

Toxicidad producida por compuestos salinos en el proceso de germinación de *Lactuca sativa*

Reina Sofía ¹, Correa Melissa ², Freire Daniel³

sofia.reina@udla.edu.ec ¹, melissa.correa.osorio@gmail.com², daniel.freire.balseca@udla.edu.ec ³
<https://orcid.org/0000-0001-7033-9771>¹, <https://orcid.org/0000-0002-1022-2833>², <https://orcid.org/0000-0001-9355-8895>³

¹⁻³Universidad de las Américas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Ingeniería en Biotecnología, Quito-Ecuador
Quito - Ecuador

Recibido (03/02/20), Aceptado (17/02/20)

Resumen: En este trabajo se presentan los resultados de la evaluación de toxicidad en los procesos germinativo y de crecimiento radicular de *Lactuca sativa* (Lechuga) por efecto del uso de compuestos salinos (NaCl, KCl and K₂SO₄). Se ha realizado ensayos en dos tipos de especies de semillas de *Lactuca sativa* negra y roja. Para el proceso se inoculó a una misma concentración los tres medios salinos y las semillas se incubaron por un periodo de 6 días. Tras este periodo se evaluó la longitud de las raíces, número de semillas germinadas en cada medio salino. Se evidenció que la salinidad influye sobre la germinación de distinta manera para las semillas rojas y negras con referencia al medio de cultivo de control.

Palabras Clave: Ecotoxicología, toxicidad, germinación, *Lactuca sativa*.

Toxicity produced by saline compounds in the process of germination of *Lactuca sativa*

Abstract: In this work the results of the evaluation of toxicity in the germination and root growth processes of *Lactuca sativa* (Lettuce) due to the use of saline compounds (NaCl, KCl and K₂SO₄) are presented. Tests have been carried out on two types of seed species of Black and Red *Lactuca sativa*. For the process, the three saline media were inoculated at the same concentration and the seeds were incubated for a period of 6 days. After this period the length of the roots, number of germinated seeds in each saline medium was evaluated. It was shown that salinity influences germination differently for red and black seeds with reference to the control culture medium.

Keywords: Ecotoxicology, toxicity, germination, salinity, *Lactuca sativa*.



I. INTRODUCCIÓN

Las pruebas de toxicidad son herramientas necesarias en la determinación del efecto nocivo de distintos compuestos químicos en relación a la concentración o tiempo de dosis y respuesta para evaluar el impacto sobre el medio ambiente y sus recursos naturales como: suelo, aire y agua [1]. Con respecto a las pruebas de ecotoxicidad son métodos generalmente rápidos que requieren de mínimos recursos instrumentales para cuantificar respuestas biológicas y la magnitud del efecto de un agente o condición específica en seres vivos y con mayor énfasis en poblaciones, comunidades y ecosistemas [2].

Por lo general, los compuestos tóxicos se complejizan mediante transformaciones biológicas, físicas y químicas a componentes más tóxicos en relación a los iniciales cuando entran en contacto con el medio ambiente, lo que representa peligros ambientales y de salud para una población [3]. La ecotoxicología es empleada para predecir a través de bioensayos o biomarcadores los efectos generados por los compuestos contaminantes y de esta forma realizar tratamientos de remediación que prevengan perturbaciones ambientales. Adicionalmente, la liberación de estas sustancias o desechos tóxicos tienden a bioacumularse a largo plazo en los sistemas biológicos desencadenando estrés en el medio ambiente (ecotoxicidad) y disminuyendo considerablemente la calidad del entorno [4].

La fauna terrestre está sometida a condiciones frecuentemente desfavorables para su crecimiento y funcionamiento óptimo. Por ello, este tipo de plantas, son empleadas como bioindicadores en suelos y aguas para determinar la presencia de compuestos tóxicos y obtener información de estos medios [5]. Se establece el empleo de diferentes especies de lechuga y cebolla como bioindicadores en el desarrollo de bioensayos mediante distintos protocolos de ecotoxicología [6]. A partir de ello, se han ejecutado diversos bioensayos de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) que estudian los efectos fitotóxicos en el proceso de germinación y crecimiento de los primeros brotes de plántulas durante las primeras horas de exposición a concentraciones salinas. [7].

