



**Bioensayos de fitotoxicidad como herramienta
de monitoreo ambiental con *Lactuca sativa*:
Aplicación en huerta comunitaria San Carlos,
Maldonado, Uruguay.**

Estudiante: Vanesa Castro Falcone

Tutor: Dr. Javier García-Alonso

Co-Tutora: Dra. Diana Míguez

Ciclo de profundización: Manejo de ecosistemas

Licenciatura en gestión ambiental - Centro Universitario regional
este

Universidad de la República Uruguay

2025

Índice:

Resumen.....	1
Introducción.....	3
Marco teórico.....	4
Marco normativo.....	8
Objetivos.....	10
Metodología.....	10
Resultados.....	16
Discusión.....	31
Conclusiones.....	35
Bibliografía.....	36
 Anexos 1-Evaluación comparativa de semillas comerciales de <i>Lactuca sativa</i> para puesta a punto del bioensayo.....	41
 Anexos 2-Tabla largos radicales de semillas expuestas a diferentes concentraciones de CuSO ₄	42
 Anexos 3a y 3b-Script en R para cálculo de CE50 en agua y elutriado.....	42
 Anexos 4-Datos crecimiento radicular controles negativos.....	44
 Anexos 5-Script en R utilizado para los análisis estadísticos.....	44
 Anexos 6-Guía práctica para evaluar compost.....	45
 Anexos 7-Entrevista a Alejandra Kröger.....	56

Resumen:

La creciente generación de residuos sólidos contribuye a uno de los problemas ambientales actuales, lo que plantea la necesidad de estrategias de gestión que sean sostenibles y eficaces. En el caso particular de los residuos orgánicos, el compostaje se presenta como una alternativa de gran relevancia, dado que permite reducir los volúmenes de desechos y obtener un producto reutilizable en la mejora de suelos. No obstante, es importante que el compost realizado sea de buena calidad y no contenga cantidades significativas de compuestos fitotóxicos, ya que de dicha manera sería inviable promover su uso, convirtiéndose en algo inútil y dañino, generando daños ambientales.

Con el propósito de evaluar la inocuidad y calidad del compost, se aplicaron bioensayos de fitotoxicidad, una herramienta de monitoreo ambiental reconocida por su bajo costo, fácil aplicación y capacidad para detectar efectos biológicos en etapas tempranas de desarrollo vegetal. En este trabajo se utilizan bioensayos de fitotoxicidad con la especie *Lactuca sativa* como organismo de prueba, utilizando el compost producido en la huerta comunitaria de San Carlos. Se analizaron dos indicadores fundamentales, la germinación y la inhibición del crecimiento radicular, con el fin de poder determinar la posible presencia de fitotóxicos y valorar la utilidad del compost en prácticas de gestión ambiental. Este trabajo busca aportar una herramienta accesible para fortalecer el monitoreo ambiental y promover un manejo más seguro de los residuos orgánicos.

Palabras clave: *bioensayos; monitoreo ambiental; fitotoxicidad; Lactuca sativa; compost.*

Abstract:

The increasing generation of solid waste contributes to one of today's major environmental problems, highlighting the need for sustainable and effective management strategies. In the specific case of organic waste, composting emerges as a highly relevant alternative, as it helps reduce waste volumes and yields a reusable product that can improve soil quality. However, it is essential that the compost produced is of good quality and does not contain significant amounts of phytotoxic compounds, since in such cases its use would be unfeasible, turning it into a useless and harmful material that could cause environmental damage.

To evaluate the safety and quality of the compost, phytotoxicity bioassays were applied. This environmental monitoring tool is recognized for its low cost, easy application, and ability to detect biological effects at early stages of plant development. In this study, phytotoxicity bioassays using *Lactuca sativa* as the test organism were carried out with compost produced at the San Carlos community organic garden. Two fundamental indicators were analyzed, seed germination and root growth inhibition, in order to determine the possible presence of phytotoxic substances and assess the usefulness of the compost for environmental management practices. This work aims to provide an accessible tool to strengthen environmental monitoring and promote safer management of organic waste.

Keywords: *Bioassays; Environmental Monitoring; Phytotoxicity; Lactuca sativa; Compost*

Introducción

En el contexto actual de creciente urbanización, el manejo sostenible de los ecosistemas urbanos se vuelve una prioridad para garantizar calidad de vida y salud ambiental en las ciudades. Algunas de las dificultades que se presentan son por ejemplo la conservación de los espacios verdes, la degradación de los suelos, la generación excesiva de residuos y la prevención de contaminación de recursos naturales (Terradas, 2015).

En el contexto de la ecología urbana, la infraestructura verde se reconoce como un pilar esencial para transformar los entornos urbanos, ya que brinda soluciones basadas en la naturaleza que generan beneficios ecosistémicos, como la regulación climática, la conservación de la biodiversidad y la reducción de la contaminación ambiental, además de contribuciones sociales que impulsan la resiliencia urbana y mejoran la calidad de vida (Li & Carter, 2025), esto apunta a asegurar servicios ecosistémicos urbanos vitales, como regular la temperatura, la calidad del aire, la gestión de aguas pluviales y beneficios culturales para la comunidad, reforzando al mismo tiempo la capacidad de adaptación de las ciudades ante los desafíos del cambio climático (Pandey & Ghosh, 2023).

En este marco, las huertas comunitarias urbanas representan un rol fundamental en la ecología urbana. Entre muchas cosas, contribuyen a la creación de espacios verdes y producción de alimentos, además de promover la educación ambiental y la cohesión social (Vásquez, 2009). Estudios recientes señalan que, además, estas iniciativas ofrecen beneficios tales como la provisión de servicios ecosistémicos, la interacción social, la conservación y recuperación de la biodiversidad y la capacidad de adaptación ante desafíos ambientales y sociales (Pradhan et al., 2023).

En el marco de estas iniciativas, uno de los insumos claves es el compost, cuyo uso adecuado depende de su calidad y seguridad.

El aumento del consumismo en la población humana ha generado un incremento significativo en la producción de residuos (Alzate et al., 2004). Esta situación representa un desafío ambiental importante, que exige buscar alternativas sostenibles para la gestión de dichos residuos (Sivakumar et al., 2010). Dentro de las estrategias disponibles, el compostaje se presenta como

una herramienta eficaz y ampliamente utilizada, al permitir transformar residuos orgánicos en un producto reutilizable como fertilizante para el suelo (Celis J. et al., 2007).

Sin embargo, para que el compost pueda aplicarse de forma segura y efectiva, es necesario asegurar que no contenga sustancias fitotóxicas que puedan afectar negativamente la germinación o el desarrollo radicular de las plantas. En este sentido, los bioensayos de fitotoxicidad constituyen una herramienta accesible, sensible y de bajo costo para evaluar la calidad del compost. Ensayos simples con semillas de *Lactuca sativa* permiten detectar la presencia de contaminantes o compuestos no degradados que podrían comprometer la inocuidad del producto final.

La incorporación de este tipo de metodologías, además de contribuir con el monitoreo ambiental, también promueve el uso responsable y sustentable de recursos locales, como los generados en huertas comunitarias urbanas. Evaluar la calidad del compost mediante bioensayos permite tomar decisiones informadas sobre su aplicación, favoreciendo su aprovechamiento sin riesgos para la salud vegetal o humana.

De esta manera, el presente trabajo se orienta a evaluar la calidad del compost producido en el ámbito en huertas comunitarias, mediante bioensayos de fitotoxicidad, con el fin de garantizar su uso seguro y sostenible.

Marco teórico

El compostaje de residuos orgánicos no solo ayuda a reducir el volumen de residuos orgánicos, sino que también permite mejorar suelos degradados. Para comprobar la salud e inocuidad del mismo, se hacen ensayos de fitotoxicidad que detectan sustancias fitotóxicas (Barral & Paradelo, 2011). Para evaluar los efectos potenciales del compost sobre los organismos vivos, es clave contar con herramientas que permitan detectar su toxicidad. Estudios recientes han aplicado este tipo de bioensayos a fertilizantes orgánicos comerciales, utilizando especies como *Lactuca sativa* para evaluar su efecto sobre germinación y crecimiento radicular a partir de la respuesta observada en las primeras etapas del desarrollo vegetal. Los resultados han indicado productos

libres de efectos fitotóxicos y otros con inhibición significativa, lo que demuestra la utilidad de estos test como herramienta de control de calidad (Urriola et al., 2021; Terrile, 2024).

Los bioensayos se clasifican según el tipo de organismo que se utiliza, los bioensayos de fitotoxicidad emplean plantas para detectar la toxicidad de diversos compuestos en las etapas iniciales del desarrollo vegetal (Foti et al., 2005). Estos ensayos son ampliamente utilizados en estudios de toxicología en suelos, debido a su capacidad para diagnosticar daños provocados por los diferentes contaminantes ambientales y para detectar las interacciones y respuestas tempranas en las plantas (Galindo et al., 2016).

En los últimos años, los bioensayos han ganado creciente relevancia como herramienta de monitoreo ambiental, al permitir detectar respuestas adversas de diferentes organismos vivos frente a niveles altos de contaminantes químicos. Su aplicación, además de ser rápida y económica, complementa muy bien los análisis físico-químicos tradicionales, mostrando una primera evaluación de la calidad del ambiente (Sykora et al., 2021).

Este tipo de ensayos ha sido promovido y reconocido por distintos órganos internacionales como las agencias de Protección Ambiental de Estados Unidos (US EPA) y Canadá (*Environment Canada*) quienes lo consideran herramientas valiosas para el monitoreo ambiental y la evaluación de riesgos. A su vez, estas organizaciones recomiendan el uso de ciertas especies para la realización de los bioensayos de fitotoxicidad (ISO, 1995). Entre ellas, *Lactuca sativa* ha sido escogida como una de las especies más utilizadas a la hora de realizar estos ensayos para evaluar la contaminación en suelos (Carmo et al., 2019).

En este marco, los ensayos de toxicidad responden al conjunto de compuestos liberados al ambiente, y constituyen herramientas ideales para monitorear la contaminación química (García-Alonso et al., 2011). En esta línea, resulta fundamental que los estudios de monitoreo ambiental cuenten con las herramientas adecuadas para evaluar las presiones ambientales ejercidas por distintos usos del medio ambiente (Oesterwind et al., 2016).

En ecotoxicología, los bioensayos se utilizan ampliamente porque permiten estudiar los efectos y el destino de los agentes tóxicos en los ecosistemas

(Silva, et al., 2003). Se basan en la capacidad relativa de un compuesto para ocasionar daños mediante efectos biológicos adversos, una vez alcanzado un punto susceptible (Bartual Sánchez, 1984). Los test de germinación son una herramienta ampliamente utilizada en el monitoreo ambiental, ya que permite detectar de forma rápida y a bajo costo, la presencia de sustancias fitotóxicas que puedan afectar las etapas iniciales del desarrollo de las plantas. Su aplicación con especies indicadoras sensibles posibilita identificar efectos tanto positivos como negativos en la germinación y crecimiento radicular, aportando información clave para decidir su uso o no (Urriola et al., 2021). La fitotoxicidad es un efecto nocivo o dañino de una sustancia química que se puede ver reflejado en distintos órganos de las plantas. Algunos de los síntomas asociados son, reducción del crecimiento de la planta, manchas, enrollamiento foliar, necrosis, caída de flores. Estos síntomas también pueden producirse por mezclas de herbicidas e insecticidas, que generan efectos fitotóxicos indirectos sobre las especies (Carmona et al., 2009).

El estudio de la fitotoxicidad de una matriz puede abordarse a través de dos enfoques complementarios, por un lado los análisis químicos que permiten identificar presencia de contaminantes, y por otro, a través de ensayos de fitotoxicidad que evalúan los efectos que estos compuestos generan en organismos vivos. Si bien los análisis químicos brindan información detallada, el llevarlos a cabo es costoso, se requiere de personal calificado y se necesitan laboratorios equipados, lo que limitaría un poco su accesibilidad (Rivero et al., 2016).

La biodisponibilidad de contaminantes y la composición orgánica del compost son fundamentales para interpretar los resultados en bioensayos. La biodisponibilidad se refiere a la porción de contaminante que realmente puede entrar en contacto con los organismos y afectar su crecimiento. En el caso del compost, su materia orgánica puede “atrapar” o retener parte de esos contaminantes, disminuyendo su movilidad y, por lo tanto, su toxicidad. Por eso, en algunos ensayos (como el realizado con CuSO_4 en elutriados) la toxicidad observada puede ser menor que cuando el metal se aplica directamente, porque una parte del cobre queda unida a la matriz orgánica del compost y no llega a las semillas con la misma intensidad (Sauvé et al., 2000).

La hormesis es un fenómeno biológico en el cual una sustancia produce efectos estimuladores en bajas concentraciones y efectos inhibitorios en altas concentraciones. En ecotoxicología, este fenómeno es relevante porque ciertos contaminantes o compuestos químicos pueden estimular el crecimiento vegetal o la germinación en dosis bajas, mientras que dosis mayores resultan tóxicas. Reconocer este fenómeno es fundamental para interpretar curvas de respuesta a diferentes concentraciones en bioensayos (Serrano Morales, 2016).

La CE50 (Concentración Efectiva 50%) corresponde a la concentración de un contaminante o muestra que produce un efecto definido en el 50% de los individuos o unidades biológicas evaluadas. En ensayos con plantas, se utiliza, por ejemplo, para cuantificar la inhibición del crecimiento radicular o la germinación de *Lactuca sativa*. Este parámetro permite comparar la toxicidad relativa de diferentes muestras y sirve como indicador estándar en estudios de bioensayos (Spósito & Espínola, 2008).

