



Bioensayo de germinación de *Lactuca sativa* (L.): determinación de calidad de agua en represas para riego.¹

Germination bioassay of *Lactuca sativa* (L.):
to determine water quality in irrigation dams.

María del C. Lallana ²
Cristina E. Billard ²

José H. Elizalde ²
Víctor H. Lallana ²

Originales
Recepción: 26/06/2007
Aceptación: 17/09/2007

RESUMEN

En el norte de la provincia de Entre Ríos se ha desarrollado un modelo de producción de arroz basado en el uso de agua superficial mediante la construcción de presas de tierra: existen más de 60 con superficies variables. El uso de agroquímicos en esa zona podría introducir un factor de contaminación en el suelo y en el agua de las represas. El objetivo de este trabajo fue determinar la calidad del agua de 19 represas para riego del centro norte de Entre Ríos, mediante bioensayos de germinación de *Lactuca sativa* var. mantecosa. Los bioensayos se realizaron en cajas de Petri, con papel de filtro en la base humedecido con 3 ml de agua de la muestra correspondiente. Se sembraron 20 semillas por caja, distribuyéndose los tratamientos en bloques al azar con 4 repeticiones, en cámara de germinación con alternancia de luz y oscuridad. Se registró el porcentaje de germinación y la longitud promedio de la raíz; se calculó un índice de germinación. El porcentaje de germinación promedio de los tratamientos fue de 96,07% y de 97,9% en el testigo. El índice de germinación en todos los casos fue superior al 60% y no se detectó toxicidad en el agua proveniente de las distintas represas.

ABSTRACT

In the North of the Entre Ríos province, a model for rice production has been developed, based in the use of superficial water from more than 60 land dams with variable surfaces. The usage of agrochemicals in the area might bring a contamination factor to the soil and dam water. The objective of this work was to determine water quality from 19 irrigation dams situated in the Central North of the Entre Ríos province through germination bioassays of *Lactuca sativa*, butterhead variety. Bioassays were carried out in Petri boxes with filter paper at the bottom, wet with 3 ml of corresponding sample water. Twenty seeds were sowed per box, treatments being distributed in blocks at random with 4 repetitions in germination chamber under alternating light and dark condition. Germination percentage was recorded and the average root length; was estimated a germination index. The average germination percentage of treatments was 96.07% and 97.9% in the control treatment. The germination index in all cases was higher than 60% and toxicity was not detected in the water from different dams.

Palabras clave

Lactuca sativa (L.) • germinación • crecimiento radical • toxicidad • represas

Keywords

Lactuca sativa (L.) • germination • root growth • toxicity • dams

- 1 Trabajo financiado por el Proyecto Federal de Innovación Productiva (PFIP 2004 - Res. N° 1028/04 SECTIP) "Caracterización ecológica ambiental de represas para riego en Entre Ríos" y por la Universidad Nacional de Entre Ríos (PID - UNER 2111).
- 2 Cátedra de Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Entre Ríos. Ruta 11, km 10,5. (3101) Oro Verde, Paraná. Entre Ríos. Argentina. maryl@fca.uner.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Los procesos industriales, algunos procesos productivos como el agropecuario, el confort y el mantenimiento de la salud humana y animal están sustentados por la liberación al ambiente de grandes cantidades de xenobióticos, es decir sustancias orgánicas sintéticas de diversas clases: insecticidas, herbicidas, fungicidas, drogas, fertilizantes, surfactantes, etc. (5).

El riego del cultivo del arroz es el principal destino del agua de las represas construidas en la provincia de Entre Ríos. Cabe señalar que en dicha provincia y en Corrientes se concentra el 90% del área cultivada con arroz en el país; la superficie sembrada ha ido fluctuando a través del tiempo en función de los precios y el aumento de los costos; actualmente se siembran unas 65.000 ha (15). En los últimos años, en los departamentos del norte del área arrocería (Federal, Federación y Feliciano) se ha desarrollado un modelo de producción de arroz, basado en el uso de agua superficial a través de la construcción de presas de tierra, con un registro de 43 sobre un total de 59 presas en la provincia, con 9.181,93 ha inundadas (2, 3). Solamente el 15,29% de los lotes ocupados con arroz tiene riego por embalse de agua superficial (2).