La evaluación de la disminución en el porcentaje de germinación o inhibición radicular son consideradas como marcadores biológicos durante las pruebas de toxicidad con distintas concentraciones de compuestos contaminantes. El efecto de la salinización por presencia de sulfato de calcio, cloruros, sulfatos de sodio y magnesio induce un aumento en la presión osmótica del suelo interfiriendo en el desarrollo de los cultivos vegetativos. [8] Adicionalmente, los estudios de fitotoxicidad que evalúan la germinación y desarrollo de radículas son más económicos, viables y rápidos con respecto a otras metodologías, ya que *Lactuca sativa* presenta fácil y rápida germinación en pocos días, bajos costos asociados, menor tiempo de exposición, no necesita de equipos especializados ni de tratamientos de las muestras (detoxificación, saneamiento, etc.) [9].

Finalmente, el objetivo de este bioensayo es evaluar el proceso de germinación de dos especies de semillas de lechuga con diferentes tipos de sales (cloruro de sodio, potasio y sulfato de potasio) a una misma concentración, además de comparar el efecto de la salinidad en la longitud en centímetros de las raíces. A continuación se presenta una descripción clara y concisa sobre el tema y su relevancia en la sección II, posteriormente se muestra la metodología empleada para los distintos análisis, seguido de los resultados obtenidos en la sección IV y finalmente en el apartado V se encuentran las conclusiones respectivas.

II. DESARROLLO

La salinidad del suelo es una de las limitaciones más importantes en la producción de cultivos en regiones áridas y semiáridas. Las tierras de regadío están particularmente en riesgo, ya que aproximadamente un tercio se ve significativamente afectada por la salinidad. A pesar de su superficie relativamente pequeña, se estima que las tierras de regadío producen un tercio de los alimentos del mundo [15]. El crecimiento de las plantas se reduce en última instancia por el estrés salinidad, aunque las especies de plantas difieren en su tolerancia a la salinidad. Un enfoque para reducir los efectos nocivos de la salinidad del suelo en la producción de cultivos es el desarrollo de cultivares tolerantes a la sal. Aunque algunos cultivos son moderadamente tolerantes a las condiciones salinas, muchos cultivos se ven afectados negativamente por niveles incluso bajos de sal [4]. En la actualidad existe una literatura extensa sobre los mecanismos de tolerancia a la sal, mucho de ellos, denotan que una reducción en la tasa de germinación es debido al aumento de la concentración del NaCl ya que los iones de este compuesto generan un retraso en la absorción del agua propiciando el daño celular en la funcionalidad de la pared celular y membrana del embrión. En base a lo mencionado, el problema resultante es que se produce una afección en la permeabilidad de las membranas plasmáticas ocasionando un aumento del influjo de los iones del NaCl. Otro aspecto es que la tasa de germinación se ve restringida por una humedad baja, debido al potencial toxicológico que ejercen los compuestos salinos. El estudio realizado, se lo ejecuto con el fin de evaluar si existe una relación entre la salinidad y la tasa

de germinación de las semillas de *Lactuca sativa*.

III.METODOLOGÍA

Se realizó un ensayo de germinación con lechuga (*Lactuca sativa*), tanto cresa como la “normal” en forma de repollo. En ambas se procedió de la misma manera con respecto al tiempo de incubación en cámara que fue de 6 días.

Se utilizaron cajas Petri plásticas con tapa de 8cm de diámetro y 3 cm de altura. En el fondo de cada caja se colocó papel filtro embebido con 2ml del tratamiento correspondiente, luego se tapó y se introdujo en una cámara de crecimiento a 25-27°C. Cada tratamiento constó de 3 repeticiones, más su respectivo control con 10 semillas, variando 5 ensayos de lechuga con semilla roja y 5 con lechuga de semillas negra. A los 2 días se hizo una primera obtención de los resultados, tomando en cuenta solo la germinación. A los 6 días se volvió a contabilizar el número de semillas germinadas y se midió la longitud del sistema radicular. Se calculó el porcentaje de germinación de cada tratamiento.