Actualmente, se generan aproximadamente 1000 millones de toneladas de residuos orgánicos por año a nivel mundial, provenientes en gran parte de la actividad agroindustrial, lo que presenta un reto significativo para la sostenibilidad ambiental. En América Latina y el Caribe, esta cifra equivale aproximadamente al 13% de la producción global (Galaviz-Villa et al., 2025).

Frente a esta situación, el compostaje surge como una alternativa clave para la gestión de residuos orgánicos. Se trata de un proceso biológico aeróbico mediante el cual, la materia orgánica, bajo condiciones controladas es transformada en abono o sustrato enriquecido con nutrientes como nitrógeno, fósforo y otros macro y micronutrientes esenciales para su aplicación en la agricultura (Zubillaga et al., 2008). El compostaje en sí no es solo un proceso, sino que es la acumulación de procesos metabólicos que derivan de la acción de numerosos microorganismos.

Cabe mencionar también que el compost puede verse afectado negativamente por factores externos en el transcurso de su elaboración, por ejemplo cuando las temperaturas ambientales son muy bajas o cuando hay presencia de fitotoxicidad (Negro et al., 2001). Bajo condiciones adecuadas de aireación, humedad y temperatura, el compostaje permite la degradación de la materia orgánica y la eliminación de patógenos, semillas de malezas y compuestos

volátiles. Es importante controlar estos parámetros para asegurar una degradación óptima de materia orgánica y obtener un producto estable. No obstante, la calidad final del compost depende también de la composición de los residuos utilizados y la correcta ejecución del proceso (Huerta Muñoz et al., 2015 & Manrique Córdoba, 2023), de todas maneras es necesario realizar estudios químicos y toxicológicos tanto sobre la materia orgánica inicial como sobre el compost final, para poder determinar la calidad del biosólido (Celis J. et al., 2007), ya que puede presentar limitaciones y una mala eficiencia por la presencia de distintas sustancias que tengan efectos fitotóxicos (Zubillaga et al., 2008).

Marco normativo aplicable a los bioensayos de fitotoxicidad y al compostaje

En Uruguay no existe una reglamentación específica que establezca la obligación de aplicar bioensayos de fitotoxicidad con *Lactuca sativa* para la evaluación de compost o matrices ambientales.

El país cuenta con normativa general vinculada a la gestión de residuos y la protección ambiental, pero ninguna de las instituciones competentes contempla actualmente la obligatoriedad de bioensayos vegetales como criterio de evaluación de toxicidad aguda en compost, suelos o elutriados. La autoridad que debería regular o promover su implementación es la Dirección Nacional de Calidad y Evaluación Ambiental (DINACEA) del Ministerio de Ambiente, responsable del monitoreo, evaluación y control ambiental a nivel nacional. Asimismo, los gobiernos departamentales cuentan con potestades en la gestión de residuos sólidos urbanos y en el desarrollo de lineamientos locales para el manejo y la calidad del compost (Ministerio de Ambiente, 2021).

Se realizó una búsqueda de información, la cual incluyó documentos normativos del Ministerio de Ambiente/DINACEA, guías técnicas de UNIT, literatura científica sobre bioensayos en Uruguay y publicaciones institucionales sobre compostaje. No se identificaron normativas nacionales que exijan bioensayos de *Lactuca sativa* para la evaluación del compost. Sin embargo, existen protocolos internacionales que respaldan su uso, como ISO 11269-2,

que define procedimientos para evaluar el efecto de contaminantes en la germinación y crecimiento radicular de plantas (ISO, 1995).

A nivel nacional, si bien no existe una normativa específica para bioensayos de fitotoxicidad con *Lactuca sativa*, sí se identifican dos antecedentes normativos que incorporan ensayos de germinación como parte de los criterios de calidad del compost, aunque no aplican directamente al caso evaluado:

La Resolución DGSA-MGAP N° 536/2019, que regula el compost de uso comercial, establece la realización de una prueba de germinación para clasificar el producto según su calidad. Aunque no aplica al compost evaluado en este estudio, constituye un antecedente relevante ya que reconoce a los ensayos de germinación como una herramienta válida para detectar fitotoxicidad.

Por otro lado, el Decreto 182/13, que regula el compost obtenido a partir de residuos, exige un ensayo de germinación para los compost que buscan clasificarse bajo la alternativa de uso A, es decir, sin restricciones de uso. Este decreto tampoco aplica directamente al caso de estudio, pero confirma que los ensayos vegetales forman parte de los criterios nacionales de calidad del compost en determinados contextos.

En este marco, el presente trabajo propone una metodología accesible y replicable para la evaluación de toxicidad de compost, que podría servir como referencia para futuras guías o regulaciones locales orientadas a fortalecer la evaluación ambiental mediante bioensayos vegetales.

Objetivos:

Objetivo general:

Evaluar la calidad del compost producido en la huerta comunitaria de San Carlos mediante la aplicación de bioensayos de fitotoxicidad (*Lactuca sativa*) como herramienta de monitoreo ambiental.

Objetivos específicos:

- 1-Puesta a punto de la técnica del bioensayo de fitotoxicidad utilizando lechuga (*Lactuca sativa*).
- 2- Determinar si existe fitotoxicidad en el compostaje de residuos domésticos enriquecidos con bacterias eficientes.
- 3- Desarrollar un protocolo accesible para que los miembros de la comunidad detecten la calidad de su sustrato con ensayos rápidos.

Metodología

Caso de la huerta comunitaria de San Carlos

El compost evaluado en este trabajo fue producido en la huerta comunitaria de San Carlos mediante un proceso microbiológico controlado, cuyas características se describen a continuación.

La huerta comunitaria de San Carlos necesita gran cantidad de materia orgánica para la elaboración del compost, por lo tanto los desechos orgánicos provienen de 20 familias de la zona. La recolección de la materia orgánica se hace semanalmente por los voluntarios del proyecto, se les brinda previamente a las familias baldes con un fondo de aserrín de madera seca la cual no haya

sido curada (para que se absorban los excedentes de líquido), allí se les pide que depositen los residuos orgánicos generados, se pide que no coloquen comida cocinada, sino todo crudo y entero, además también que se pide que se revuelva para airear y generar una descomposición aerobia. Una vez que se levantan de las casas los baldes con la materia orgánica y se llevan a la huerta, se junta todo lo acumulado en los baldes y se le agrega más aserrín, pasto u hojas secas. Una vez todo integrado comienza el proceso de la obtención del compost, el mismo dura 2 meses, siendo el primer mes el más intensivo, ya que hay que airearlo con más constancia para sacarle el exceso de anhídrido carbónico y la humedad. La primera semana se revuelve cinco veces, la segunda semana tres veces, la tercera semana dos veces y ya la cuarta se airea solo una vez y así continúa hasta el final. Esta metodología corresponde al proceso de compostaje aeróbico controlado que utiliza el proyecto BioTerra.

En cuanto a la temperatura se produce un pico de calor a los dos días, debido a que los microorganismos entran a consumir rápidamente el nitrógeno disponible y en este proceso se pueden alcanzar temperaturas superiores a 55°C, en este punto empiezan a actuar los termófilos que son mucho más activos y se mantienen mientras la temperatura es alta, luego vuelven a aparecer los mesófilos para continuar con el proceso. A partir de la tercera semana ya comienza a bajar la temperatura hasta llegar a estar aproximadamente a unos 10 grados arriba de la temperatura ambiente, y luego del primer mes la temperatura ya comienza a estabilizarse. Es importante que en el proceso se superen los 55°C y se mantenga por lo menos 24 horas ya que ahí es cuando la mayoría de los patógenos desaparecen.

La huerta comunitaria de San Carlos utiliza microorganismos para generar y desarrollar el compost. Los microorganismos empleados en el proceso son activados con melaza y agua, demorando unas 3 semanas en estar listos para su utilización. Los mismos son una combinación de microorganismos eficientes (EM, de origen Japonés), que un productor se encarga de multiplicar en laboratorio y distribuirlos en combinación con unos microorganismos nativos del ambiente desarrollados en un terreno lindero a la huerta conocido como *Molino Lavagna*. Están basados en melaza y glucosa, y son elaborados por el grupo vecinal San Carlos composta, integrado principalmente por los vecinos Gabriel Rius y Javier Fernandez además de algunos voluntarios que asisten

esporádicamente. Son asesorados a su vez por dos Ing. Agrónomas Soledad Piazza y Silvana Machado ambas con trayectoria en compostaje y agroecología.

En este contexto, el presente trabajo se orienta a evaluar la calidad del compost mediante bioensayos de fitotoxicidad, como herramienta para garantizar su uso seguro y sostenible. A continuación, se describen los objetivos de este trabajo.

Protocolos de referencia y adaptación

Los bioensayos se realizaron en los laboratorios del CURE (sede Maldonado), utilizando como base el protocolo propuesto por Wang (1986), quien recomienda la especie *Lactuca sativa* L. variedad Buttercrunch. En este estudio se emplearon semillas comerciales de la marca Vilmorin. Sin embargo, el envase no indicaba la variedad específica, por lo que no fue posible confirmar si correspondía a la variedad Buttercrunch.

Si bien se tomó como referencia el protocolo de Wang (1986), en este estudio se realizaron algunos ajustes en el procedimiento, tanto por razones prácticas como por las características específicas del compost realizado, se tuvo en cuenta el protocolo desarrollado por Sobrero y Ronco (2004), muy utilizado en bioensayos de fitotoxicidad con *Lactuca sativa*. Este protocolo recomienda por ejemplo, la evaluación de la germinación a las 48 horas de iniciado el ensayo, lo cual fue incorporado en este trabajo como complemento a la medición del crecimiento radicular a las 120 horas. Asimismo, las autoras proponen realizar los ensayos a temperatura ambiente sin necesidad de incubadoras, lo cual también fue compatible con las condiciones disponibles en este estudio.

Las adaptaciones mencionadas fueron aplicadas con el objetivo de facilitar el manejo del test y asegurar condiciones homogéneas entre ensayos, sin comprometer la calidad de los resultados. A su vez, se mantuvieron principios clave de ambos protocolos, como la incubación en oscuridad, el uso de controles positivos y negativos, y la medición precisa de la elongación radicular.

Puesta a punto

Antes de llevar a cabo los ensayos con las muestras recolectadas de la huerta de San Carlos se llevó a cabo una puesta a punto de la metodología a modo de ensayo preliminar, para ello se utilizó compost realizado en el hogar. Se preparó el elutriado y se ejecutaron los ensayos siguiendo exactamente el procedimiento metodológico establecido. Se incluyeron dos controles negativos (en uno se colocaron las semillas con agua destilada y en el otro se colocaron las semillas con el elutriado del compost). Además, se incorporó un control positivo, en el cual las semillas se expusieron al elutriado con 0,8 g/L de CuSO_4 , con el objetivo de contar con un referente de respuesta ante la presencia de sustancias tóxicas.

Toma de muestras y preparación del elutriado

El primer paso para la realización de los bioensayos fue la toma de muestras. Para ello, se recolectaron aproximadamente de 50 g de compost por lote en tubos falcon de 50 mL. Para tener una muestra representativa se recolectaron pequeñas cantidades de 5 puntos distintos de cada batch de compost. Las muestras fueron transportadas en frío y almacenadas en heladera hasta la realización del bioensayo.

Para la preparación del elutriado, se separaron 5 g de compost por muestra, a las que se agregan 20 mL de agua destilada, se agita durante 30 minutos con agitador mecánico y luego se filtra con papel Whatman N.º 1. El extracto obtenido (elutriado) se colectó en tubos de ensayo para su posterior aplicación en los bioensayos.

Realización y evaluación del bioensayo con *Lactuca sativa*

En cada caja de Petri se colocó un papel Whatman N°1 que cubría la mayoría de la superficie. Sobre cada papel se colocaron cinco semillas de lechuga previamente desinfectadas con una solución de 5% de hipoclorito de sodio comercial, durante 30 segundos y posteriormente fueron enjuagadas con agua destilada. En cada petri se agregó 2 mL del elutriado. Para el control negativo se utilizó agua destilada.

Este proceso fue replicado en dos placas por cada muestra. Se guardaron en

bolsas herméticas (tipo ziploc) para conservar la humedad y se incubaron en oscuridad a temperatura ambiente. A las 48 horas se evaluó la germinación de las semillas, y a las 120 horas se midió la longitud de la radícula para determinar la inhibición del crecimiento radicular. Las mediciones se realizan bajo lupa, utilizando un calibre.

Se evaluó si existía inhibición en la germinación o crecimiento radicular al comparar los resultados de los controles positivos y negativos entre sí. Debido a que no se observó inhibición significativa, no se realizaron diluciones adicionales ni se construyó una curva dosis-respuesta, por lo que no se estimó el CE50 para estas muestras.

Análisis estadístico

El análisis se centró en observar posibles diferencias entre la germinación y el crecimiento radicular frente a controles positivos y negativos, como aproximación para detectar efectos fitotóxicos agudos.

Como parte de la puesta a punto del bioensayo, se incorporaron controles positivos con sulfato de cobre (CuSO_4) a concentraciones fijas de 0,125, 0,25, 0,5 y 1 g/L.

Si bien no se construyó una curva dosis-respuesta completa en todos los casos, se utilizaron una o más de estas concentraciones de CuSO_4 como controles positivos con el fin de verificar la sensibilidad del bioensayo. En el caso del control positivo en agua, se construyó una curva dosis-respuesta con estas concentraciones y se estimó el valor de CE50 mediante el ajuste de un modelo log-logístico de cuatro parámetros en R, utilizando el paquete “drc”, mediante la función “drm” para el ajuste del modelo y la función ED() para la estimación del valor del CE50. Este análisis complementario se realizó con el objetivo de validar la sensibilidad del bioensayo ante un tóxico conocido. El mismo procedimiento se aplicó al ensayo realizado en elutriado de compost, como análisis exploratorio complementario.

