

Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología

Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales

[Dra. Marina Teresa Torres Rodríguez¹](#)

Resumen

El creciente desarrollo industrial y urbano ha traído consigo la aparición de una cantidad apreciable de sustancias químicas tóxicas, lo cual afecta tanto la salud humana como la de los ecosistemas en países desarrollados y en vías de desarrollo. Recientemente se han instrumentado bioensayos rápidos con el empleo de plantas como organismos de prueba, los que funcionan como buenas herramientas de pesquisa inicial. Se señalan las ventajas que tienen las plantas para ser incorporadas en baterías de ensayo para medir alarma de peligro ambiental. Se destaca la importancia del empleo de bioensayos con plantas en la detección y control de los contaminantes tóxicos ambientales. Se hace referencia a dos de los bioensayos con plantas que pueden resultar disponibles y de utilidad en la evaluación toxicológica de muestras ambientales.

PALABRAS CLAVES: BIOENSAYOS/utilización; SUSTANCIAS PELIGROSAS; CONTAMINACIÓN AMBIENTAL/prevención o control; INTOXICACIÓN POR PLANTAS; PRUEBA DE TOXICIDAD.

El desarrollo global en las últimas décadas ha estado caracterizado por un incremento rápido en la utilización de sustancias químicas asociadas con diferentes tipos de actividades: industrial, urbana, comercial y agrícola.¹ Los estimados de compuestos orgánicos y de metales liberados en el ambiente son del orden de algunos millones de toneladas por año.² No hay dudas de que estas sustancias y en estas cantidades deben tener algún efecto sobre el ambiente y los seres humanos.³

Un instrumento alternativo y que complementa los tradicionales análisis químicos para la determinación de toxicidad de muestras ambientales es la utilización de bioensayos, ya que los organismos vivos presentan alguna respuesta a niveles peligrosos de cualquier sustancia química o mezcla compleja de tóxicos presentes.⁴ Los bioensayos *in vitro* han ganado aceptación en las estrategias de biomonitorio, fundamentalmente porque suministran resultados confiables, son costo-efectivos, simples y rápidos.⁵ Estos bioensayos pueden auxiliar en la evaluación de los efectos a la salud (toxicidad humana y animal) y de los efectos ecológicos de millares de sustancias químicas tóxicas que son introducidas por varias vías en el ambiente y permiten su aplicación en programas de monitoreo en la evaluación de la toxicidad.⁴ En las últimas décadas, se han desarrollado bioensayos rápidos con el empleo de plantas como organismos de prueba, las que funcionan como buenas herramientas de trabajo para el monitoreo ambiental. En Cuba, se tienen algunas experiencias con el empleo de las plantas en la evaluación de la toxicidad de sustancias tóxicas y muestras ambientales.⁶ Con este trabajo nos proponemos realizar una revisión actualizada de la información existente sobre dos de los bioensayos con plantas que más se han utilizado en la evaluación ecotoxicológica ambiental.

Ventajas del uso de las plantas

Como parte integral del ecosistema, las plantas superiores son ampliamente utilizadas por ser organismos eucarióticos, y por lo tanto más comparables a la mayoría de las especies de la flora y la fauna superiores,⁷ y constituyen una eficiente herramienta de trabajo para medir alarma de peligro ambiental,⁸ además de poseer las siguientes ventajas:

- Las plantas son más sensibles a estrés ambiental que otros sistemas de ensayos disponibles.⁹
- Fácil manipulación y almacenaje.⁷
- Bajo costo.⁷
- Buena correlación con otros sistemas de pruebas.⁷

Entre las pruebas a corto plazo con plantas que más se han utilizado para la evaluación toxicológica ambiental se encuentran:

1. Prueba de toxicidad a corto plazo de la prolongación de la raíz de un vegetal.⁹

La justificación para realizar este bioensayo radica en la importancia de eventos de desarrollo temprano en el crecimiento y supervivencia de las plantas. La prolongación de la raíz es inhibida a concentraciones más bajas de las sustancias tóxicas que para el caso de la germinación de las semillas; por lo tanto, puede ser un indicador más sensible de efectos biológicos. Este bioensayo puede ser ejecutado con cualquier número de especies, las cuales resulten económicamente importantes, sean fácilmente disponibles, germinen y crezcan rápidamente. Una de las semillas más comúnmente utilizadas en esta prueba son las semillas de *Lactuca sativa* L.⁹

El bioensayo con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) es un ensayo estático de toxicidad aguda (120 horas de exposición) en el que se evalúan los efectos fitotóxicos de un compuesto puro o de una mezcla compleja en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días del crecimiento. Como puntos finales para la evaluación de los efectos fitotóxicos, se determina la inhibición en la germinación y la inhibición en la prolongación de la radícula y del hipocotilo. A diferencia del bioensayo tradicional de germinación de semillas, la evaluación del efecto en la prolongación de la radícula y del hipocotilo de las plántulas permite la evaluación del efecto tóxico de compuestos solubles presentes en concentraciones tan bajas que no son suficientes para inhibir la germinación, pero que sí pueden retardar o inhibir completamente los procesos de prolongación de la raíz o del hipocotilo, lo que depende del modo y sitio de acción de los contaminantes.¹⁰