Se colocó en cada tratamiento la misma concentración, pero lo que varió fueron los tipos de sales que se administraban, como NaCl, KCl y K₂SO₄.; con un testigo únicamente con agua destilada para cada tratamiento.

IV.RESULTADOS

A) Tasa de germinación

La tasa de germinación se determinó a través del número de semillas germinadas de *Lactuca sativa* en un periodo de 48 horas. De acuerdo a la Figura 1, se puede observar los tres tratamientos (A),(B) y (C) que corresponden a los tres compuestos químicos potencialmente toxicológicos para el proceso germinativo. Cada tratamiento tuvo 4 corridas experimentales de las cuales, la primera situada en la parte superior izquierda de la corresponde al control (tratamiento sin agente químico), mientras que las 3 corridas restantes corresponden a las réplicas de cada tratamiento. Todas las corridas experimentales se ejecutaron bajo una misma concentración 0.045M de NaCl para el tratamiento A, 0.045 de KCl para el tratamiento B y 0.045M de K₂SO₄ para el tratamiento C.

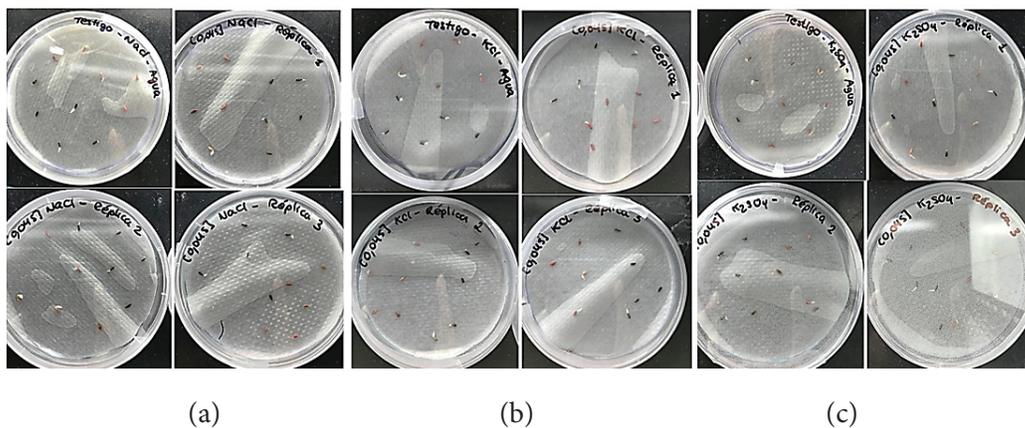


Figura 1. Resultados obtenidos al segundo día de siembra de las semillas de *Lactuca sativa* tras la aplicación de 0.045 M de NaCl (A), KCl (B), K₂SO₄ (C) respectivamente.

De acuerdo a la Tabla I, se puede denotar el número de semillas germinadas para cada tratamiento. Se obtuvo el conteo respectivo para el control y las réplicas de cada tratamiento. Se aplicó en este ensayo, cloruro de sodio, sulfato de potasio y cloruro de potasio al 0,045 M (número de semillas sembradas por placa: 5)

TABLA I. Número de semillas germinadas 6 días posteriores a la siembra

Sales	Control		Réplica N°1		Réplica N°2		Réplica N°3	
	semilla roja	semilla negra						
A) NaCl	5	3	3	4	4	5	1	4
B) K ₂ SO ₄	4	4	4	3	1	4	4	4
C) KCl	5	4	5	4	4	3	3	3

Los resultados demuestran dos diferencias en cuanto al efecto de los tres tipos de sales a una misma concentración (0,45M) en el proceso de germinación de las dos especies de *Lactuca sativa*. Se observó un patrón decreciente de germinación en todos los tratamientos con sales de la especie de lechuga cuya semilla era de color rojo, en comparación con el control como se puede observar en la Figura 2. No obstante, los tratamientos con cloruro de sodio y sulfato de potasio produjeron de manera similar la misma cantidad de semillas germinadas, a diferencia del cloruro de potasio, en el cual la tasa de germinación con esta sal aumento en una unidad respecto a los otros tratamientos.