Por otra parte, cabe mencionar el avance de la agricultura y especialmente de la soja hacia zonas tradicionalmente ocupadas por el arroz, fundado en razones de rentabilidad, y también la fluctuación de los mercados para la colocación del cereal. La agricultura lleva implícito el uso de productos químicos, los cuales podrían llegar hasta las represas, por arrastre de la cuenca, introduciendo un factor de contaminación en el agua y a futuro en el suelo regado con la misma. Sánchez (14) señaló que la aplicación de agrotóxicos y fertilizantes es una de las fuentes de contaminación de las aguas, considerada como una fuente difusa (no puntual), continua o intermitente. Durante las lluvias, los cursos de agua reciben una carga adicional de contaminantes provenientes del "lavado" del suelo y de la atmósfera.

Son conocidas las principales características de los productos que se utilizan, pero no en todos los casos se sabe cuál es su transformación en el ambiente y si pueden hallarse residuos en el suelo y/o en los cursos de agua. La determinación específica de los productos y subproductos residuales es compleja, costosa y necesaria cuando se ha detectado previamente cierto nivel de contaminación.

De allí la importancia que adquieren los bioensayos llevados a cabo con especies terrestres, consideradas sensibles (rúcula, lechuga, rabanito, berro, tomate, arroz) que, en un reducido tiempo de exposición, sin requerir equipamiento sofisticado ni altos costos, resultan sumamente útiles para ser aplicados en muestras ambientales o en el monitoreo de procesos de detoxificación, saneamiento, control de efluentes o reutilización de biosólidos (6, 16), detección de salinidad o presencia de herbicidas en aguas (4, 7).

Cabe mencionar que la inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo constituyen indicadores subletales muy sensibles en la evaluación de efectos biológicos (6) para determinar la calidad del agua; asimismo, el crecimiento de la raíz como punto final de lectura es más sensible a la toxicidad que la germinación de las semillas (6, 16).

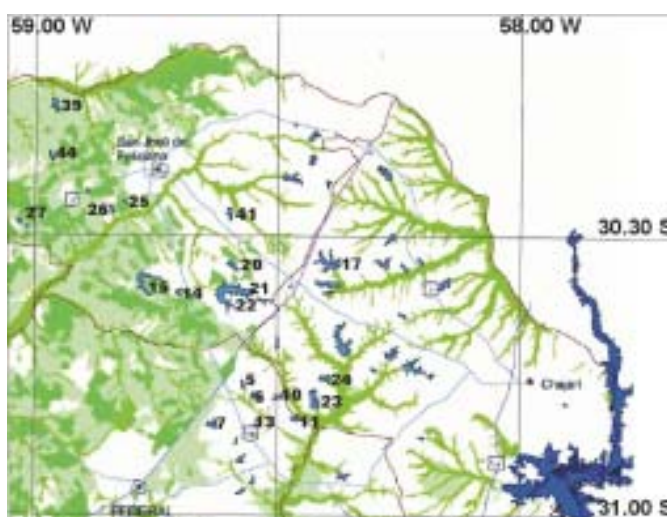
Objetivo

- Determinar la calidad del agua de 19 represas para riego del centro norte de Entre Ríos (Argentina) mediante bioensayos de germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa* var. mantecosa).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Los muestreos se realizaron entre el 01/11/05 y el 01/06/06, en 19 represas de los departamentos Federal, Federación y Feliciano de la provincia de Entre Ríos, Argentina. A continuación se presenta la ubicación de las 19 represas en el centro norte de la provincia de Entre Ríos, Argentina, con su correspondiente número de identificación (ID); las zonas coloreadas de verde corresponden a áreas con montes nativos y las celestes a cuerpos de agua artificiales.



Referencia ID:

5 La Concepción; 6 La Clodomira II; 7 El Fortín; 10 La Clodomira; 11 Rincón de los Negros; 13 Don Tito; 14 La Luchita; 15 La Lucha; 17 Buena Esperanza; 20 La Colorada; 21 y 22 Pilecco; 23 Miraflores; 24 Ex-Miraflores; 25 (43) La Vascongada I; 26 (42) La Vascongada II; 27 El Retiro; 39 Loitegui I; 41 San Benito; 44 Loitegui II.

Las represas son de dimensiones variables: entre 28 y 1.253 ha; se caracterizan por estar ubicadas en las nacientes de los arroyos y colectan el agua pluvial de la cuenca de influencia. Las precipitaciones promedio en la región son de 1000 mm anuales. El color de sus aguas es pardo claro a oscuro, dependiendo de la cantidad de sedimentos y de los vientos.