Este ensayo evalúa los constituyentes solubles del agua (aguas superficiales, aguas subterráneas, suelos o eluatos de sedimentos y lixiviados), teniendo en cuenta para el resultado la cantidad de semillas germinadas y la media del crecimiento de la raíz. Se calcula la EC₅₀ que no es más que la concentración que reduce la longitud de la raíz en un 50 % en relación con el control.⁹

Dutka BJ y colaboradores evaluaron la calidad de sedimentos y agua mediante el empleo de diferentes bioensayos, y reportaron similitud entre los resultados con esta prueba y el resto de los bioensayos probados.¹¹⁻¹² Otros autores también han utilizado esta prueba en la evaluación ecotoxicológica de muestras de agua y sedimentos.¹³⁻¹⁵

2. Bioensayo para la estimación de la toxicidad por la medición de la media del crecimiento de la raíz de cebollas (*Allium cepa* L).16

Este método es una herramienta fácil y sensible para la medición de la toxicidad total causada por tratamientos de sustancias químicas. Los resultados de este ensayo se ajustan bien a una batería de pruebas compuesta por organismos procariontes y/o eucariontes.16 Es aplicable a los siguientes tipos de muestras:

- Aguas naturales (lagos, ríos y pozos).16
- Agua potable (agua de grifo diferentes tuberías).16
- Aguas residuales domésticas e industriales, incluyendo lodos y lixiviados.16
- Sustancias químicas solubles en agua y con sustancias químicas insolubles en agua y solventes.16

El ensayo con bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) es un bioensayo de toxicidad aguda (72 horas) semiestático (con renovación diaria de la solución de ensayo). Como punto final de evaluación de efectos fitotóxicos se cuantifica la inhibición promedio en la prolongación de las raíces del bulbo.10

El grado de toxicidad de las sustancias químicas de prueba es estimado por la medición de la longitud de cada uno de los bultos de las raíces (10 cebollas son empleadas para cada concentración o menos en dependencia de si sólo están disponibles pequeñas cantidades de muestra). Para el reporte de la prueba, se toma un valor medio del crecimiento para cada una de las series. También se calcula la EC50.16

Con el empleo de esta prueba en el monitoreo de aguas residuales por *Fiskesjö G7* se demuestra también su alta correlación con otros sistemas de ensayo, involucrando la toxicidad general (crecimiento de las raíces) y la genotoxicidad (aberraciones cromosómicas). Por otra parte, se sugiere el empleo de la prueba como un bioensayo normado para el monitoreo ambiental.17

Fiskesjö G17-18 resumió algunas de estas ventajas, entre las que se encuentran la toxicidad (EC50 para la media del crecimiento de la raíz), que puede ser obtenida dentro de la prueba; buena correlación con otros sistemas de prueba, y además del equipamiento normal del laboratorio, sólo se necesita de un microscopio con una cámara, si se quiere realizar la prueba citológica con las puntas de las raíces.

Promovido por el Centro Internacional para el Desarrollo y la Investigación de Canadá, en el año 2000 se desarrolló el denominado proyecto *WaterTox*, prueba novel que comprendió a instituciones de diferentes países19-24 con el objetivo de desarrollar y evaluar una batería de bioensayos simples, baratos y prácticos, con el fin de probar la toxicidad de muestras de agua para consumo humano.2 Como parte de esa batería de bioensayos, fueron incorporadas tanto la prueba con *Lactuca sativa* L. como con *Allium cepa* L. lo que resultó de gran utilidad como herramienta para su empleo en la evaluación toxicológica de muestras ambientales.

Consideración general

La utilización de una serie de bioensayos con plantas in vitro constituye una herramienta disponible y valiosa en la identificación, monitoreo y control de la introducción de contaminantes tóxicos potenciales en el ambiente.

Summary

The increasing industrial and urban development has brought about the appearance of a considerable number of toxic chemicals, which affect not only human health, but that of the ecosystems in developed and developing countries, too. Rapid bioassays have been implemented with the use of plants as testing organisms that work as good tools in the initial screening. The advantages of the plants to be incorporated in batteries of assays in the detection and control of the environmental toxic pollutants are stressed. Reference is made to two of the bioassays with plants that may be useful and available in the toxicological evaluation of environmental samples.

Key words: BIOLOGICAL ASSAY; HAZARDOUS SUBSTANCES; ENVIRONMENTAL POLLUTION/prevention and control; PLANT POISONING; TOXICITY TESTS.