Además, se aplicó el mismo rango de concentraciones en elutriado de compost, como ensayo exploratorio complementario, para evaluar si la matriz orgánica modifica la toxicidad del sulfato de cobre. En ambos casos, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radicular en relación al control

negativo y los desvíos estándar. La inclusión de controles positivos y la estimación del CE50 se consideraron parte del control de calidad metodológico del ensayo, con el fin de confirmar su capacidad de detectar efectos fitotóxicos.

Para evaluar la fitotoxicidad en el compostaje se comparó el efecto del elutriado de compost con el control negativo en agua, con el objetivo de buscar si existían diferencias significativas en el crecimiento radicular.

Para el análisis estadístico, se utilizó el software RStudio. Previamente se verificaron los supuestos requeridos para realizar una ANOVA, evaluando la normalidad de los datos mediante test Shapiro-Wilk y homogeneidad mediante el test de Levene (`leveneTest()`), utilizando el paquete “car”). Dado que los resultados indicaron que no se cumplían estos supuestos, se optó por aplicar el test no paramétrico de Kruskal-Wallis, que permite comparar tratamientos sin requerir normalidad en los datos. Este análisis se utilizó para determinar si existe diferencia significativa en el crecimiento radicular entre el control negativo en agua y el elutriado del compost.

Encuesta diagnóstica y elaboración de una guía práctica

Se elaboró un cuestionario estructurado elaborado en Google Forms, orientado a revelar la situación actual de las huertas y las problemáticas vinculadas a la germinación. Dicha encuesta fue respondida por personas que participan en distintos tipos de huertas (comunitarias, educativas, domésticas y municipales) y también pequeños productores. Se buscó obtener información sobre la existencia o no de dificultades a la hora de germinar, la percepción sobre la importancia de evaluar la calidad del compost o sustrato, el nivel de conocimiento sobre bioensayos en la comunidad y el interés de aplicarlos en sus respectivas huertas.

A partir del análisis de las respuestas y con base en la experiencia obtenida en los bioensayos realizados durante este trabajo, se elaboró una guía práctica en forma de protocolo accesible para evaluar la fitotoxicidad de compost o sustrato.

El protocolo fue adaptado para ser replicado fácilmente con materiales caseros, económicos y procedimientos simples, de modo que cualquier miembro de la

comunidad pueda aplicarlo sin necesidad de equipos especializados. Esta propuesta busca acercar herramientas de evaluación ambiental a contextos comunitarios, promoviendo el uso de prácticas sustentables y participativas en el manejo de huertas urbanas y en la evaluación de posibles toxicidades en otros espacios del territorio.

Como complemento al trabajo experimental, se realizó una entrevista semiestructurada a una referente en el tema, la Msc. Lic. en Ciencias Biológicas Alejandra Kröger, quien trabaja desde hace 5 años con ensayos de fitotoxicidad. El objetivo de esta entrevista fue conocer la visión de una especialista sobre aplicaciones, ventajas, limitaciones y criterios de validación de este tipo de ensayos. La entrevista se llevó a cabo en septiembre de 2025, sus aportes se encuentran en la discusión del trabajo y la entrevista completa se encuentra en Anexos 7.

Resultados

Selección de semillas

Para la realización de los bioensayos fue necesario definir qué marca comercial de semillas resultaba más conveniente utilizar. Se evaluaron dos marcas comerciales de semillas de *Lactuca sativa* (Vilmorin y Beltrame) con el objetivo de seleccionar la más adecuada para el bioensayo. Para ello, se comparó el porcentaje de germinación y el crecimiento radicular en 5 réplicas de 5 semillas cada una, en las mismas condiciones que se desarrolló el bioensayo.

Ambas marcas presentaron un porcentaje de germinación del 96%. Dado que el protocolo de Sobero y Ronco (2004) considera aceptable hasta un valor del 70%, este criterio no fue suficiente para definir, por este motivo se procede a comparar los valores del claro radicular.

La marca Vilmorin presentó un largo radicular promedio de 1,49 cm y un coeficiente de variación relativa de 34%, mientras que la marca Beltrame mostró un crecimiento promedio bastante menor, de unos 0,66 cm y un coeficiente de variación relativa del 71%. Si bien ambas marcas presentan el mismo porcentaje de germinación, los resultados indican que Vilmorin no solo favorece un mayor desarrollo radicular, sino que también presenta una menor

variabilidad entre repeticiones, lo cual aporta mayor confiabilidad al ensayo.

De esta manera, se seleccionó la marca Vilmorin para el desarrollo de los posteriores bioensayos. La elección de una semilla con mayor crecimiento promedio y menor variabilidad es fundamental para garantizar la sensibilidad del bioensayo, ya que permite detectar con mayor precisión eventuales efectos fitotóxicos en las muestras analizadas. En el Anexo 1 se presentan los datos completos de crecimiento radicular para ambas marcas y los script realizados.

Controles positivos con CuSO_4 y estimación del CE50

Las concentraciones de CuSO_4 que se utilizaron para los controles positivos tanto en agua como en elutriado fueron de 0,125 g/L, 0,25 g/L, 0,5 g/L y 1 g/L. Estas concentraciones fueron seleccionadas con el objetivo de evaluar la sensibilidad del bioensayo frente a un agente fitotóxico conocido. Para poder visualizar el efecto de estas concentraciones sobre el crecimiento radicular de *Lactuca sativa*, se elaboraron boxplot. En la Figura 1 se presentan los resultados correspondientes a los controles positivos realizados en agua y en la Figura 2 los realizados en elutriado, lo que permite una comparación visual de las respuestas del bioensayo en ambos medios.

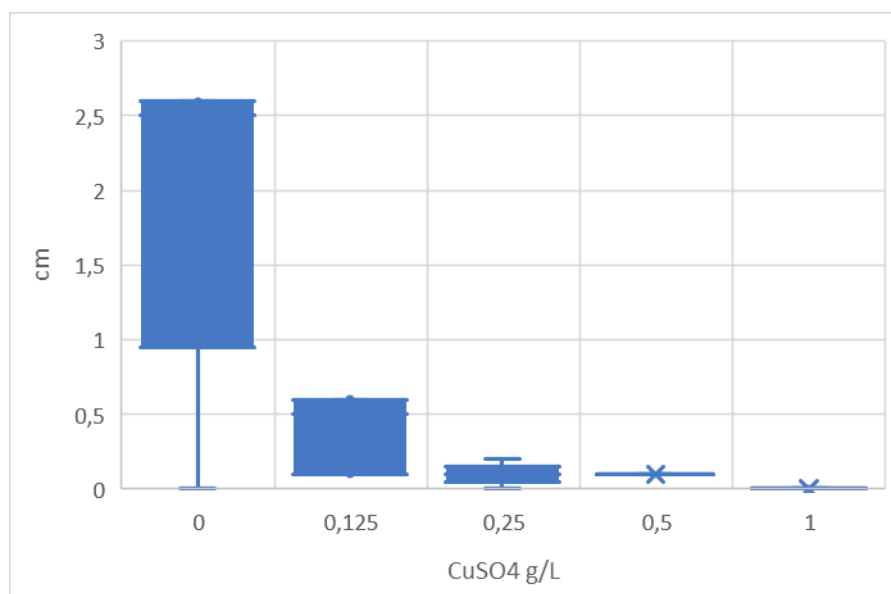


Figura 1: Curva patrón H₂O, se observa el crecimiento radicular de las semillas de los controles positivos expuestas a las diferentes concentraciones de CuSO_4 . En concentraciones de 0 CuSO_4 las radículas llegan a medir hasta 2,6 cm mientras que en la concentración de 1g/L no hubo germinación.

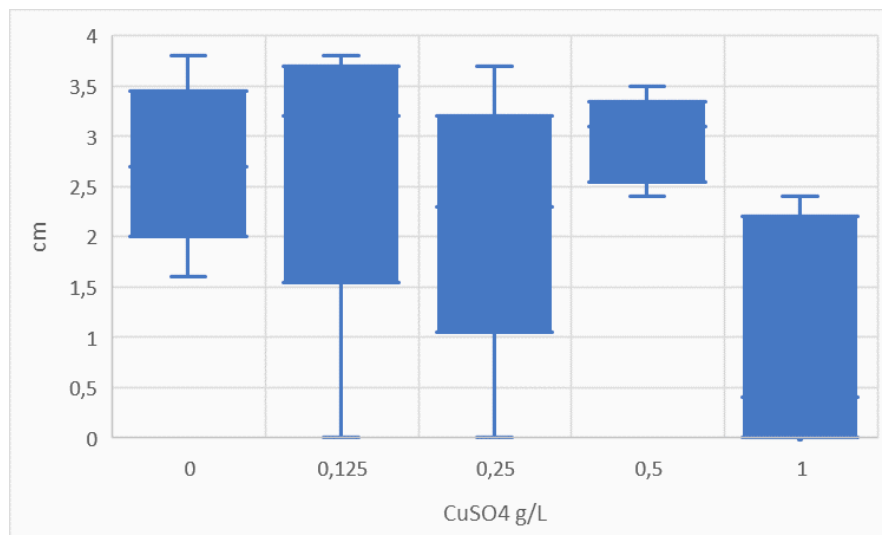


Figura 2: Curva patrón en elutriado, en este caso se observa el crecimiento radicular de las semillas de los controles positivos expuestas a diferentes concentraciones de CuSO_4 . Aquí es donde se ve la hormesis.

El bioensayo en agua expuesto a 0,125 g/L de CuSO_4 presentó una germinación 5/5, el promedio de crecimiento radicular fue de 0,38 cm. Mientras que en el bioensayo en elutriado expuesto a la misma concentración también se tuvo una germinación 5/5 pero en este caso el promedio del largo radicular fue de 3,34 cm. Bajo esta concentración de CuSO_4 además de notar una diferencia en el crecimiento radicular de ambos bioensayos, se observó un color marrón en la punta de la radícula de las semillas en agua, mientras que en las semillas en elutriado no se observó nada inusual.

En el caso de los bioensayos que estuvieron en contacto con 0,25 g/L de CuSO_4 se observaron diferencias bastante notorias en el crecimiento radicular si se comparan los realizados en agua y elutriado.. En este caso ambos bioensayos tuvieron una germinación de 4/5, pero el que se desarrolló en agua tuvo un promedio de crecimiento radicular de 0,1 cm y el que se desarrolló el elutriado tuvo un promedio de 2,16 cm, además que el primero mencionado tenía la punta de la radícula bastante quemada.

A medida que la concentración de CuSO_4 aumenta se observan más efectos negativos en los bioensayos realizados en agua, mientras que en los de elutriado no se han notado cambios, en este punto los bioensayos fueron expuestos a concentraciones de CuSO_4 de 0,5 g/L y ambos tuvieron germinación 5/5. Bajo esta concentración es muy notoria la diferencia, las semillas en agua se muestran con el hipocotilo y la radícula completamente

quemada, mientras que el bioensayo con elutriado sigue manteniendo aproximadamente el mismo promedio en largo radicular, específicamente en este caso 2,98 cm.

La concentración más alta que se utilizó fue la de 1 g/L. En los bioensayos con agua no hubo germinación y las semillas se quemaron completamente, tornándose de un color marrón oscuro. A su vez, las semillas que se desarrollaron en elutriado tuvieron una germinación 3/5, recién en esta concentración se observaron algunos efectos nocivos como la punta de la radícula apenas marrón claro, además el porcentaje de largo radicular fue de 0,96 cm, bastante más bajo que en los casos anteriores.