Se encontró una riqueza específica de 72 especies vegetales y 114 especies de aves (9) en 16 represas, con un promedio de 11 y 23 especies por represa, respectivamente. Dentro de las especies vegetales, las formas biológicas dominantes fueron

las emergentes o palustres (53%) y las flotantes libres (29%). Las especies más frecuentes fueron: *Ludwigia peploides*, *Potamogeton* sp., *Sagittaria montevidensis*, *Alternanthera philoxeroides*, *Azolla caroliniana*, *Cyperus* sp., *Eichhornia azurea*, *Limnobium spongia*, *Pistia stratiotes*, *Polygonum hidropiperoides*, *Salvinia herzogii*, *Echinochloa colonum*, *Eleocharis* sp., *Leersia hexandra*, *Nymphoides indica* (9).

En las fotos 1, 2 y 3 se muestran ambientes de represas con vegetación acuática y palustre en sus márgenes.



1. Margen vegetada de la represa ID 10 La Colorada. En primer plano se observa el caño de bombeo de 50 cm de diámetro por donde se conduce el agua hasta los cultivos; en la parte superior derecha, un lote recién sembrado con arroz limitando con el borde de la represa.



2 . Zona de vegetación acuática y palustre en primer plano, en un extremo de la represa ID 20 La Colorada. En el margen opuesto domina un paisaje de monte abierto y pastizales. Especies vegetales: *Gymnocoronis spilanthoides*, *Nymphoides indica*, *Sagittaria montevidensis*, *Leersia hexandra*, *Eichhornia azurea*.



3 . Cuerpo de agua colmatado de vegetación acuática sumergida y plantas flotantes libres en las márgenes, retenidas entre árboles (secos en pie). En primer plano *Elodea* sp. y *Cabomba* sp., ambas en flor.



Muestreo de agua y bioensayos

En la presa denominada Pilecco, dado su gran tamaño (1253 ha) se tomaron dos muestras: una en el frente de la presa (ID 22) y otra en un brazo (ID 21). Las denominadas La Vascongada I y II (ID 25 y 26) se muestrearon en situación de aguas altas y en fecha posterior, en situación de aguas bajas (ID 43 y 42).

Las muestras se obtuvieron a una profundidad de 30 cm y aproximadamente en el centro de cada represa. A campo se registraron los siguientes parámetros físico-químicos: transparencia (Tr), pH, turbiedad (Tu), oxígeno disuelto (OD), conductividad eléctrica (CE) y temperatura (T°), con un analizador múltiple Horiba. Como dato complementario se midió la profundidad y transparencia del agua con disco de Secchi.

Los bioensayos de germinación se realizaron en cajas de Petri, en las que se colocó un disco de papel de filtro en la base, humedecido con 3 ml de agua de la muestra correspondiente. Se sembraron 20 semillas de lechuga en cada caja, se cubrieron con una lámina de polietileno y luego con la tapa de la caja de Petri. A medida que se efectuaban los muestreos se realizaban los ensayos, que se distribuyeron en bloques completamente aleatorizados, ubicados en cámara de germinación a $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ con alternancia de luz 16 (horas) y oscuridad (8 horas). Los tratamientos incluyeron testigos (control negativo con agua destilada) y tuvieron 4 repeticiones.

A las 96 horas, utilizando un calibre digital, se registró el número de semillas germinadas y la longitud de la radícula: se calculó el promedio de longitud radical y el porcentaje de germinación de cada repetición. Estos valores se utilizaron para calcular un índice de germinación (IG), multiplicando el número de semillas germinadas por la longitud media de la raíz, expresando ambos parámetros como porcentaje respecto al testigo (12, 17). Los datos se analizaron estadísticamente con el programa Infostat (8) para el análisis de la variancia y se utilizó la prueba de Dunnett (11), con un nivel de confianza del 95%, comparándose todos los tratamientos con el testigo o control negativo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La superficie promedio de las represas muestreadas fue de 232 ha con un mínimo de 28 y un máximo de 1.253 ha. Los parámetros físico-químicos registrados a campo (tabla 1, pág. 34) muestran en general bajos valores de CE, siendo los más bajos los de las represas en situación de aguas altas, pero sin diferencias significativas entre ambas situaciones. El mayor valor se encontró en la muestra ID 27 ($280 \mu\text{S cm}^{-1}$).