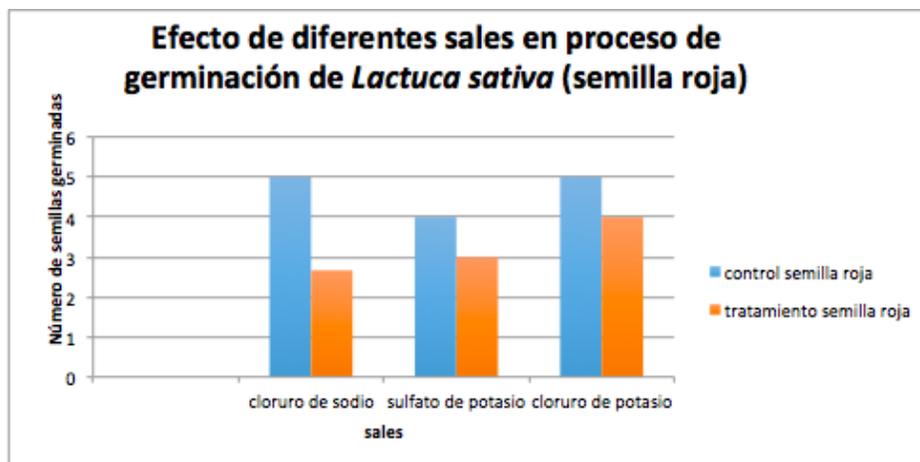


Figura 2. Efecto de diferentes sales a 0.045 M en el proceso de germinación de *Lactuca sativa* (semilla roja). Predominancia de germinación en semillas sin aplicación de sales.

Respecto a estos resultados, lo que se puede evidenciar es que el cloruro de sodio tuvo mayor tasa de incidencia en la inhibición del proceso de germinación de las semillas roja y un efecto contrario en las semillas negras, en el cual la tasa de germinación fue menor. De acuerdo a lo mencionado por [10] encontraron que la tasa de germinación de tres cultivares de *Lactuca sativa* únicamente fueron afectadas cuando la concentración de cloruro de sodio era de 0,030M. Por tanto, lo que se puede inferir es que, el ion sodio es uno de los más predominantes en el ciclo fenológico de las plantas debido a que actúa como un inhibidor de agua y nutrientes y por ende afecta los procesos germinativos y de crecimiento. [11] Al contrario del sodio, el cloruro de potasio potenció el proceso germinativo de la semilla roja, como se puede observar en la Figura 2. Esto sugiere que el ion de potasio participa de forma activa los procesos de turgencia y ósmosis regulatoria según lo constata [12], en el cual evaluaron el contenido del ion potasio en plantas que estaban sometidas a condiciones estrés salino. De esta forma, se puede decir que las semillas sometidas al tratamiento con KCl y K₂SO₄ tuvieron una mayor capacidad de tolerancia a la salinidad y por ende pudieron llevar a cabo su proceso germinativo.

Por otra parte, en los resultados obtenidos de la especie de lechuga cuya semilla era de color negro, se obtuvo que para el control del cloruro de sodio, 3 de las 5 semillas germinaron, mientras que, para el experimento la cantidad de semillas germinadas fue de 4. En cambio, para el sulfato y cloruro de potasio, los controles positivos en estos dos experimentos fueron los mismos, obteniendo una tasa de germinación de 4 de 5 semillas. Así mismo, se obtuvo que para el tratamiento con estas dos sales, el número de semillas germinadas fue de 3. De esta manera, se evidencia que de forma sinérgica germina la semilla en presencia como en ausencia de la sal. Por tanto, la tasa de

germinación promedio en el ensayo de salinidad con KCl, NaCl y K₂PO₄ fue similar al poder germinativo inicial de las semillas, lo cual indica que la germinación no se vio afectada por las concentraciones salinas ensayadas según se observa en la Figura 3.