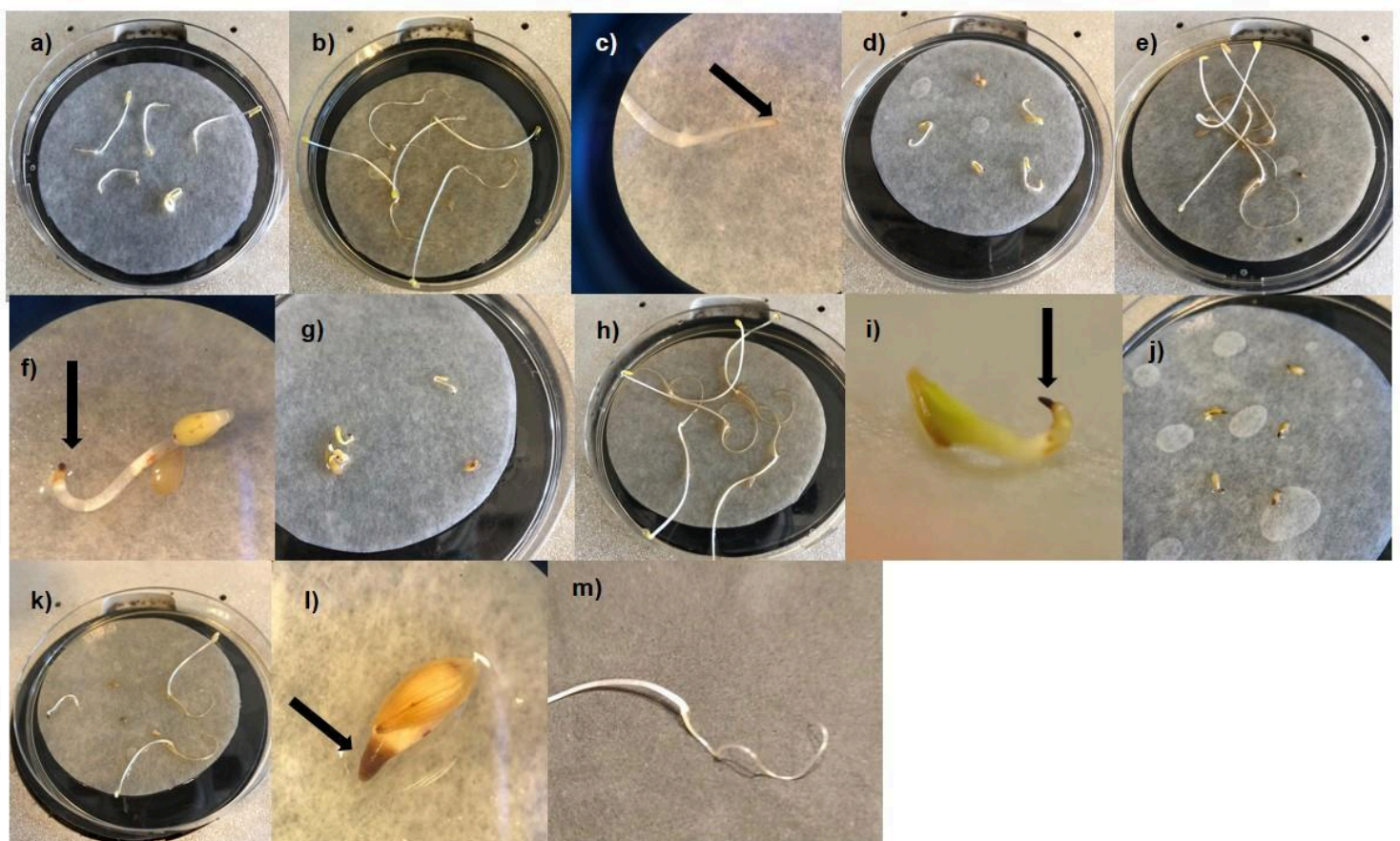


Figura 3: Ensayos expuestos a diferentes concentraciones de CuSO_4 . En las imágenes a) y b) se ven semillas expuestas a 0,125 g/L en agua y elutriado respectivamente, en la imagen c) se observa bajo lupa radícula de semillas de la imagen a). En d) y e) corresponde a ensayos con 0,25 g/L en agua y elutriado respectivamente y en la figura f) vista bajo lupa de la imagen d). En g) y h) los ensayos están expuestos a 0,5 g/L en agua y elutriado, siendo la imagen i) captada por un macrolente del ensayo g). Las imágenes j) y k) están expuestas a 1 g/L en agua y elutriado, siendo l) una imagen cercana del ensayo j) y m) una imagen cercana del ensayo k).

En la *figura 3* presentan imágenes representativas del desarrollo de los bioensayos realizados con distintas concentraciones de CuSO_4 , tanto en agua como en elutriado de compost. Las imágenes a) y b) corresponden a semillas expuestas a 0,125 g/L de CuSO_4 en agua y en elutriado respectivamente. En los bioensayos con agua, se observa un crecimiento radicular moderado, aunque algunas radículas presentan una leve tonalidad marrón en la punta, posiblemente indicativa de daño por fitotoxicidad; esta alteración se muestra con mayor detalle en la imagen c). Las imágenes d) y e) corresponden a los bioensayos expuestos a 0,25 g/L de CuSO_4 en agua y en elutriado respectivamente. En el caso del agua se observa una reducción en el largo radicular comparado con el control negativo. En la imagen f) se observa con mayor claridad la radícula afectada por esta concentración en agua, donde se ve claramente la punta con una tonalidad marrón oscura, lo que indica necrosis. En concentraciones de 0,5 g/L, representadas en las imágenes g) (agua) y h) (elutriado), en este punto la diferencia del largo radicular entre los dos ensayos es muy significativa. En la imagen i) se observa una de las semillas en agua con 0,5 g/L de CuSO_4 de cerca, captada por un macrolente, se puede observar la radícula y el hipocotilo muy afectados. Las figuras j) y k) corresponden a las concentraciones más altas de CuSO_4 (1 g/L) en agua y elutriado respectivamente, donde el ensayo en agua se observa severamente más dañado. Esto se evidencia en la imagen l) donde se observa una semilla completamente quemada, en cambio la imagen m) muestra el crecimiento radicular de una de las semillas expuestas a 1 g/L de CuSO_4 en elutriado, la cual logró desarrollar una radícula corta, pero sin signos aparentes de necrosis. Además del análisis visual y descriptivo, se realizó un análisis cuantitativo mediante el cálculo del CE50 con el objetivo de estimar el nivel de sensibilidad del bioensayo frente al CuSO_4 .

A partir de los datos obtenidos de los controles positivos en agua y elutriado (los cuales se encuentran detallados en Anexo 2, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radicular para ambos casos en base al control negativo, con el fin de estimar el CE50 (concentración efectiva al 50%). En primer lugar, se hicieron los cálculos para los bioensayos expuestos en agua.

En la Tabla 1 se presentan los valores de longitud radicular promedio y los desvíos estándar (n=5) de *Lactuca sativa* expuesta a diferentes concentraciones de CuSO₄ en agua, además de los porcentajes de inhibición calculados en relación al control negativo.

Tabla 1: Se muestran los valores del promedio radicular y del %de inhibición frente a diferentes concentraciones de CuSO₄ en agua.

Concentración g/L	Promedio largo radicular (cm)	Desvío estándar (cm)	% inhibición
0	1,92	1,11	0%
0,125	0,38	0,26	80,2%
0,25	0,1	0,07	94,8%
0,5	0,1	0	94,8%
1	0	0	100%

Como puede verse en los resultados, incluso en la concentración más baja (0,125 g/L) se generó una inhibición superior al 80%, lo que demuestra una respuesta altamente sensible con el CuSO₄ incluso en concentraciones muy bajas.

Posteriormente, para obtener una estimación más robusta del valor del CE50, se ajustó una curva dosis-respuesta en R utilizando el paquete “drc”. Se empleó un modelo log-logístico de 4 parámetros, y se estimó la CE50. El script se encuentra en Anexos 3a.

El valor obtenido fue CE= 0,0637 g/L, lo que indica que a esta concentración se alcanzaría una inhibición del 50% del crecimiento radicular.

No obstante, la curva presentó una respuesta abrupta y el intervalo de confianza fue amplio, con un límite inferior negativo. Estas características limitan la precisión del ajuste y sugieren que el CE50 debe ser interpretado con cautela.

En la Figura 4 se muestra la curva dosis-respuesta ajustada con el modelo log-logístico.

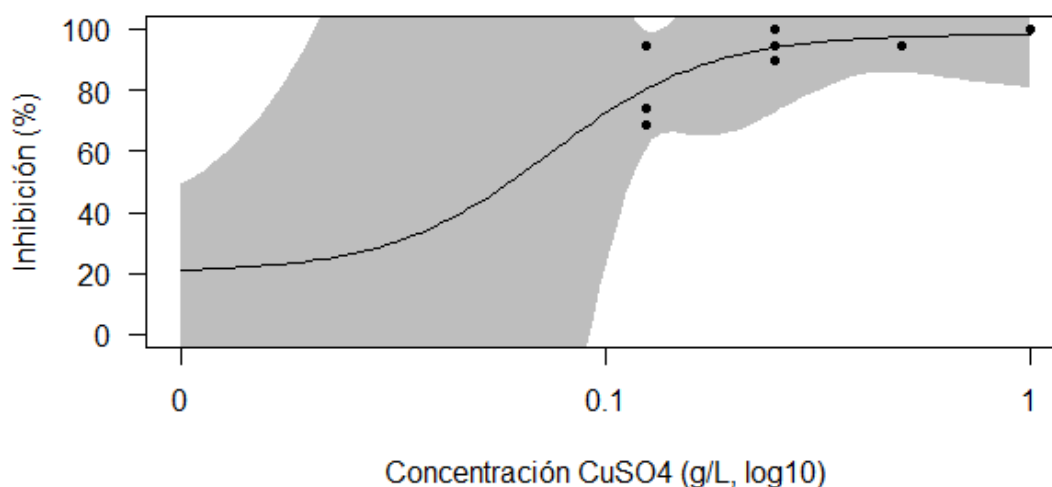


Figura 4: Curva dosis-respuesta del control positivo en agua con CuSO_4 , ajustada con el modelo log-logístico. Se muestran las réplicas individuales (n=5 por concentración) y los intervalos de confianza al 95%.

Además de la curva patrón en agua, se realizó un ensayo complementario utilizando elutriado de compost para el control positivo con CuSO_4 . En este caso, también se calcularon los porcentajes de inhibición del crecimiento radicular en función de la concentración del tóxico, de la misma manera que en agua.

En este caso, el control negativo en elutriado presentó un promedio de 2,72 cm. A partir de este valor se calcularon los porcentajes de inhibición para cada concentración de CuSO_4 en elutriado, los cuales se muestran en la Tabla 2. Cada valor se expresó como promedio acompañado del desvío estándar (n=5).

Tabla 2: Promedios del largo radicular en controles positivos en elutriado con CuSO_4 .

Concentración g/L	Promedio largo radicular (cm)	Desvío estándar (cm)	% inhibición
0	2,72	0,82	0
0,125	3,35	0,34	-22,79
0,25	2,16	1,36	20,59
0,5	2,98	0,43	-9,56
1	0,96	1,15	64,71

A diferencia de los controles positivos en agua, el elutriado presentó mayor variabilidad en los resultados. En particular, se observaron valores de inhibición negativos en las concentraciones más bajas, lo que indica que el crecimiento radicular en estos casos fue superior al de control negativo (0 g/L CuSO_4). Este comportamiento no corresponde a un error en los cálculos, sino que probablemente se deba a una respuesta biológica conocida como hormesis, en la cual, dosis bajas de un tóxico pueden estimular el crecimiento. En este caso, podría estar relacionada con la presencia de compuestos bioestimulantes en el compost por interacciones que afectan la biodisponibilidad del tóxico.

Se observaron inhibiciones del 20,59% con 0,25 g/L de CuSO_4 y del 64,71% con 1g/L de CuSO_4 . Como análisis complementario, se estimó el valor de la CE50 en el elutriado de compost, aplicando el mismo procedimiento que en agua. Para ello, se ajustó un modelo log-logístico de cuatro parámetros utilizando el paquete “drc” en RStudio, obteniendo un valor de CE50 de 0,91 g/L. El script se encuentra en Anexos 3b.

En la Figura 5, se presenta la curva dosis-respuesta ajustada en el elutriado de compost. Como se observa, la curva muestra una forma irregular, con baja pendiente en concentraciones medias, valores negativos de inhibición y gran dispersión en los datos. Estas características dificultan una estimación precisa del CE50.

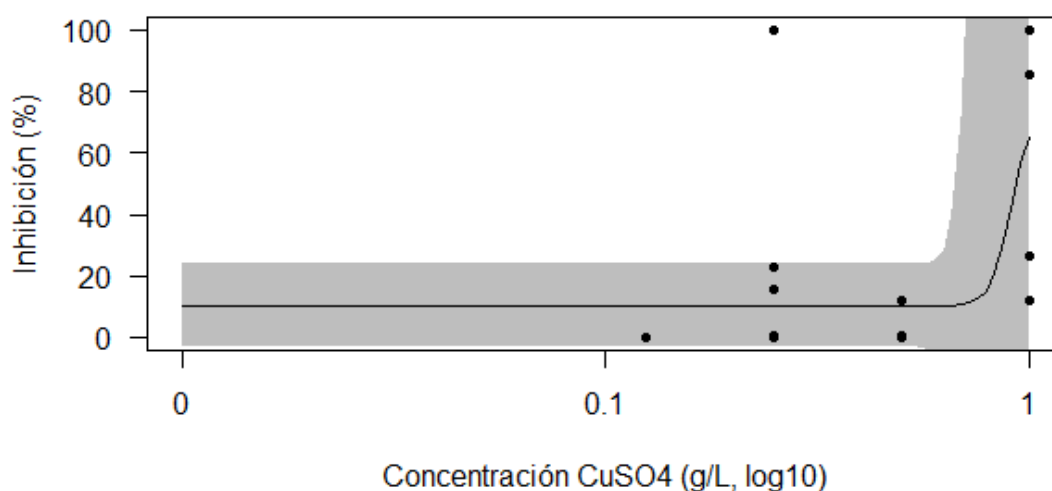


Figura 5: Curva dosis-respuesta ajustada en elutriado de compost con CuSO_4 mediante modelo log-logístico. Se muestran las réplicas individuales ($n=5$ por concentración) y el intervalo de confianza al 95%.

El valor obtenido sugiere que en el elutriado se requiere una mayor concentración de CuSO_4 para alcanzar una inhibición del 50 %, posiblemente debido a la capacidad de la materia orgánica del compost para atenuar la toxicidad del cobre. Sin embargo, el modelo presentó un error estándar elevado (± 10) y no fue posible estimar los intervalos de confianza, lo que indica una alta incertidumbre y un ajuste deficiente del modelo.

Esto puede deberse, en parte, a una respuesta atípica o al posible efecto de hormesis, o incluso con la pérdida de una de las réplicas en la concentración de 0,25 g/L donde una de las semillas no germinó. Por lo tanto, el valor de CE_{50} estimado para el elutriado presenta baja confiabilidad y debe ser interpretado con precaución.

Con el fin de determinar si el compost elaborado con residuos domésticos y bacterias eficientes presenta efectos fitotóxicos, se realizaron bioensayos con *Lactuca sativa*, comparando el crecimiento radicular de las semillas expuestas al elutriado de compost con respecto al control negativo en agua como análisis principal.