En algunas presas hubo mucha cobertura de vegetación acuática y palustre y por lo tanto una alta transparencia del agua (60 a 100 cm). En general los demás parámetros se encontraron dentro de la normalidad, con excepción del muy bajo valor de OD (2 mg/l) en la ID 26, que podría indicar una alta carga de material orgánico, que al ser degradado por los microorganismos y elevar éstos el consumo de oxígeno disminuirían el contenido en el agua (14), especialmente en esta represa que se encontraba en situación de aguas bajas, por falta de lluvias, y con abundante vegetación acuática palustre y terrestre.

Primeramente se analizaron los resultados de los bioensayos realizados con las aguas de las distintas represas, agrupadas en situación de aguas altas y de aguas bajas. El análisis de variancia mostró una baja correlación ($R^2 = 0,01$), con un coeficiente de variación de 20,05%; no se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ambos grupos de muestras analizadas en función de los valores del IG. Por tal motivo las muestras se analizaron en conjunto.

Tabla 1. Valores de transparencia (Tr), pH, conductividad eléctrica (CE), turbiedad (Tu), oxígeno disuelto (OD), temperatura (T°) y nivel relativo de agua (NR) registrados "in situ" en 22 muestras de agua correspondientes a 19 represas (ID, pág. 31).

ID	Parámetros físicos						
	Tr (cm)	pH	CE ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Tu (NTU)	OD (mg/l)	T° (°C)	NR
5	19	7,7	90	5	9,5	24	Alto
6	57	7,8	140	1	10,1	24	Alto
7	15	7,4	70	8	8,8	21	Alto
10	-	7,2	110	2	8,8	20	Alto
11	-	7,9	100	3	10	24	Alto
13	-	8,5	110	2	12,8	21	Alto
14	57	7	100	1	6,5	24	Alto
15	112	7,4	50	1	7,2	24	Alto
17	36	8,1	70	2	9,6	28	Alto
20	31	7,1	90	3	7,2	24	Alto
21	-	7,8	90	20	10,0	26	Alto
22	-	7,6	90	2	8,6	27	Alto
23	10	7,1	130	12	6,7	27	Bajo
24	10	7,4	160	12	6,9	27	Bajo
25	35	7,4	130	4	7,1	26	Bajo
26	62	6,4	140	1	2	25	Bajo
27	10	8	280	6	7,6	26	Bajo
39	9	6,9	120	11,4	9,9	15,3	Bajo
41	12	6,7	130	84	10,6	16,5	Bajo
42	62	6,4	120	9	8,4	15,3	Bajo
43	100	6,4	140	3	8	15,2	Bajo
44	5	6,1	107	183	9,3	15,3	Bajo

La evaluación de la germinación y longitud radicular se realizó a las 96 horas, tiempo menor a las 120 horas sugeridas por el IDRC/IMTA (6) y coincidente con el tiempo establecido por Iannacone et al. (7) para esta especie. Ensayos previos mostraron muy buen desarrollo radicular y de hipocótilo en ese lapso.

El porcentaje de germinación promedio de los tratamientos fue de 96,07 y 97,9% en el testigo, indicando que no hubo ningún efecto de toxicidad del agua sobre la germinación, siguiendo los criterios de Poi de Neiff y Ramos (13), que consideran aguas tóxicas cuando los porcentajes de germinación se encuentran entre 75 y 90% con respecto al testigo.

Tanto la longitud radicular como el IG presentaron diferencias altamente significativas ($p < 0,0001$) con respecto al testigo, con un R^2 de 0,81 y 0,73 y coeficientes de variación de 17,3 y 11,6, respectivamente (gráficos 1 y 2).

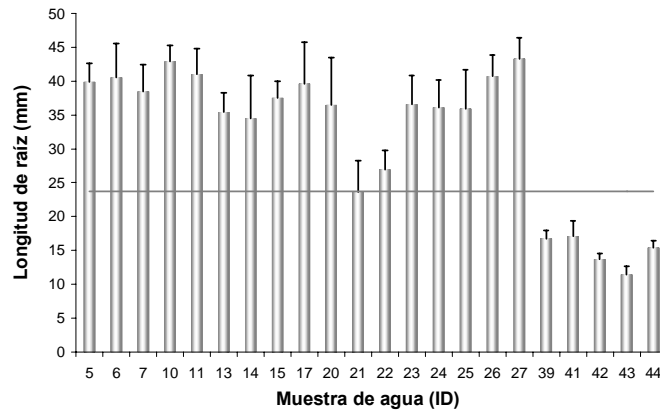


Gráfico 1. Longitud radical promedio de lechuga (mm) y desvío estándar, en los 22 tratamientos (muestras de agua) comparados con el testigo (línea horizontal = 23,8 mm).