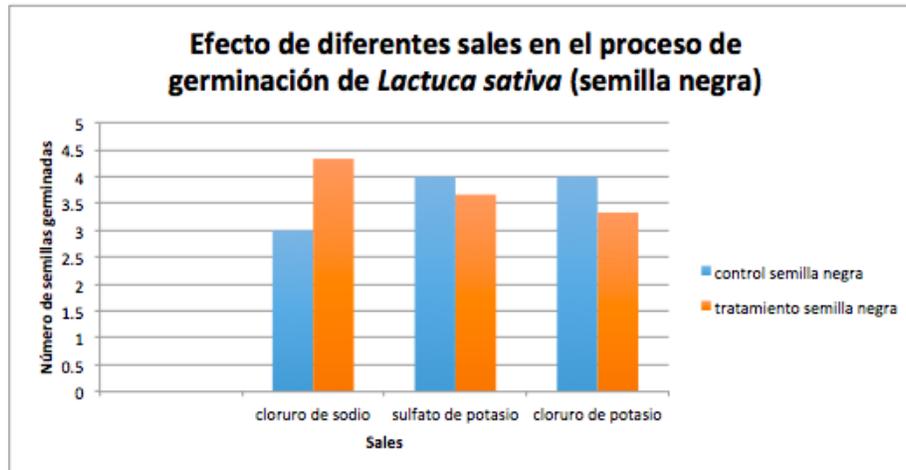


Figura 3. Efecto de diferentes sales a 0.045 M en el proceso de germinación de *Lactuca sativa* (semilla negra).

De este modo, la homeostasis intracelular de K^+ / Na^+ fue crucial para mantener equilibrado el metabolismo celular y adquirir una adecuada tolerancia a la salinidad. [13] En este caso, [14] sugiere que al mantenerse una relación intracelular óptima de K^+ y Na^+ en condiciones salinas, las semillas evitan la acumulación de cantidades excesivas de Na^+ en el citosol, junto con la retención de concentraciones fisiológicas de K^+ citosólico. De esta forma, se puede considerar que la relación K^+/Na^+ es un componente clave en la tolerancia a la salinidad en la mayoría de las plantas, ya que exhiben mecanismos fisiológicos que evitan una posible toxicidad generada por el ion de sodio. [15]

b) Longitud del sistema radicular

La longitud del sistema radicular se determinó a través de la medición de las raíces de las semillas rojas y negras de *Lactuca sativa* tras un dejarlas en un periodo de crecimiento de 6 días. De acuerdo a la Figura 4, se puede observar los tres tratamientos (A),(B) y (C) que corresponden a los tres compuestos químicos. Cada tratamiento tuvo 4 corridas experimentales de las cuales con su respectivo control. Se puede observar en la Figura 4 que para la mayoría de corridas experimentales, la proliferación del sistema radicular es evidente.

