

## Toxicidad aguda de lixiviados acuosos mediante un ensayo con *Lactuca sativa* L.

Marina Teresa TORRES RODRÍGUEZ, Maricel GARCÍA MELIÁN, Nélica M. HERNÁNDEZ PERERA y Marta FERNÁNDEZ NOVO

Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM) Infanta No.1158 entre Clavel y Llináz, Centro-Habana. Telf: 8781736. E-mail: [marina@inhem.sld.cu](mailto:marina@inhem.sld.cu)

### RESUMEN

En el trabajo se determinó la toxicidad aguda de lixiviados acuosos de productos utilizados como impermeabilizantes de depósitos de agua potable, mediante el empleo del ensayo de prolongación de la raíz utilizando semillas de lechuga (var. BSS). Se ensayó la muestra pura y cuatro diluciones de ésta, así como un control negativo, realizando el experimento por duplicado. Además, se realizaron ensayos químicos al lixiviado y un estudio de la posible interferencia de cloruros en el efecto medido. Las mediciones se realizaron después de mantenerse las muestras por 5 días en incubación a 20°C en la oscuridad. Se calculó la IC<sub>50</sub> (concentración inhibitoria de la longitud de la raíz en un 50% en comparación con el control) así como se confeccionaron las curvas dosis-efecto correspondientes.

La prueba resultó sencilla y poco costosa y puede ser utilizada como indicador sensible de efectos biológicos de las sustancias químicas presentes en muestras ambientales.

**Palabras clave:** Bioensayos, toxicidad, *Lactuca*, *Allium*.

### INTRODUCCIÓN

Cada día son introducidas al ambiente nuevas sustancias químicas por lo que en términos de consumo de tiempo, espacio y costo, la evaluación de las mismas mediante la utilización de ensayos convencionales con animales resultaría impracticable.<sup>1</sup> De esta forma, la necesidad de procedimientos baratos y rápidos para el tamizaje de la toxicidad de sustancias químicas presentes en

muestras ambientales, ha conducido al desarrollo de diferentes bioensayos a corto plazo con sistemas de plantas por las ventajas que éstas poseen: son fáciles de manipular y almacenar, - bajo costo, - similares mecanismos enzimáticos que los sistemas con animales, - buena correlación con otros sistemas de pruebas, - biotransformación cualitativamente similar que los animales, además, las plantas superiores son organismos eucarióticos, por lo tanto, son más comparables a la mayoría de las especies de la flora y fauna superiores.<sup>2</sup>

Numerosos son los países que utilizan los sistemas de plantas para la evaluación toxicológica de muestras ambientales.<sup>3,4,5,6,7</sup> En Cuba se reportan aislados trabajos que abordan la aplicación de los ensayos con plantas en la evaluación y análisis de muestras ambientales.<sup>8,9</sup>

Es por lo anterior, que nos dimos a la tarea de incorporar al laboratorio de Ensayos Toxicológicos del INHEM un bioensayo a corto plazo para la toxicidad aguda de lixiviados acuosos de productos utilizados como impermeabilizantes de depósitos de agua potable, mediante el empleo del ensayo de prolongación de la raíz,<sup>10</sup> utilizando semillas de *Lactuca sativa* L. (lechuga) var. BSS (Black Seed Simpson, variedad de invierno) empleada en nuestros cultivos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Material de prueba

Se probaron lixiviados acuosos de material empleado en el sellado de depósitos de agua potable de cuatro firmas comerciales diferentes, los cuales fueron preparados teniendo en cuenta las condiciones de aplicación del fabricante.

### Material biológico

Fueron utilizadas semillas de lechuga variedad BSS con similares dimensiones. Las semillas se conservaron en placas de petri en refrigeración (4°C) y en el momento de la prueba se seleccionaron cuidadosamente por su tamaño, forma y color.

### Procedimiento

El método a corto plazo utilizado fue el bioensayo de la prolongación de la raíz propuesto por Dutka (1989),<sup>10</sup> el cual fue ejecutado de la siguiente forma:

- Se seleccionaron 25 semillas por placa de petri las cuales fueron colocadas en 5 filas de 5 semillas cada una.
- Se ensayaron 4 diluciones por muestra preparadas en alícuotas de 20 mL
- En cada experimento se probó de 2 a 3 mL de la muestra pura, 4 diluciones y un control negativo (agua destilada estéril), todo por duplicado.
- Las placas fueron incubadas en la oscuridad a 20°C por 120 horas (5 días).
- Después de la incubación, se anotó el número de semillas que germinaron y se midió la longitud de la raíz en milímetros.

### Evaluación de los datos

La toxicidad fue evaluada por la medición de los efectos subletales (inhibición de la prolongación de la raíz).<sup>11</sup> El porcentaje de inhibición de la prolongación de la raíz (IP) se realizó mediante la fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Muestra} - \text{Control}}{\text{Control}} \times 100$$

IP negativa: Tóxica (inhibición de la prolongación de la raíz).

IP positiva: Se consideró estimulación del crecimiento.

IP = 0 : No tóxica.

El procesamiento estadístico de toda la información se realizó en Microsoft Excel 2003, y con el paquete de programas STATISTICA, versión 5 para Windows (StaSoft, Inc., 1996).

### RESULTADOS

De los cuatro lixiviados analizados sólo uno resultó tóxico. En la Figura 1 se puede observar que la muestra pura produjo un 87% de inhibición de la prolongación de la raíz del vegetal (efecto), mientras que el 50% de la inhibición es producido por el 24% de la muestra. Por debajo del 6% no hay efecto. Los valores de IP resultaron negativos en todas las dosis probadas.