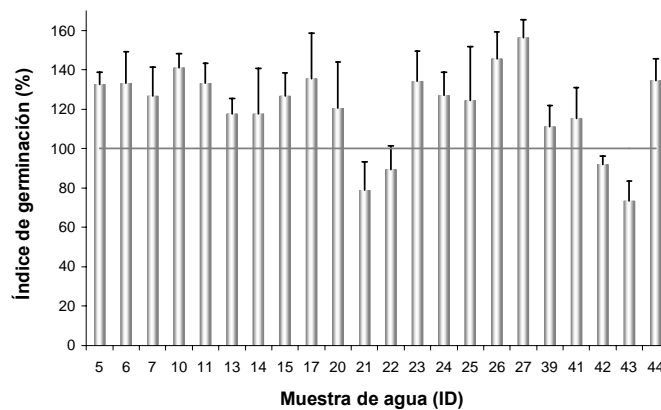


Gráfico 2. Índice de germinación (%) de lechuga, promedio y desvío estándar de los 22 tratamientos comparados con el testigo (100% línea horizontal).

Para la longitud radicular, todos los tratamientos dieron diferencias significativas con respecto al testigo, con excepción del ID 21 (brazo de la presa Pilecco - Feliciano). El ID 21 y los ID 39, 41, 42, 43 y 44 presentaron un crecimiento 7,4% menor en promedio que el testigo (tabla 2, pág. 36; gráfico 1). Este menor crecimiento podría atribuirse a alguna pequeña variación en las condiciones experimentales, por ejemplo en la intensidad de luz, ya que la temperatura y el pH fueron los mismos en todo el ensayo y según lo hallado por Lewis (10) éstos son los tres factores que más afectan los resultados de los bioensayos. No obstante ello, en ningún caso la reducción en el crecimiento llegó a ser del 50% con respecto al testigo, como para ser considerada tóxica (1, 6).

En las aguas de la mayoría de las represas se registró un crecimiento 14,1% mayor en promedio que el testigo (gráfico 1). Esto podría atribuirse a la presencia de material orgánico e inorgánico (vegetación y sedimentos) presente en las represas, que estimuló el crecimiento.

Tabla 2. Análisis de los datos de la longitud radical (mm) e IG (%) de lechuga mediante la prueba de Dunnett para los 22 tratamientos.

Longitud radical			Índice de germinación		
ID	Δ Media	Significación	ID	Δ Media	Significación
43	12,3	*	43	26,58	*
42	10,5	*	21	21,07	*
44	8,39	*	22	10,57	*
39	7,08	*	42	8,14	*
41	6,66	*	39	11,13	*
21	0,12	ns	41	15,21	*
22	3,19	*	13	17,61	*
14	10,71	*	14	17,74	*
13	11,68	*	20	20,61	*
25	12,15	*	25	24,29	*
24	12,34	*	7	26,55	*
20	12,69	*	15	26,78	*
23	12,85	*	24	26,99	*
15	13,74	*	5	32,38	*
7	14,7	*	6	33,12	*
17	15,83	*	11	33,25	*
5	16,15	*	23	34,08	*
6	16,76	*	44	34,38	*
26	16,95	*	17	35,37	*
11	17,27	*	10	40,09	*
10	19,12	*	26	45,47	*
27	19,51	*	27	56,38	*

Δ media: diferencia de valores medios de cada tratamiento con el testigo.

Mínima diferencia significativa para longitud radical = 1,8737 $\alpha = 0,05$

Mínima diferencia significativa IG = 4,8246 $\alpha = 0,05$

* = diferencia significativa; ns = diferencia no significativa

El test de Dunnett para el índice de germinación dio diferencias significativas en todos los tratamientos con respecto al testigo, pero en ningún caso fueron inferiores a 60% (tabla 2; gráfico 2, pág. 35), como para ser considerados fitotóxicos (12, 17). Los ID 21, 22, 42 y 43 fueron inferiores en promedio en un 16,6% al testigo y los restantes ID todos superiores (en promedio 29,5% mayor); en el caso del ID 27 (El Retiro - Feliciano) fue 56% superior al testigo (tabla 2).