Bioensayos con compost

Previo al análisis principal, se realizó una prueba preliminar utilizando compost doméstico, con el objetivo de validar el protocolo en condiciones similares a las del ensayo principal. En esta etapa, se preparó el elutriado y se ensayaron tres tratamientos, un control negativo con agua destilada, un control negativo con elutriado y un control positivo con elutriado al cual se agregó 0,8 g/L de CuSO_4 . Esta única concentración se seleccionó dentro del rango utilizado en los controles positivos en el ensayo principal, y tuvo como finalidad comprobar que el bioensayo respondiera adecuadamente al tóxico conocido con el elutriado. La germinación observada fue de 5/5 en agua, 4/5 con elutriado y 4/5 con el elutriado con CuSO_4 . Se observó una disminución en el crecimiento radicular en presencia del tóxico, lo que confirma la sensibilidad del bioensayo. Estos resultados se presentan en la Figura 6.

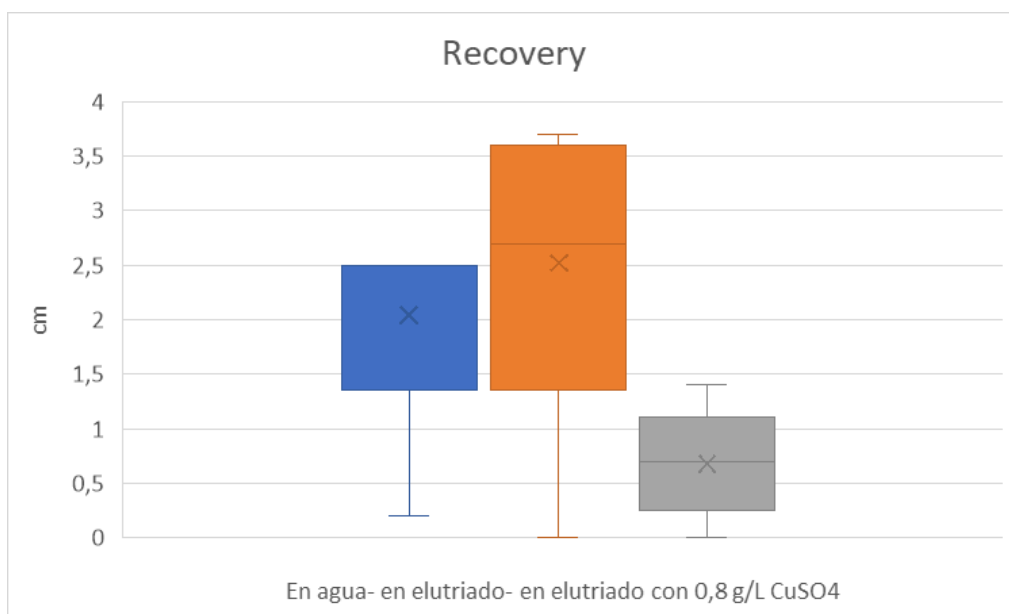


Figura 6: Boxplot del crecimiento radicular de *Lactuca sativa* expuestos a tres tratamientos: en agua destilada (azul), elutriado de compost doméstico (naranja) y elutriado con CuSO_4 0,8 g/L (gris). Se observa una disminución del crecimiento en presencia del tóxico, lo cual confirma la sensibilidad del bioensayo.

En estudios de fitotoxicidad, es común estimar el valor de CE50 (concentración efectiva 50) que permite cuantificar el nivel de toxicidad de una sustancia en relación con su efecto sobre un organismo bioindicador. En este trabajo, dicho

valor fue calculado para los controles positivos con CuSO_4 en agua, como forma de validar la sensibilidad del bioensayo, sin embargo, no se calculó un CE_{50} para las muestras de compost, ya que no se realizaron diluciones ni se observó inhibición significativa en la germinación o crecimiento radicular con el elutriado sin diluir. Por lo tanto, el análisis se centró en comparar directamente el efecto del compost frente al control negativo en agua, como forma suficiente de evaluar la presencia o ausencia de efectos fitotóxicos agudos bajo las condiciones ensayadas.

Una vez validado el protocolo, se procedió al análisis principal utilizando compost elaborado en la huerta comunitaria de San Carlos. En esta prueba, el largo radicular promedio fue de 1,92 cm para el control en agua y de 2,72 cm para el control en elutriado. Para este ensayo, y dado que constituye el ensayo central del estudio, se incluyó una tabla (Tabla 3) que presenta las medidas individuales de las cinco semillas evaluadas en cada condición, junto con sus respectivos valores de promedio \pm desvío estándar. Los datos completos también pueden consultarse en los Anexos 4.

Tabla 3: Medidas individuales del largo radicular (cm) de *Lactuca sativa* en agua y en elutriado, incluyendo promedio \pm desvío estándar.

Semillas	Agua (cm)	Elutriado (cm)
1	2,6	1,6
2	1,9	2,4
3	2,5	3,1
4	2,6	2,7
5	0	3,8
Promedio \pm DE	1,92 \pm 1,11	2,72 \pm 0,82

Para evaluar la posible fitotoxicidad del compost y definir el test estadístico adecuado, primero se verificó el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, requeridos para la aplicación de un análisis de varianza (ANOVA).

Para ello se utilizó el software RStudio, instalando previamente el paquete “car”, necesario para realizar el test Levene. El análisis de normalidad se

evaluó utilizando el test de Shapiro-Wilk, que evalúa si los datos de cada grupo siguen una distribución normal. En este test, un valor de $p > 0,05$ indica normalidad, mientras que $p < 0,05$ sugiere que los datos no siguen una distribución normal.

Los resultados indicaron que el grupo agua no cumplió con la normalidad (Shapiro-Wilk: $W = 0,727$, $p = 0,018$), mientras que el grupo compost sí presentó una distribución normal ($W = 0,997$, $p = 0,998$).

Además, se evaluó la homogeneidad de varianza mediante el test de Levene, utilizando la función *“leveneTest()”* del paquete *“car”* en Rstudio. Este test compara la dispersión de los datos entre grupos, y sugiere que, si el valor de $p > 0,05$, puede asumirse homogeneidad. En este caso, el resultado arrojó que no hubo diferencias significativas en la varianza entre los grupos (Levene: $p = 0,882$) por lo que se asume homogeneidad de varianzas.

Debido a la falta de normalidad en uno de los grupos, se optó por no aplicar un ANOVA y en su lugar aplicar el test no paramétrico de Kruskal-Wallis. El test comparó el grupo agua y el grupo compost y no encontró diferencias significativas ($p = 0,249$). Como el valor de p fue mayor a 0,05, se considera que no hay diferencia entre los grupos, por lo que se concluye que el compost no presentó efectos fitotóxicos agudos.

Todos los análisis estadísticos (tests de normalidad, homogeneidad de varianzas y comparación entre grupos) fueron realizados en RStudio y el script completo puede verse en Anexos 5.

Encuesta y diseño de protocolo adaptado

Para llevar a cabo este punto lo que se hizo en primera instancia fue un cuestionario a miembros de diferentes tipos de huertas, participaron miembros de huertas comunitarias, huertas municipales, huertas educativas, huertas domésticas y pequeños productores, para así evaluar si quienes participan de las mismas tienen algún tipo de problema en cuanto a la germinación, si consideran importante evaluar la calidad del suelo/compost, si están al tanto de lo que son los bioensayos y si les interesaría aplicar.

56 personas participaron respondiendo la encuesta, las preguntas y respuestas de la misma fueron las siguientes:

- ¿Han tenido algún problema en cuanto a la germinación y crecimiento temprano de alguna planta en alguna casa o huerta?

Para esta primera pregunta, el resultado fue que el 55,4% han tenido algún tipo de problema en cuanto a la germinación o el crecimiento temprano de alguna planta, mientras que el 44,6% no han tenido. Esto puede deberse a un montón de motivos, no significa que únicamente porque haya problemas en la germinación es sinónimo de un sustrato o compost contaminado, pero nos da un panorama de cada situación. En la Figura 7 a).

La pregunta número 2 fue la siguiente:

- Han hecho algún análisis al suelo y/o compost para conocer la calidad del mismo?

Las respuestas de esta pregunta fueron que el 81,8% no han hecho análisis del suelo o compost, mientras que el 18,2% si han hecho. Con esta pregunta se buscó identificar si los miembros tienen conocimiento de la calidad del sustrato o compost en el cual trabajan, en la Figura 7 b) se aprecia el gráfico de estos resultados

La pregunta número 3 fue la siguiente:

¿Considera usted relevante el evaluar la calidad del suelo/compost para la germinación y crecimiento temprano de las plantas?

Con esta pregunta se buscó conocer la opinión de los miembros de huertas, saber si para ellos es relevante o no conocer la calidad del sustrato/compost con el que trabajan. El 91,9% afirmaron que creen relevante el evaluar la calidad, mientras que el 8,9% no les parece que sea algo relevante. En la Figura 7 c) se aprecia el gráfico con estos resultados.

La pregunta número 4 fue:

- ¿Conoce o escuchó hablar sobre ensayos de fitotoxicidad para evaluar calidad? ¿Conoce algún método?

Con esta pregunta se buscó conocer el grado de conocimiento que tienen los miembros de huertas sobre bioensayos, y los resultados fueron que el 41,1% no los conocen, el 42,9% ha escuchado hablar de ellos pero no conocen ningún método en concreto y el 16,1% si conocen los bioensayos. En la Figura 7 d) se puede apreciar el gráfico.

La última pregunta de la encuesta fue la siguiente:

- ¿Les interesaría aplicar una técnica rápida y sencilla la cual puede brindarle información sobre el estado del sustrato o compost y que a su vez muestra si existe inhibición en la germinación?

Con esta pregunta se buscó investigar si los miembros de huertas están interesados en aplicar técnicas para evaluar su sustrato/compost, ya que casi el 90% de las respuestas fue afirmativa, se generó la guía para que todos tengan acceso a una manera fácil y rápida de realizar bioensayos y poder testear sus huertas. En la figura 7 e) se observa el gráfico de las respuestas a dicha pregunta.

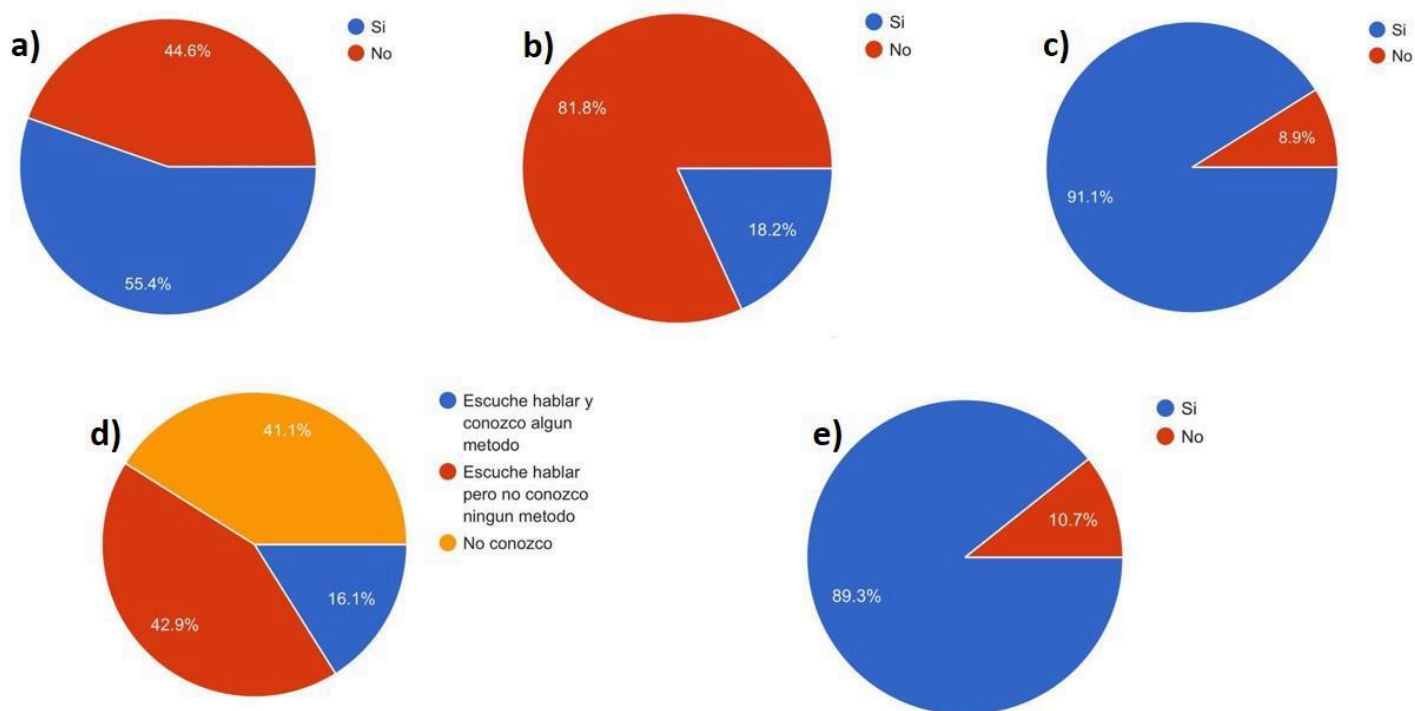


Figura 7: Resultados de la encuesta aplicada a 56 participantes de diferentes tipos de huertas (comunitarias, municipales, educativas, domésticas y pequeños productores). Se muestran los porcentajes de respuesta para cada una de las preguntas planteadas, a) problemas de germinación y crecimiento temprano, b) Realización de análisis de suelo y/o compost, c) Percepción sobre la relevancia de evaluar la calidad del suelo/compost, d) Conocimiento sobre ensayos de fitotoxicidad y métodos asociados e) Interés en aplicar una técnica rápida y sencilla para evaluar el estado del sustrato o compost.