Referencias bibliográficas

1. Ronco A, Gagnon P, Díaz-Báez MC, Arkhipchuk VV, Castillo G, Castillo LE et.al. Overview of results from the watertox intercalibration and environmental testing phase II program: P.1; Statistical analysis of blind simple testing. *Environm Toxicol* 2002;(17):232-240.
2. Forget G, Ganon P, Sánchez WA, Dutka BJ. Overview of methods and results of the eight country International Development Research Center (IDRC) WaterTox project. *Environm Toxicol* 2000;(15):264-276.
3. Fochtman P, Raszka A, Nierzedzka E. The use of conventional bioassays microbiotests and some "rapid" methods in the selection of an optimal test battery for the assessment of pesticides toxicity. *Environm Toxicol* 2000;(15):376-384.
4. CETESB. Bioensaios Microbianos Aplicados no Controle de Contaminantes Tóxicos Ambientais; Serie Didáctica, PROCOP 1991, 1-75.
5. Gustavson KE, Sonsthagen SA, Crunkilton RA, Harkin JM. Groundwater toxicity assessment using bioassay, chemical, and toxicity identification evaluation analysis. *Environm Toxicol* 2000;(15):421-430.
6. Reynaldo IM, Jerez E, Torres J. Fitotoxicidad del Aluminio en plántulas de arroz de la variedad LP-7. *Contribución a la Educación y la Protección Ambiental, Cátedra Medio Ambiente* 2000;(1):89-93.
7. Fiskesjö G. The Allium test in wastewater monitoring. *Environm Toxicol Water Qual* 1993;(8):291-298.
8. Gopalan HNB. Ecosystem health and human well being: the mission of the international programme plant bioassays. *Mutat Res*1999;(426):99-102;.
9. Dutka BJ. In: *Methods for microbiological and toxicological analysis of waters, wastewaters and sediments*. National Water Research Institute (NWRI), Canada: Burlington;1989.
10. Red Internacional Watertox. [Sitio de Internet] 2000. [citado 3 de Julio del 2003]: [3p]. Disponible en URL: <http://www.idrc.ca/lacro/bioensayos/manual.html>

11. Dutka BJ, Kwan KK, Rao SS, Jurkovic A, McInnis R. Use of bioassays to evaluate river water and sediment quality. *Environm Toxicol and Water Qual Intern J* 1991;(6):309-32.
12. Dutka BJ, Bourbonniere R, McInnis R, Kwan KK, Jurkovic A. Bioassay assessment of impacts of tar sands extractions operations. *Environm Toxicol and Water Qual Intern J* 1995;(10):107-117.
13. Okamura H, Luo R, Aoyama I, Liu D. Ecotoxicity assessment of the aquatic environm around lake Kojima, Japan. *Environm Toxicol* 1996;(11):213-221.
14. Beauregard T, Ridal J. Evaluation of six simple bioassays for the determination of drinking water quality-Canadian results. *Environmental Toxicology* 2000;(15):304-311.
15. Robidoux PY, Choucri A, Bastien Ch, Sunahara GI, López-Gastey J. Interlaboratory study for the validation of an ecotoxicological procedure to monitor the quality of septic sludge received at a wastewater treatment plant. *Environm Toxicol* 2001;(16):158-171.
16. Fiskesjö G. Technical Methods Section. Allium test I: A 2-3 day plant test for toxicity assessment by measuring the mean root growth of onions (*Allium cepa* L.). *Environm Toxicol and Water Quality* 1993;(8): 461-70.
17. Fiskesjö G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas* 1985;(102): 99-112.
18. Fiskesjö G. Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters. *Plants for environmental Studies, CRC* 1997;307-33.
19. Arkhipchuk VV, Romanenko VD, Malinovskaya MV, Kipnis LS, Solomatina VD, Krot YG. Toxicity assessment of water samples with a set of animal and plant bioassays: Experience of the Ukrainian participation in the watertox program. *Environm Toxicol* 2000;(15):277-86.
20. Ronco Alicia, Sobrero Cecilia, Grassi Valeria, Kaminski Leticia, Massolo Laura, Min Leonardo. WaterTox bioassay intercalibration network: Results from Argentina. *Environm Toxicol* 2000;(15): 287-296.
21. Díaz-Baez MC, Pérez JB. Intralaboratory experience with a battery of bioassays: Colombia experience. *Environm Toxicol* 2000;(15):297-303
22. Castillo Luisa Eugenia, Pinnock Margaret, Martínez Eduardo. Evaluation of a battery of toxicity tests for use in the assessment of water quality in a Costa Rican Laboratory. *Environm Toxicol* 2000;(15):312-21.
23. Pica-Granados Y, Trujillo GD, Hernández HS. Bioassay standarization for water quality monitoring in Mexico. *Environm Toxicol* 2000;(15):322-30.
24. Forget G, Sánchez-Bain A, Arkhipchuk VV, Beauregard T, Blaise C, Castillo G et.al. Preliminary data of a single-blind, multicountry trial of six bioassays for water toxicity monitoring. *Environm Toxicol* 2000;(15):362-69.

Recibido: 8 de julio de 2003. Aprobado: 3 de agosto de 2003.

Dra. Marina Teresa Torres Rodríguez. Infanta No.1158 entre Clavel y Llinás, Municipio Centro Habana, Ciudad de La Habana, Cuba. e-mail: marina@inhem.sld.cu

[1 Investigadora Auxiliar. Asistente.](#)