Se destaca que en esta represa -muestreada en una situación de aguas bajas- se registró el mayor valor de conductividad eléctrica en mediciones de campo ($280 \mu\text{S cm}^{-1}$), comparados con el resto de los sitios de muestreo (tabla 1, pág. 34), que oscilaron entre $50 \mu\text{S cm}^{-1}$ (ID 15: aguas altas) y $160 \mu\text{S cm}^{-1}$ (ID 24: aguas bajas).

CONCLUSIONES

- ❖ El porcentaje de germinación promedio de los tratamientos y del testigo fue cercano al 97% indicando que no presentaron toxicidad alguna que pudiera inhibir el proceso de germinación.
- ❖ Las aguas de las represas analizadas en los bioensayos con *Lactuca sativa* L. var. mantecosa presentaron altos valores del índice de germinación, lo cual indicaría que no son fitotóxicas y resultan de buena calidad para ser utilizadas con fines de riego.

BIBLIOGRAFÍA

1. APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. 1998. Part 8000, Toxicity. Clesceri, L. S.; Greenberg, A. E.; Eaton, A. D. Joint Editorial Board. 20th Ed.
2. Carñel, G.; Díaz, E.; Duarte, O.; Wilson, M.; Lenzi, L. 2006. Identificación y cuantificación de las presas para riego en la provincia de Entre Ríos. En: Benavídez, R. El arroz. Su cultivo y sustentabilidad en Entre Ríos. Editorial UNL-EDUNER. Argentina. 2: 479-491.
3. Díaz, E.; Duarte, O.; Lenzi, L. 2006. Los recursos hídricos y la sustentabilidad de la producción arrocerá enterrerriana. En: Benavídez, R. El arroz. Su cultivo y sustentabilidad en Entre Ríos. Editorial UNL-EDUNER. Argentina. 2: 681-691.
4. Foti, M. N.; Lallana, V. H. 2005. Bioensayo de germinación con semillas de *Eruca sativa* Mill. para la detección de salinidad y presencia de herbicida en agua. Revista FABICIB (9):9-16.
5. Gutiérrez, H.; Arregui, M. C. 2000. Comportamiento de herbicidas en suelos, agua y plantas. Revista FAVE. 14(1): 73-89.
6. IDRC/IMTA. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Editado por Gabriela Castillo. 202 p.
7. Iannacone, J.; Alvaríño, L.; Caballero, C.; Sánchez, J. 2000. Cuatro ensayos ecotoxicológicos para evaluar lindano y clorpirifos. Gayana (Concepción). Vol. 64. N° 2. p.139-146.
8. Infostat. 2002. InfoStat, versión 1.1. Grupo InfoStat. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. 266 p.
9. Lallana, V. H.; Mazzachiodi, N.; Elizalde, J. H. I.; Carñel, G.; Lallana, M. del C.; Sabbatini, R. A. 2007. Vegetación acuática y avifauna asociada a represas para riego del centro norte de Entre Ríos. En: Evaluación agrohidrológica de represas para riego. Su estudio en Entre Ríos. Compiladores E. Díaz; O. Duarte; E. Zamanillo; L. Lenzi. Ed. EDUNER. Santa Fe. Argentina. p. 155-169.
10. Lewis, M. 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. Environmental Pollution. 87: 319-336.
11. Montgomery, D. C. 1999. Diseño y análisis de experimentos. Grupo Editorial Iberoamericana (Col. Cuajimalpa, Méjico). Capítulo III: 45-84.
12. 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. 32: 363-376.
13. Poi de Neiff, A.; Ramos, A. 2001. Utilización de bioensayos para el estudio ecotoxicológico de los ríos Salado y Negro (Chaco. Argentina). www.unne.edu.ar/cyt/2001/6-Biologicas

14. Sánchez, L. E. 1995. Control de la contaminación de las aguas. En: Aspectos geológicos de protección ambiental. UNESCO. 1(17): 265-277.
15. Villanova, G. F.; Albornoz, E. G. 2006. La economía del cultivo de arroz. En: Benavidez, R. El arroz. Su cultivo y sustentabilidad en Entre Ríos. Editorial UNL-EDUNER. Argentina. 2: 585-625.
16. Wang, W. 1991. Literature review on higher plants for toxicity testing. *Water, Air and Soil Pollution*. 59: 381-400.
17. Zucconi, F.; Mónaco, A.; Forte, M. 1985. Phytotoxins during the stabilization of organic matter. *Composting of agricultural and other wastes* (J. K. R. Gasser. ed.). Elsevier Applied Science. 73-86.