Como resultado final de esta encuesta y en respuesta al alto interés expresado y al desconocimiento general sobre bioensayos, se elaboró un protocolo práctico y accesible que permite a los miembros de huertas evaluar la calidad de sus suelos o compost mediante bioensayos sencillos, económicos y prácticos. Este material, acompañado de un esquema visual en formato folleto que sintetiza los pasos principales del procedimiento, se presenta en Anexo 6.

Discusión:

Este trabajo permitió desarrollar y aplicar bioensayos de fitotoxicidad utilizando la especie *Lactuca sativa* como herramienta para evaluar la calidad del compost y la presencia de sustancias fitotóxicas en la huerta comunitaria de San Carlos. La ausencia de inhibición observada en la germinación y el crecimiento radicular sugiere que el compost analizado es de buena calidad y podría utilizarse sin restricciones en términos de toxicidad aguda.

Este resultado fue respaldado estadísticamente por un análisis no paramétrico (Kruskal-Wallis) que no detectó diferencias significativas en el crecimiento radicular entre las semillas expuestas al elutriado del compost y el control en agua. Esto reafirma que, al menos bajo condiciones agudas y en etapas tempranas de desarrollo, el compost evaluado no presenta efectos tóxicos detectables mediante esta metodología.

En el ensayo de control positivo con CuSO_4 en agua, se obtuvo un valor de CE_{50} 0,0637 g/L, mediante un modelo log-logístico de cuatro parámetros, este valor indica que a concentraciones muy bajas del tóxico se alcanza una inhibición del 50% del crecimiento radicular, confirmando la alta sensibilidad del ensayo. Sin embargo, la curva dosis-respuesta presentó un comportamiento abrupto y un intervalo de confianza amplio, lo que limita la precisión del resultado. Por lo tanto, este valor debe interpretarse como una referencia aproximada.

La CE_{50} obtenida en el control positivo en agua (0,0637 g/L de CuSO_4) se encuentra dentro del rango reportado en la literatura para ensayos de germinación con *Lactuca sativa*. Estudios como Sobrero y Ronco (2004) han documentado valores de CE_{50} entre 0,04 y 0,12 g/L para el crecimiento radicular expuesto a sales de cobre, utilizando condiciones experimentales comparables. Del mismo modo, valores de referencia reportados por la U.S. Environmental Protection Agency (EPA, 1996) indican que *L. sativa* responde al cobre en concentraciones similares, lo que confirma que el valor obtenido en este estudio se encuentra dentro del rango esperado para esta especie. Por lo tanto, el valor obtenido en este trabajo es consistente con los niveles de

toxicidad esperados para esta especie y respalda la validez del bioensayo como indicador sensible.

En el caso del ensayo complementario con elutriado, el valor estimado de CE50 fue de 0,91 g/L. La confiabilidad de este resultado es baja, debido a la variedad de los datos, el posible efecto de hormesis y el mal ajuste del modelo. Por este motivo, se considera únicamente como referencia para mostrar la posible atenuación de la toxicidad por parte del medio en el que se desarrolla y no como resultado concluyente.

Si bien el compost evaluado no mostró fitotoxicidad aguda, es importante considerar cuáles serían las causas esperables en caso de que se hubieran detectado efectos tóxicos. La literatura señala que la fitotoxicidad del compost suele asociarse a procesos de maduración incompleta, presencia de ácidos orgánicos intermedios, altas concentraciones de sales solubles, amonio o metales pesados, todos factores que suelen ser temporales y corregibles mediante manejo adecuado del proceso de compostaje (Sobrero y Ronco, 2004). En este sentido, la aparición de fitotoxicidad no implicaría necesariamente la inutilización del compost, sino la necesidad de extender el tiempo de maduración, mejorar la aireación o ajustar la humedad, permitiendo que el material alcance un estado estable y seguro para su uso agrícola. Por ello, ante la detección de efectos fitotóxicos, las medidas de manejo serían una vía efectiva para corregirlos.

La respuesta que se obtuvo en el elutriado incluyó valores negativos, de inhibición en las concentraciones más bajas, lo que indica que el crecimiento radicular fue mayor que en el control. Esta respuesta se podría relacionar con la hormesis, proceso en el cual, el estar expuesto a bajas dosis de una sustancia potencialmente tóxica, estimula el crecimiento radicular. En este contexto sería lógico que ocurriera ya que el compost podría poseer compuestos bioestimulantes o interacciones fisicoquímicas que reducen la biodisponibilidad del CuSO_4 . No obstante, esto solamente es un supuesto, ya que la hormesis puede depender de múltiples factores. Tal como señala Kröger (entrevista, 2025), la interpretación de bioensayos debe considerar ciertos criterios de aceptación (relacionados con el desempeño del control, la homogeneidad de las semillas y la variabilidad de las réplicas), ya que estos

contribuyen a fortalecer la solidez de los resultados. En el caso de *Lactuca sativa*, se suele requerir que el control negativo supere 80% de germinación y que el coeficiente de variación de la elongación radicular sea inferior al 30%. Estos lineamientos permiten enmarcar los hallazgos del presente estudio dentro de los estándares utilizados en bioensayos de germinación.

La menor toxicidad observada en el elutriado puede explicarse por la interacción del cobre con la materia orgánica del compost. Según Sobrero y Ronco (2004), la materia orgánica puede reducir la fracción libre del metal al unirse a él y retenerlo, reduciendo así su biodisponibilidad y el efecto tóxico sobre las plantas. En este sentido, la mayor CE50 registrada en el elutriado (0,91 g/L) es coherente con esta atenuación del efecto del CuSO_4 . Este comportamiento también resalta la importancia de considerar las características del medio y los procesos de sorción cuando se interpretan bioensayos en matrices complejas.

La metodología utilizada mostró ser sencilla, fácil de replicar y económica, lo que la convierte en una buena alternativa viable para contextos con recursos limitados. Esto resulta particularmente relevante en huertas comunitarias u otros espacios similares, donde podría existir interés en monitorear la calidad de sustratos, pero el acceso a análisis de laboratorio tradicionales pueden estar un tanto limitados. Tal como lo comentó Kröger en la entrevista realizada, estas son algunas de las grandes ventajas de los bioensayos.

Uno de los objetivos de este trabajo fue justamente diseñar un protocolo adaptado para que cualquier persona interesada pueda replicarlo localmente, promoviendo herramientas accesibles para evaluar la calidad de los sustratos. En este sentido, el trabajo aporta no solo datos experimentales sino también un enfoque metodológico reproducible que podría integrarse en programas locales de monitoreo ciudadano o en iniciativas de gestión comunitaria del suelo.

Es importante aclarar que los bioensayos detectan efectos agudos principalmente en las primeras etapas del desarrollo vegetal, como la germinación y la elongación radicular. No obstante, la presencia de sustancias tóxicas puede afectar también etapas posteriores del ciclo de vida de las plantas como su crecimiento y su productividad. Por ello, la relevancia de estos

ensayos no se limita a la germinación, sino que se vincula con su capacidad para evidenciar la presencia de tóxicos que podrían impactar la salud ambiental y, eventualmente, la inocuidad de los alimentos.

Asimismo, el uso de bioensayos es muy amplio en cuanto a especies, funcionando como bioindicadores de la salud ambiental en todo tipo de sistemas. Esto refuerza que el valor de los bioensayos radica en su sensibilidad y capacidad para detectar condiciones tóxicas en distintos tipos de ambientes.

Aun así, los resultados obtenidos respaldan el uso de esta técnica como una herramienta preliminar de monitoreo ambiental, especialmente en contextos donde la participación ciudadana en la gestión de los suelos resulta clave. Por otra parte, tal como señaló Kröger en la entrevista realizada, la variabilidad entre semillas de *Lactuca sativa* constituye una dificultad frecuente en este tipo de bioensayos. En ese sentido, la realización de pruebas preliminares resulta fundamental para minimizar errores y asegurar la validez del ensayo. En este trabajo, dichas pruebas previas fueron efectivamente realizadas, lo que permitió ajustar el protocolo, confirmar su funcionamiento y fortalecer la confiabilidad de los resultados obtenidos.

En conjunto, los resultados obtenidos permiten concluir que el compost analizado no presenta fitotoxicidad aguda y que los bioensayos con *Lactuca sativa* constituyen una herramienta válida, sensible y accesible para la evaluación ambiental básica. Kröger, en la entrevista realizada, señaló que en Uruguay los bioensayos se utilizan en monitoreos ambientales, aunque su incorporación en programas regulares aún no es sistemática ni obligatoria en la normativa vigente. Este punto es especialmente relevante, ya que resalta el potencial de incorporar metodologías simples como la desarrollada en este trabajo dentro de futuras regulaciones o lineamientos técnicos, contribuyendo a fortalecer el monitoreo ambiental a escala nacional.

La realización de este trabajo acerca a todo aquel que quiera vincularse con la gestión y el monitoreo ambiental una herramienta práctica y económica para poder evaluar de manera general la calidad ambiental en diversos medios. De esta forma, este estudio no solo aporta evidencia experimental sobre la calidad del compost evaluado, sino que también contribuye al desarrollo de capacidades locales para la toma de decisiones ambientales informadas.

Conclusiones:

El bioensayo aplicado demostró ser sensible ante la presencia de un contaminante conocido (CuSO_4), lo que valida su utilidad como herramienta de monitoreo ambiental. La estimación de CE50 en agua y elutriado permitió confirmar esta sensibilidad y sugiere que el compost puede atenuar parcialmente la toxicidad de ciertos compuestos. Este comportamiento confirma que la metodología empleada es capaz de discriminar entre condiciones no tóxicas y tóxicas, reforzando su valor como ensayo de referencia para contextos comunitarios.

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten concluir que el compost elaborado en la huerta comunitaria de San Carlos no presentó evidencia de efectos fitotóxicos agudos, y puede considerarse apto para su uso agrícola. La ausencia de inhibición significativa en la germinación y el crecimiento radicular de *Lactuca sativa*, junto con los resultados obtenidos mediante el test de Kruskal-Wallis, respaldan esta afirmación. Además, este estudio permitió no solo evaluar el compost, sino también analizar la solidez del procedimiento aplicado como una primera aproximación confiable para la detección de posibles efectos tóxicos.

A su vez, se logró desarrollar y aplicar un protocolo práctico, sencillo y accesible para la evaluación de compost, adaptable a contextos comunitarios sin requerimientos técnicos complejos. De esta forma, el trabajo contribuye a la validación de una metodología fiable y accesible para una primera aproximación de evaluación de toxicidad ambiental, lo cual constituye uno de los aportes centrales del estudio.

En resumen, este trabajo aporta una metodología confiable para evaluar compost a nivel comunitario y evidencia la viabilidad de su implementación como parte de estrategias de producción agroecológica. Su simplicidad, sensibilidad y coherencia con los principios de monitoreo ambiental de bajo costo la convierten en una herramienta valiosa para futuros procesos de control de calidad en espacios productivos comunitarios.

Bibliografía:

- * Alzate, C. A. C., Toro, Ó. J. S., Arango, J. A. R., & Ramírez, L. E. A. (2004). Biodegradación de residuos orgánicos de plazas de mercado. *Revista colombiana de biotecnología*, 6(2), 78-89.

- * Artmann, M., & Sartison, K. (2018). *The role of urban agriculture as a nature-based solution: A review for developing a systemic assessment framework*. *Sustainability*, 10(6), 1937.

- * Barral, M. T., & Paradelo, R. (2011). A review on the use of phytotoxicity as a compost quality indicator. *Dynamic Soil, Dynamic Plant*, 5, 36–45.

- * Bartual Sánchez, J., (1984). Criterios toxicológicos generales para los contaminantes químicos. Centro de investigación y asistencia técnica, Barcelona, pp. 1-8.

- * Carmo, L. I. D., Rendina, A., Bursztyn, A., Ríos, A. D. L., Arnedillo, G., de Iorio, F., & Rosa, A. (2019). Uso de *lactuca sativa* como especie diagnóstico en sedimentos enmendados con compost. In *V Reunión Argentina de Geoquímica de la Superficie (RAGSU)(La Plata, 12 al 14 de junio de 2019)*, pp. 222-225.

- * Carmona, M., Gassen, D. & Scandiani, M., (2009). Síntomas de fitotoxicidad en soja, conocerlos para evitar confusiones. Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa (AAPRESID). 7 pp.

- * Celis Hidalgo, J., Sandoval Estrada, M., & Briones Luengo, M. (2007). Bioensayos de fitotoxicidad de residuos orgánicos en lechuga y ballica anual realizados en un suelo Alfisol degradado. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 7(3), 51-60.

- * DGSA–MGAP. (2019). Resolución N° 536/019: Criterios para la calidad del compost de uso comercial. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Uruguay.

* Foti, N. M., Billard, C., Lallana, V.H., (2005). Bioensayos de germinación con semillas de rúcula y lechuga para monitoreo de calidad de agua. Entre ríos, Argentina. *Revista científica Agropecuaria* 9 (1): 47-53.

*Galaviz-Villa, I., Gutiérrez-Sampieri, G. D., Pérez-Landa, I. D., Alcántara-Méndez, V., & Salcedo-Garduño, M. G. (2025). Alternativas para el aprovechamiento de residuos agroindustriales y el desarrollo sostenible. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 34, 1–10.

* Galindo, E., Ocaña, R., Chavez, B., Naranjo, F., Martinez, M., Campos, J., García, F. (2016). Evaluación de la fitotoxicidad de aceite automotiz usado con Vicia faba Y *Phaseolus coccineus*. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 33 (3) 421-435.