Se realizó el estudio de la migración de sólidos del impermeabilizante al agua después de 72 horas en contacto con el mismo, verificándose que el que presentó una toxicidad positiva tuvo un mayor porcentaje de migración (Tabla 1). Al analizar los

posibles contaminantes de las muestras se pudo comprobar que contenían una alta concentración de cloruros por lo que nos dimos a la tarea de realizar un ensayo paralelo con el objetivo de identificar la interferencia de los mismos en los resultados de las muestras.

Impermeabilizante	Toxicidad	% de migración (media aritmética)
Uno	Positiva	0.31
Dos	Negativa	No detectable
Tres	Negativa	0.004
Cuatro	Negativa	0.0009

Tabla 1. Porcentaje de migración de sólidos al agua de los cuatro impermeabilizantes ensayados.

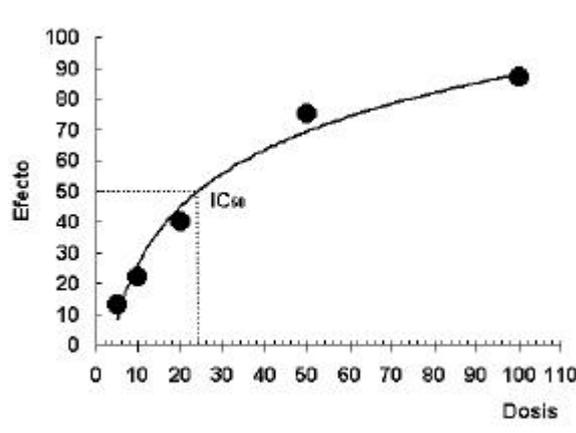


Figura 1. Curva dosis-efecto.

Se ensayó con un control positivo de cloruros a la misma concentración reportada para la muestra en la que fueron detectados (por debajo del 0,19%). No se halló influencia de los mismos en la prolongación de la raíz de las semillas. Esto coincide con lo planteado por Dutka (comunicación personal) en que el cloruro sólo se convierte en control positivo en concentraciones entre 0,4 y 0,5%.

### DISCUSIÓN

La prueba de la prolongación de la raíz de un vegetal con *Lactuca sativa* L. resultó sensible en la evaluación de este tipo de muestra, a pesar de que no poseemos resultados con los que se puedan comparar los obtenidos en los lixiviados acuosos probados. Esto concuerda con lo planteado por Dutka, 1989 y Castillo, 2004 ya que ambos autores sugieren la aplicación de esta prueba en la evaluación

toxicológica de diferentes tipos de muestras ambientales.

La toxicidad significativa obtenida en las diferentes dosis analizadas del lixiviado, nos hacen pensar en un efecto resultante de la interacción de uno o más sustancias presentes en la muestra (que puede ser aditivo, sinérgico, de potenciación o antagónico), lo cual no pudo ser medido pero de hecho, nuestros resultados señalan la necesidad de una complementación mediante análisis químico tanto de la mezcla compleja analizada como de las sustancias tóxicas individuales.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Liu D, Chau YK., Dutka BJ. Rapid Toxicity Assessment of Water-Soluble and Water-Insoluble Chemicals Using a Modified Agar Plate Method. *Water Research* 1989; 23:333-339.
2. Fiskesjö G. The Allium Test in Wastewater Monitoring. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal* 1993; 8:291-298.
3. Arkhipchuk VV, Romanenko VD, Malinovskaya MV, Kipnis LS et. al. Toxicity assessment of water samples with a set of animal and plant bioassays: Experience of the Ukrainian participation in the watertox program. *Environmental Toxicology* 2000; 15:277-286.
4. Castillo G, Vila IC, Neild N. Ecotoxicity assessment of metals and wastewater using multitrophic assays. *Environmental Toxicology* 2000; 5: 370-375.
5. Díaz-Báez MC, Pérez JB. Intralaboratory experience with a battery of bioassays: Colombia experience. *Environmental Toxicology* 2000;15: 297-303.
6. Ronco A., Gagnon P, Díaz-Báez MC, Arkhipchuk VV et. al. Overview of results from the watertox intercalibration and environmental testing phase II program: Part 1, Statistical analysis of blind simple testing. *Environmental Toxicology* 2002; 17: 232-240.
7. Iannacone J, Alvariño L. Efecto ecotoxicológico de tres metales pesados sobre el crecimiento radicular de cuatro plantas vasculares. *Agricultura Técnica* 2004; 26: 198-203.
8. Reynaldo IM, Jerez E, Torres J. Fototoxicidad del aluminio en plántulas de arroz de la variedad LP-7. *Contribución a la Educación y la Protección Ambiental, Cátedra de Medio Ambiente* 2000; 1: 89-93.
9. Domínguez A., Bonne R, Escalona R, Ávila R et. al. [Sitio de Internet]. 2003. [Citado el 8 de Agosto del 2005]: [1p]. Potencialidades fitotóxicas y genotóxicas de residuales acuícolas. Disponible en URL:<http://Medioambiente.cu/marcuba/Programa%20Carteles%20Final.htm>.
10. Dutka BJ. Short-Term Root Elongation Toxicity Bioassay Methods for Microbiological and Toxicological Analysis of Waters Wastewaters and Sediments. Rivers Research Institute. NWRI. Burlington, Ont. Canada. 1989.
11. Poi de Neiff A, Ramos A. [Sitio de Internet] 2001. [Citado 12 de Enero del 2005]: [1p]. Utilización de bioensayos para el estudio ecotoxicológico de los ríos Salado y Negro (Chaco, Argentina). Disponible en URL:<http://www.UNNE.edu.ar/cyt/2001/6-Biologicas/B-019.pdf>