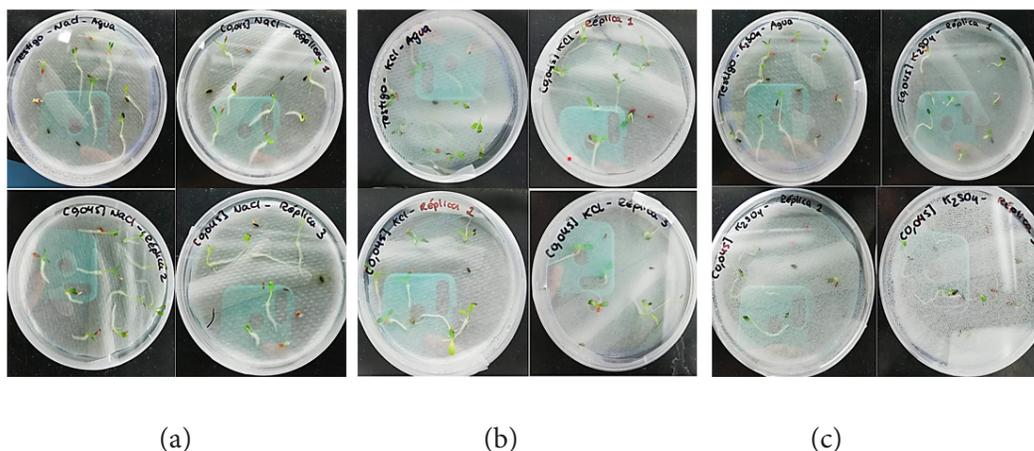


Figura 4. Resultados obtenidos 6 días posteriores a la siembra de semillas de *Lactuca sativa* bajo la aplicación de 0.045 M de NaCl.

En la Tabla II. se constata el promedio de la longitud del sistema radicular de las semillas rojas y negras de cada tratamiento.

TABLA II. . Longitud (en cm) de raíces de *Lactuca sativa* 6 días posteriores a la siembra

Sales	control		Réplica N°1		Réplica N°2		Réplica N°3	
	semilla roja	semilla negra						
A) NaCl	1.060	2.000	1.168	1.450	2.375	2.450	0.700	2.250
C) K ₂ SO ₄	2.438	2.375	1.312	0.750	0.750	5.813	1.375	2.000
B) KCl	2.500	2.375	1.650	2.125	1.813	2.250	1.667	2.233

En la tabla II, se presentan las longitudes de las raíces para cada semilla en función de cada medio salino empleado y luego de 6 días posteriores a la siembra tras la aplicación de cloruro de sodio, sulfato de potasio y cloruro de potasio al 0,045 M (número de semillas sembradas por placa: 5)

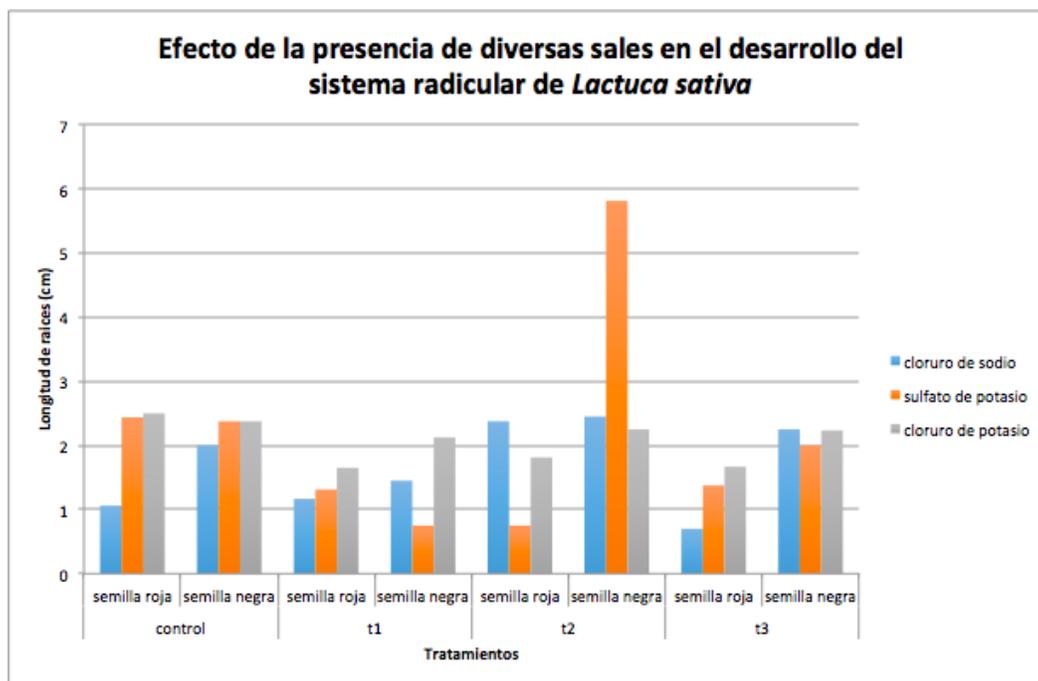


Figura 5. Efecto de diferentes sales a 0.045 M en el desarrollo de raíces en *Lactuca sativa* (semilla negra y roja).