* García-Alonso J, Greenway, GM, Munshi A, Gómez JC, Mazik K, Knight AW, Hardege JD, Elliott M. (2011). Biological responses to contaminants in estuaries: disentangling complex relationships. *Marine Environmental Research* 71(4), 295-303.

* Gutiérrez Sánchez, M. J. (2018). *Análisis de la calidad del sedimento de Laguna Trupán Comuna de Tucapel, Región del Bío-Bío* (Doctoral dissertation, Universidad Católica de la Santísima Concepción). 120 pp.

* Huerta Muñoz, E., Cruz Hernández, J., Aguirre Álvarez, L., Caballero Mata, R., & Pérez Hidalgo, L. F. (2015). Toxicidad de fertilizantes orgánicos estimada con bioensayo de germinación de lechuga. *Terra Latinoamericana*, 33(2), 179-185.

* ISO 11269-2, 1995. Soil Quality-determination of the Effects of Pollutants on Soil Flora. Part 2: Effects of Chemicals on the Emergence of Higher Plants. International Organization for Standardization, Genève, Switzerland. 20 pp.

*Li, L., & Carter, J. (2025). Exploring the relationship between urban green infrastructure connectivity, size and multifunctionality: a systematic review. *Landsc Ecol*, 40 Article 61.

- * Manrique Córdoba, N. (2023). Gestión de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos de recogida selectiva mediante compostaje en planta descentralizada: seguimiento del proceso y calidad del compost final. Universidad Miguel Hernández de Elche.

- * Ministerio de Ambiente. (2021). Plan nacional de Gestión de Residuos: Uruguay Circular. Montevideo, Uruguay.

- * Muñoz-Solarte, D. M. y Guerrero-Pepinosa, N. (2013). Allium test para evaluar el efecto citotóxico y genotóxico de extractos naturales en células meristemáticas de Allium cepa. *Memorias*, 11(19), 83-86.

- * Navarro, P., Moral, H., Gomez, L. et al. (1995). Residuos orgánicos y agricultura. Universidad de Alicante, secretariado de publicaciones, pp. 1-155.

- * Negro, M., F. Villa, J. Aibar, R. Aracón, P. Ciria, M. Cristábal, C. Zaragoza, A. Benito, A. García, G. García, C. Labrador, D. Lacasta, J. Lezaún, R. Meco, G. Pardo, M. Solano, C. Torner y C. Zaragoza (2001). Producción y gestión del compost. *Informaciones Técnicas* 88. CIEMAT.

- * Oesterwind, D., Rau, A., Zaiko, A. (2016). Drivers and pressure – Untangling the terms commonly used in marine science and policy. *J. Environ Manage.* 181,8-15.

- * Pandey, B., & Gosh, A. (2023). Urban ecosystem services and climate change: a dynamic interplay. *Frontiers in Sustainable Cities*, 5, Article 1281430.

- *Poder Ejecutivo. (2013). Decreto N° 182/013: Reglamento para la clasificación y uso del compost obtenido a partir de residuos. Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente. Uruguay.

- *Pradhan, P., Callaghan, M., Hu, Y., Dahal, K., Hunecke, C., Reußwig, F., Lotze-Campen, H., & Kropp, J.P. (2023). A systematic review highlights that there are multiple benefits of urban agriculture besides food. *Global Food Security*, 38, 100700.

- * Rivero, G., Galizio, R., Mugnolo, A., Mestelan, S., & Lett, L. (2016). Comparación de bioensayos con especies hortícolas para la evaluación de la madurez de compost derivados de residuos sólidos municipales. *RIAL, Red de Información y Alertas en Línea*.

- * Roca-Pérez, L., Marimón, L., Campillo, C., Ponce, L., & Boluda, R. (2011). Assessing compost phytotoxicity using compost eluates and a compost plate bioassay. In *International Symposium on Growing Media, Composting and Substrate Analysis 1013* (pp. 95-100).

- *Sauvé, S., McBride, M. B., Hendershot, W. H., & Sumner, M. E. (2000). Soil solution speciation of heavy metals: A review. *Soil Science Society of America Journal*, 64(2), 621–632.

- *Serrano Morales, J. J. (2016). *Hormesis: ¿Una cuestión de concentración?* *Encuentros en la Biología*, 9(159), 141-144.

- * Silva, J., Torrejón, G., & Bay-Schmith, E. (2003). Calibration of the acute toxicity bioassay with *Daphnia pulex* (crustacea: Cladocera) using a reference toxicant. *Gayana (Concepc.)*, 67(1), 87-96.

- * Sivakumar K., Sugirtharan M. (2010). Impact of family income and size on per capita solid waste generation: a case study in Manmunai North Divisional Secretariat Division of Batticaloa. En: *Journal of Science of the University of Kelaniya, Sri Lanka*, n°5, pp.13-23, Kelaniya.

- *Sobrero, MC y Ronco, A. (2004) Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. En: Castillo, G., Ed., *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, México, 63-70.

- *Spósito, M. & Espínola, J. C. (2008). Evaluación in vitro del efecto tóxico de una formulación comercial de glifosato de amonio sobre cinco especies representantes de diferentes hábitats y niveles tróficos. *INNOTECH*, 12.

- * Sykora, V., Clavijo, A., Calvo, D., Kronberg, M. Florencia, Díaz, S., Gómez, C., Munarriz, E., & Rossen, A. (2021). Aplicación de bioensayos ecotoxicológicos para evaluar la calidad del agua del arroyo Cañuelas (Buenos Aires, Argentina). *Tecnología y ciencias del agua*, 12(1), 261-312.
- * Terrile, R., Martinez, N., Paz, N., Brunotto, F., Costa, M., Budai, N., Ruiz, C., Rizzi, M., Invernizzi, M., Scarpeci, T., Piacentini, R. D., Winter, K., & Tornaghi, C. (2024) Urban food waste for soil amendment? Analysis and characterisation of waste-based compost for soil fertility management in agroecological horticultural production systems in the city of Rosario, Argentina. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, Article 1338451.
- *Urriola, L., Montes Castillo, K., & Díaz Vergara, M. (2021). Evaluación de la fitotoxicidad de abonos orgánicos comerciales usando semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y pepino (*Cucumis sativus*). *Revista Semilla del Este*, 1(2), 1–11.
- *U.S. Environmental Protection Agency. (1996). *Ecological effects test guidelines* (OPPTS 850.4200): Seed germination/root elongation toxicity test. (EPA 712–C–96–154).
- *Vásquez, A. (2009). Ecología urbana de las ciudades intermedias chilenas: estrategias de sustentabilidad urbana en Chillán y Los Ángeles. *Revista INVI*, 24(65), 21–50.
- * Wang, W. C. (1986). Comparative toxicology of phenolic compounds using root elongation method. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 5(10), 891-896.
- * Zubillaga, M. S., Branzini, A., & Lavado, R. S. (2008). Problemas de fitotoxicidad en compost. *Pilquen-Sección Agronomía*, (9), 1.

Anexo 1: Evaluación comparativa de semillas comerciales de *Lactuca sativa* para la puesta a punto del bioensayo.

Datos de crecimiento radicular de semillas marca Vilmorin y Beltrame.

Tabla 4: Se observa el crecimiento radicular de las 2 marcas de semillas Vilmorin y Beltrame, para definir cuál de las dos marcas se escoge para la realización de los bioensayos.

Vilmorin (cm)	Beltrame (cm)
2,1 – 2 – 1,8 – 1,6 – 1,4	0,5 - 0,6 - 0,2 – 1,1 – 0,1
1,7 – 1,5 – 1,6 – 0 – 1,9	0 – 1,2 – 0,4 -0,9 – 1,1
1,5 – 2 – 2- 1,9 – 1,6	0,8 – 0,1 – 0,7 – 1 – 0,2
1,8 – 1,4 – 1,8 – 1,2 – 0,6	0,9 – 0,3 – 1,5 – 0,3 – 1,5
1,5 – 1 – 0,6 – 1,1 – 1,6	0,2 – 1,1 – 0,2 – 0,3 – 1,3

Script en R para el cálculo de media, desvío estándar y coeficiente de variación relativa (RCV):

```
> vilmorin <- c(2.1, 2.0, 1.8, 1.6, 1.4, 1.7, 1.5, 1.6, 0.0, 1.9, 1.5,
2.0, 2.0, 1.9, 1.6,
+           1.8, 1.4, 1.8, 1.2, 0.6, 1.5, 1.0, 0.6, 1.1, 1.6)
>
> mean(vilmorin)
> sd(vilmorin)
> (sd(vilmorin) / mean(vilmorin)) * 100
> beltrame <- c(
+   0.5, 0.6, 0.2, 1.1, 0.1,0.0, 1.2, 0.4, 0.9, 1.1, 0.8, 0.1, 0.7,
1.0, 0.2, 0.9, 0.3, 1.5, 0.3, 1.5, 0.2, 1.1, 0.2, 0.3, 1.3)
> mean(beltrame)
> sd(beltrame)
> (sd(beltrame) / mean(beltrame)) * 100
```

Anexo 2- Tabla largos radicales de semillas expuestas a diferentes concentraciones de CuSO_4 .

A continuación se presenta la tabla con los valores de crecimiento radicular obtenidos en los bioensayos de control positivo, realizados con diferentes concentraciones de sulfato de cobre, tanto en agua destilada como en elutriado de compost. Estos datos fueron utilizados para estimar el porcentaje de inhibición del crecimiento radicular.

Tabla 5: Se pueden observar los largos radicales de los controles positivos expuestos a las diferentes concentraciones de sulfato de cobre.

	Agua (cm)	Elutriado (cm)
0,125 g/L CuSO_4	0,6 – 0,5 – 0,6 – 0,1 – 0,1	3,2 – 3,8 – 3,6 – 3,1 – 3
0,25 g/L CuSO_4	0,1 – 0,2 – 0,1 – 0,1 – 0	3,7 – 2,1 – 2,3 – 2,7 – 0
0,5 g/L CuSO_4	0,1 – 0,1 – 0,1 – 0,1 – 0,1	3,1 – 2,4 – 3,5 – 2,7 – 3,2
1 g/L CuSO_4	0 – 0 – 0 – 0 – 0	0,4 – 0 – 2 – 2,4 – 0

Anexos 3a- Script en R para el cálculo del CE50 en agua.

(drc)

Cargando paquete requerido: MASS

'drc' has been loaded.

Please cite R and 'drc' if used for a publication,
for references type 'citation()' and 'citation('drc')'.

Adjuntando el paquete: 'drc'

The following objects are masked from 'package:stats':

gaussian, getInitial

```
> concentracion <- c(0, 0.125, 0.25, 0.5, 1)
> inhibicion <- c(0, 80.2, 94.8, 94.8, 100)
> datos <- data.frame(concentracion, inhibicion)
> modelo <- drm(inhibicion ~ concentracion, data = datos, fct =
LL.4())
> summary(modelo)
```

Model fitted: Log-logistic (ED50 as parameter) (4 parms)

Parameter estimates:

	Estimate	Std. Error	t-value	p-value
b: (Intercept)	-2.213025	1.902896	-1.1630	0.45212
c: (Intercept)	-0.080780	3.302839	-0.0245	0.98443
d: (Intercept)	98.427508	3.765111	26.1420	0.02434 *
e: (Intercept)	0.063724	0.034681	1.8374	0.31730

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error:

3.302932 (1 degrees of freedom)

```
>  
> ED(modelo, 50, interval = "delta")
```

Estimated effective doses

	Estimate	Std. Error	Lower	Upper
e:1:50	0.063724	0.034681	-0.376940	0.504389

```
> plot(modelo, type = "all",  
+       xlab = "Concentración CuSO4 (g/L)",  
+       ylab = "% Inhibición del crecimiento radicular",  
+       main = "Curva dosis-respuesta - CE50 en agua")
```

Anexos 3b- Script en R para el cálculo del CE50 en elutriado.

```
> library(drc)  
> concentracion_elutriado <- c(0.125, 0.25, 0.5, 1)  
> inhibicion_elutriado <- c(-22.79, 20.59, -9.56, 64.71)  
> modelo_elutriado <- drm(inhibicion_elutriado ~  
concentracion_elutriado, fct = LL.4(), type = "continuous")  
> ED(modelo_elutriado, 50, interval = "delta")
```

Estimated effective doses

	Estimate	Std. Error	Lower	Upper
e:1:50	0.91148	10.00000	NaN	NaN

Aviso:

In qt(1 - alphah, dfres) : Se han producido NaNs

```
> plot(modelo_elutriado,  
+       type = "all",  
+       broken = TRUE,
```

```
+ xlab = "Concentración de CuSO4 (g/L)",
+ ylab = "% de inhibición del crecimiento radicular",
+ main = "Curva dosis-respuesta - CE50 en elutriado de compost")
```

Anexo 4- Datos de crecimiento radicular en controles negativos

Tabla 6: Se observan las medidas en cm del crecimiento radicular de los controles negativos de los bioensayos.

