species tests in environmental toxicology. EPS1/RM/34, Environmental Protection Service, Environment Canada, Ottawa, Ontario.
- IANNACONE, O.J. & ALVARIÑO, F.L. 2005. Ecotoxicological Effects of Three Heavy Metals on the Root Growth of Four Vascular Plants. *Agricultura Técnica*, 65(2), 198-203.
- JOWETT, D. 1964. Population studies on lead tolerant *Agrostis tenuis*. *Evolution*, 18, 70-84.
- LEWIS, M.A. 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. *Environmental Pollution*, 87, 319-336.
- LÓPEZ, T.; FRANCO DE DIANA, D.; FERNÁNDEZ PERALTA, V.; BENÍTEZ TORRES, C.; BENÍTEZ, M.; RAMOND, F.; LÓPEZ VERA, M.E.; BOBADILLA GIMÉNEZ, N.; KURITA, G.; ACUÑA, R.; CABALLERO, R.; LÓPEZ, D. 2013. Diagnóstico Ecotóxi-



- cológico y Genotóxico de los Afluentes del Lago Ypacarai, mediante bioensayos con *Daphnia magna* Straus, *Danio rerio*, *Lactuca sativa* L y *Allium cepa* L. Investigaciones y Estudios de la UNA. Recuperado el 10 de Noviembre de 2014, de <http://sdi.cnc.una.py/catbib/documentos/647.pdf>.
- LYTLE J.S. & LYTLE T.F. 2001. Use of plants for toxicity assessment of estuarine ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 68-83.
- MCNEILLY, T. & BRADSHAW, A.D. 1968. Evolutionary processes in populations of copper tolerant *Agrostis tenuis*, Sibth. *Evolution*, 11, 108-118.
- WONG, M. H., BRADSHAW, A. D, 1982. A comparison of the toxicity of heavy metals, using root elongation of rye grass, *Lolium perenne*. Department of Botany, Liverpool University, Liverpool L69 3BX, U. K.
- MOHAN, B.S. & HOSETTI, B.B. 1997. Potencial-phytotoxicity of lead and cadmium to *Lemna minor* grown in sewage stabilization ponds. *Environmental Pollution*, 98: 233-238.
- MOHAN R.S. & HOSETTI B.B. 1999. Aquatic plants for toxicity assessment. Review of Environmental Research. Section A. 81, 259-274.
- NEWMAN, M.C. & JAGOE, C.H. (EDTS.). 1996. *Ecotoxicology: a Hierarchical Treatment*. Lewis Publishers, Boca Raton, 411 pp.
- PEREZ OYOLA, F. & BARACALDO CUBIDES, C. 2010. Determinación de la Concentración de Inhibición Media (CE<sub>50</sub>-120) producida por la Plata (Ag<sup>+</sup>) y los detergentes aniónicos mediante bioensayos de toxicidad sobre semillas de lechuga (*Lactuca sativa* . L) Universidad de la Salle Facultad de Ingenierías. Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Bogotá DC.
- HULZEBOS, E.M.; ADEMA, D.M.M.; DIRVEN-VAN BREEMEN, E.M.; HENZEN, L.; VAN DIS, W.A.; HERBOLD, H.A.; HOEKSTRA, J.A.; BAERSELMAN, R. & VAN GESTEL, C.A.M. 1993. Phytotoxicity studies with *Lactuca sativa* in soil and nutrient solution. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12: 1079-1094.
- SAMANTARY S, 2002. Biochemical responses of Cr-tolerant and Cr-sensitive mung bean cultivars grown on varying levels of chromium. *Chemosphere* 47, 1065-1072.
- VARGAS-PALOMINOS. L, MARTÍNEZ-TRUJILLO. M, ORTIZ-CASTRO. R, LÓPEZ-BUCIO. J. 2007. Efecto de metales pesados sobre el crecimiento de la raíz primaria de *Arabidopsisthaliana* L. Facultad de Biología, Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH.
- WANG W & FREEMARK K, 1995. The use of plants for environmental monitoring and assessment. *Ecotoxicology & Environmental Safety* 30, 289-301.
- WILKINS, D. A. 1957. A technique for the measurement of lead tolerance in plants. *Nature*, 180, 37-38.
- WU, L. & ANTONOVICS, J. 1975. Zinc and copper uptake by *Agrostisstolonifera*, tolerant to both zinc and copper. *New Phytologist*, 75, 231-237.
- ZAKRZEWSKI SF, 1991. *Principles of Environmental Toxicology*. American Chemical Society, Washington DC. 270 pp.