Por otro lado, los resultados sobre el efecto de las diferentes sales en el desarrollo del sistema radicular demostraron ciertas variantes en dependencia del tipo de semilla. En el caso de la semilla roja, se obtuvo que para el tratamiento con NaCl, la longitud del sistema radicular osciló entre 1,5 cm y 2cm que se observaron en la longitud radical lo cual influyó directamente sobre los resultados del índice de germinación. En cambio, en el tratamiento con sulfato de potasio, esta medición difirió ya que la longitud aproximada fue entre 0,5cm y 2cm. Finalmente, la longitud radicular con el cloruro de potasio fue la que presentó mayor crecimiento, obteniendo entre 1,8cm y 2,5cm de raíz. En los tratamientos empleados en la semilla negra, se obtuvo que para el cloruro de sodio la longitud del sistema radicular aproximado fue de 1,5cm y 2cm respecto al control, mientras que, para el sulfato de potasio el sistema radicular desarrollado presentó variaciones longitudinales obteniendo mediciones desde 0,5cm hasta 5,5cm.

El tratamiento con el KCl es el que presento un constante crecimiento en las semillas de control y las réplicas, obteniendo como media de la longitud radicular un valor de 2,2cm. Se ha documentado que valores elevados de salinidad causan un estrés en la germinación, así como en el desarrollo del sistema radicular de *Lactuca sativa*. A pesar de que los compuestos salinos inhiben el crecimiento y desarrollo del sistema radicular en las plantas, investigadores como [16], [17] denotan que únicamente concentraciones elevadas de estos compuestos exhiben efectos fitotóxicos sobre la fisiología de la planta. Por esta razón, a pesar de que las semillas rojas y negras estuvieron expuestas a un estrés salino, la concentración evaluada no incidió en la prolongación su sistema radicular [18].

V.CONCLUSIONES

Los ensayos presentados a la misma concentración, pero diferente solución salina indicaron que con respecto a las semillas (rojas) de lechuga los tratamientos poseen menor tasa de germinación que el control. Por otro lado, las semillas negras de lechuga con cloruro de sodio fue la que obtuvo un mayor número de semillas germinadas en comparación con su respectivo tratamiento control. Con respecto al desarrollo radicular las sales que influenciaron con un mayor crecimiento fueron sulfato de potasio y cloruro de potasio respectivamente, independiente del tratamiento.

La ecotoxicidad ejercida por diferentes compuestos químicos en procesos germinativos y de crecimiento de una especie vegetal es directamente proporcional al grado de tolerancia que la planta exhiba. Con esto, se puede evidenciar que los efectos toxicológicos se presentan cuando las concentraciones de estos componentes son elevadas y que a una concentración mínima, estos no ejercen un estrés drástico en los procesos vegetativos.

REFERENCIAS

- [1]R. Restrepo y M. Ortiz. «Pruebas de ecotoxicidad para establecer el potencial genotóxico del hipoclorito de sodio, mediante bulbos de cebolla *Allium cepa* L y semillas de lechuga *Lactuca sativa* L como bioindicadores». 2011. [En línea]. Available: Revista Agropecuaria, 7-14.
- [2]M. Newman. «Fundamentals of Ecotoxicology». [En línea]. 2013.Available: CRC Press, 1-250.
- [3]M. Lastiri y D. Álvarez. «Efecto de la salinidad en la germinación y emergencia de siete especies forrajeras». 2017. [En línea]. Available: Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 1245-1257.
- [4]P. Chapman. Integrating toxicology and ecology: putting the "eco" into ecotoxicology». 2012. [En línea]. Available: Marine Pollution Bulletin, 7-15.
- [5]M. Sorbero y A. Ronco. « Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. 2016 [En línea]. Available Ensayos de toxicidad aguda con semillas de lechuga» (págs. 55-67). IDRC. 2016
- [6]OECD. Terrestrial Plant Test: 208: «Seedling Emergence and Seedling Growth Test».2003 [En línea]. Available DRAFT DOCUMENT.
- [7]N. Foti y C. Billard. «Bioensayos de germinación con semillas de rucula y lechuga para monitoreo de calidad de agua». 2005. [En línea]. Revista Científica Agropecuaria, 47-53.
- [8]J. Laynez y J. Méndez. «Efecto de la salinidad del suelo sobre la germinacion de semillas de maíz de diferentes pesos». 2010. [En línea] Available. Revista Agronómica, 62-73.
- [9]Universidad Nacional de Avellaneda. (2014). «Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L». 2014. [En línea] Available. http://ibio.ddns.net/Ensayo_de_Ecotoxicidad.pdf.
- [10]E. Catalán, M. Inzunza, V. April y M. Villa. «Absorción y traslocación de sodio y cloro en plantas de chile fertilizadas con nitrógeno y crecidas con estrés salino ». 2006. [En línea] Available. Food and agriculture Organization of the United Nations, 79-88.
- [11]M. Madueño, P. García, H. Martínez y T. Rubio. «Germinación y desarrollo de plántulas de frijolillo *Rhynchosia minima* (L.) DC en condiciones de salinidad ». [En línea] Available Terra Latinoamérica, 47-54. 2006
- [12]P. Africano y S. Pinzón. «Comportamiento fisiológico de plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.) sometidas a estrés por salinidad». [En línea] Available Conexión Agropecuaria JDC, 11-22. 2015
- [13]M. Hasegawa, R. Bressan, J. Zhu y J. Bohnert,. « Plant cellular and molecular responses to high salinity». [En línea] Available Annual review of plant biology, 463-499. 2000
- [14]T. Flowers. «Improving crop salt tolerance». [En línea] Available Journal of Experimental botany, 307-319. 2010
- [15]R. Munns. «Comparative physiology of salt and water stress» . [En línea] Available Plant, cell & environment, 239-250. 2002

[16] A. Al-Maskri, I. Al-Kharusi, H. Al-Miqbali y K. Mumtaz. «Effects of salinity stress on growth of lettuce (*Lactuca sativa*) under closed-recycle nutrient film technique». [En línea] Available .International Journal of Agriculture and Biology, 377-383. 2010

[17] W. Li, X. Liu, M. Khan y S. Yamaguchi. «The effect of plant growth regulators, nitric oxide, nitrate, nitrite and light on the germination of dimorphic seeds of *Suaeda salsa* under saline conditions». [En línea] Available J. Plant Res, 207-214. 2015

[18] X. Wang, C. Sun, S. Gao, L. Wang y H. Shokui. «Validation of germination rate and root elongation as indicator to assess phytotoxicity with *Cucumis sativus*». [En línea] Available ELSEIVER, 1711-1721. 2001

RESUMEN CURRICULAR



Sofía Reina, estudiante de último semestre de la carrera de biotecnología. Ha participado en congresos y foros de ciencia y tecnología en el Ecuador. Recibió una mención reconocida en el concurso Infomatrix Latinoamericana 2020 llevada a cabo en Guadalajara debido al proyecto encaminado a la biotecnología industrial.



Melissa Correa, Egresada de Ingeniería en Biotecnología en la Universidad de las Américas en Quito-Ecuador. Con participación destacada en el primer foro de CEBIO, congreso internacional de Biotecnología UDLA y final continental Solacyt 2020 en México. Desarrollo de proyectos en Biorreactores de inmersión temporal y fotobiorreactores presentados a nivel internacional.



Daniel Freire, Maester en Ingeniería Industrial y Productividad. Más de 8 años de experiencia en la industria biotecnológica y alimenticia, Ex-Gerente Técnico y Producción de AndesSpirulina C.A. Experiencia en planificación de la producción, control de bioprocesos, sistemas de calidad BPM, HACCP, ISO 22000, mejora continua, Six Sigma e investigación y desarrollo en el área de fotobiorreactores y procesos de hidrólisis enzimática.