	Agua (cm)	Elutriado (cm)
Control negativo	2,6 – 1,9 – 2,5 – 2,6 - 0	1,6 – 2,4 – 3,1 – 2,7 – 3,8

Anexos 5- Script en R utilizado para los análisis estadísticos (normalidad, homogeneidad de varianzas y comparación entre tratamientos).

```
> library(car)
```

Cargando paquete requerido: carData

```
>
> agua <- c(2.6, 1.9, 2.5, 2.6, 0)
> compost <- c(1.6, 2.4, 3.1, 2.7, 3.8)
> largo <- c(agua, compost)
> grupo <- c(rep("agua", length(agua)), rep("compost",
length(compost)))
> shapiro.test(agua)
```

Shapiro-Wilk normality test

```
data:  agua
W = 0.7273, p-value = 0.01809
```

```
> shapiro.test(compost)
```

Shapiro-Wilk normality test

```
data:  compost
W = 0.99726, p-value = 0.9979
```

```
> leveneTest(largo ~ grupo)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
```

```

      Df F value Pr(>F)
group  1  0.0235 0.8819
      8

```

Aviso:

In `leveneTest.default(y = y, group = group, ...)` : group coerced to factor.

```
> kruskal.test(largo ~ grupo)
```

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: largo by grupo
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 1.328, df = 1, p-value = 0.2492
```

Anexo 6 - Guía práctica para evaluar compost con semillas de lechuga

Este protocolo fue diseñado para que cualquier persona pueda comprobar de manera simple y económica si su compost o suelo es apto para germinar. Usando semillas de lechuga (*Lactuca sativa*), se podrá detectar si existen sustancias que afectan el crecimiento de las plantas.

Objetivo:

Brindar una guía clara, práctica y accesible para evaluar la posible fitotoxicidad de compost o suelo mediante la realización de bioensayos utilizando semillas de *Lactuca sativa* (lechuga), de forma que cualquier persona, incluso si tener conocimiento académico pueda identificar si un sustrato es apto para la germinación de cultivos o no.

¿Cómo saber si el compost o suelo que tengo es apto para germinar?

En esta guía se encuentran los pasos a seguir para que cualquier persona, incluso desde su hogar, pueda testear y obtener una primera impresión del estado del suelo o compost donde se planea germinar. Se busca trasladar de

forma clara y práctica la aplicación de bioensayos de fitotoxicidad, de modo que, mediante la observación de ciertos factores, sea posible evaluar y sacar conclusiones sobre la calidad del suelo o compost estudiado.

La elaboración de esta guía surge del estudio del compost de la huerta comunitaria de San Carlos. Dicho compost es producido a partir de una gran cantidad de materia orgánica, proveniente de residuos domésticos gestionados por 20 familias de la zona, las cuales reservan y airean los desechos siguiendo una serie de pasos que tienen establecidos para convertir dichos residuos en compost.

Es importante ser responsables de todos nuestros residuos, puede parecer que los orgánicos no son un problema porque se degradan más rápidamente que los inorgánicos, pero la realidad es que se incrementa todos los días, esto significa un desafío importante para la salud y el medioambiente, por lo tanto utilizarlos y hacerlos funcionales convirtiéndolos en compost es algo muy importante en la actualidad, pero de nada sirve obtener compost o tener un sustrato si el mismo está contaminado o no sirva para germinar, por eso es importante la realización de estos test.

El objetivo de esta guía es hacer un paso a paso simplificado del proceso de bioensayos para que cualquier persona pueda realizarlo y obtenga una primera aproximación sobre la calidad del sustrato, en general los mismos son rápidos, de bajo costo y eficientes.

Los materiales que se necesitan son:

- Semillas:
 - Semillas de *Lactuca sativa* (lechuga).
 - Hipoclorito (para la desinfección de semillas, diluido como indica el protocolo).

- Muestras del sustrato:

- Muestras de compost o sustrato a evaluar.
- Recipientes y soportes:
 - Recipientes plásticos limpios y secos.
 - Recipientes con tapa (como frascos o tupperes hermeticos)
 - Bolsas herméticas (estilo las ziploc o similares)
 - Papel de filtro de café (se utilizan estos filtros porque están pensados para uso humano y no contienen sustancias tóxicas que puedan interferir con el ensayo).
- Instrumental y medición:
 - Balanza (preferentemente digital)
 - Jeringa
 - Calibre
 - Marcador permanente
 - Caderno
 - Lupa (opcional, por si se quiere utilizar para observar detalles).

Los pasos a seguir se detallan a continuación:

1- Toma de muestras:

Para asegurar que el análisis represente adecuadamente la calidad del compost o sustrato, es fundamental obtener una muestra compuesta que sea representativa, a continuación se detallan los pasos para realizar una correcta toma de muestras:

- Tomar pequeñas porciones de varios puntos y profundidades al azar del sustrato a evaluar, por ejemplo como se ve señalado en la *imagen 1* (en total aproximadamente unos 50 cc).
- Colocar todo el material recolectado se va a colocar en un recipiente de plástico limpio y seco y mezclarlo bien, para obtener una muestra lo más homogénea posible.

- Si el bioensayo no se va a realizar de forma inmediata, guardar la muestra en un recipiente tapado en la heladera hasta su uso.

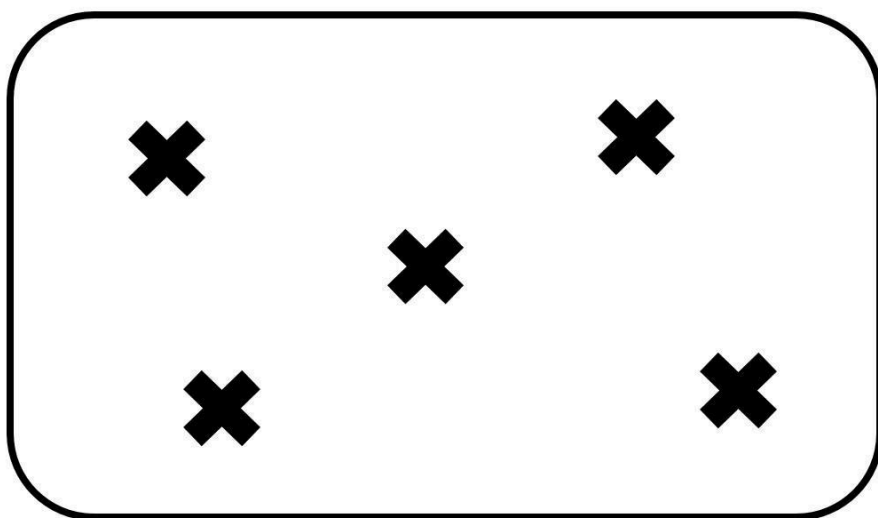


Imagen 1: Esquema donde se muestra con cruces a modo de ejemplo puntos al azar para tomar las muestras del compost y que sean consideradas representativas. A su vez se aconseja que sean tomadas en diferentes profundidades.

2- Filtración del suelo/compost:

Para evaluar la fitotoxicidad del compost o suelo, se debe preparar un extracto acuoso (llamado elutriado) el mismo es un proceso donde las partículas más pequeñas del sustrato se separan de las más grandes y se trasladan al líquido que se utiliza, de esta manera se obtiene un líquido con las propiedades del sustrato, dicho líquido es el que se va a utilizar para realizar los bioensayos. A continuación se detallan los pasos para su preparación:

- Se pesan 5 g de compost o sustrato y se colocan en un recipiente limpio y seco.
- Medir 20 mL de agua potable y añadirla al recipiente que contiene los 5 g de compost o sustrato.
- Agitar la mezcla por 30 minutos.
- Luego de transcurrido el tiempo, filtrar la mezcla utilizando el papel de filtro de café tal como se observa en la *imagen 2*, y depositarlo en otro recipiente limpio y seco.

- Reservar el líquido obtenido (elutriado) como se observa en la imagen 3, para su posterior uso.



Imagen 2: Se observa el elutriado mientras se está filtrando con el filtro de café.



Imagen 3: En esta imagen se ve el elutriado listo.

3- Preparación del ensayo:

A continuación se detallan los pasos para la preparación del ensayo

- Disolver 25 mL de hipoclorito en 500 mL de agua potable para obtener una solución para utilizar luego.

- Sumergir las semillas en la solución obtenida anteriormente por 30 segundos y agitar suavemente para lavarlas.
- Enjuagar bien las semillas con agua potable para quitar residuos del desinfectante.
- Tomar uno de los recipientes con tapa y colocar en su interior papel de filtro de café, cubriendo prácticamente toda la base solo deben quedar algunos milímetros entre el borde y el papel.
- Ubicar 5 semillas de *Lactuca sativa* distribuidas por el recipiente encima del papel filtro, dejando espacio entre ellas para evitar contacto.
- Humedecer el papel de filtro con las semillas con el elutriado obtenido previamente, hasta empapar toda la base (aprox 2-4 mL, dependiendo del recipiente utilizado).
- Tapar el recipiente y con marcador permanente escribir la fecha y los datos de la muestra (de donde es el compost por ejemplo).
- Colocar el recipiente en una bolsa hermética y guardarlo en un lugar oscuro y a temperatura ambiente, idealmente que oscile entre 20-25 °C.

Se aconseja hacer réplicas de cada muestra, eso significa que se recomienda hacer más de un recipiente con semillas y elutriado por muestra de sustrato o compost, todos en iguales condiciones (lo ideal es hacer 2 o 3, cuanto mayor cantidad de semillas expuestas se tengan aumenta la confiabilidad del ensayo). En la imagen 4 se puede apreciar un breve esquema del bioensayo.

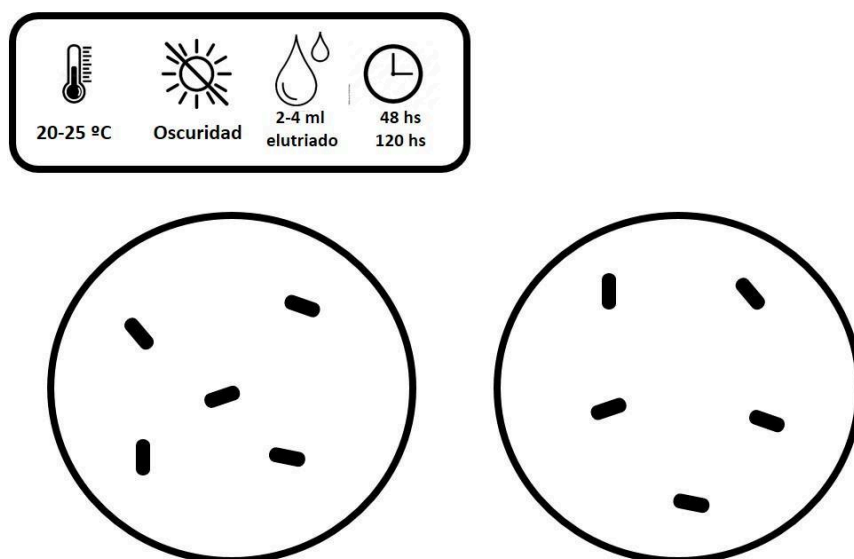


Imagen 4: Se presenta como estructurar el bioensayo, como disponer las semillas separadas y los factores a tener en cuenta.

4- Evaluación del bioensayo:

La evaluación del bioensayo consiste en observar y registrar la germinación de las semillas y el desarrollo de las raíces, a continuación se detallan los pasos a seguir en la toma de datos.

- A las 48 horas de transcurrido el ensayo abrir el recipiente cuidadosamente.
- Observar si hubo germinación en las semillas.
- Registrar en un cuaderno la cantidad de semillas germinadas y cualquier información relevante como color, forma, presencia de hongos.
- Cerrar el recipiente y volver a dejarlo en las mismas condiciones que estaba.
- A las 120 horas (5 días) desde el inicio del bioensayo abrir nuevamente el frasco, en la *imagen 5* se observa el resultado de un bioensayo a modo de ejemplo.
- Observar y medir el largo de la radícula (en la *imagen 6* se especifica cual es la radícula) de cada semilla germinada utilizando el calibre.
- Registrar todos los datos de largo radicular en un cuaderno.



Imagen 5: Semillas de *Lactuca sativa* en bioensayo luego de transcurridas 120 horas expuestas únicamente a agua potable.

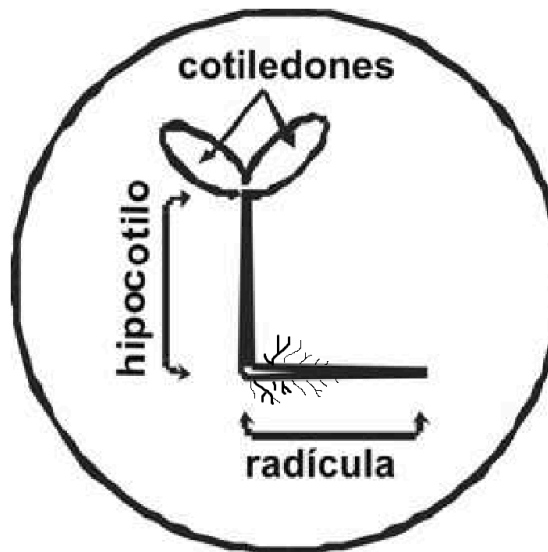


Imagen 6: Se observa una semilla germinada donde se muestra como se llama cada una de las partes de la misma. Fuente: Imagen adaptada de Sobrero & Ronco (2004).

5-Interpretación de los datos:

Una vez obtenidos los datos del bioensayo se deben considerar una serie de criterios para poder evaluar la posible fitotoxicidad del sustrato/compost.

- El sustrato/compost se considera de buena calidad si el 90% o más de las semillas germinaron. Para calcular este porcentaje, se suman el total de semillas germinadas y se divide por el total de semillas expuestas en el bioensayo. Por ejemplo, si se expusieron 10 semillas y germinaron 9, sería $9/10$, obteniendo un resultado de 0,9 que equivale al 90%.
- Las radículas deben observarse sanas, sin necrosis. La presencia de zonas negras, secas o con aspecto quemado son indicativos de necrosis radicular, y esto es un indicativo de posible toxicidad en el compost o sustrato estudiado.
- En ensayos con agua destilada como tratamiento de control, el promedio de crecimiento radicular fue de 2,5 cm. Este valor puede usarse como referencia para completar los resultados obtenidos. Si el crecimiento radicular obtenido en el bioensayo es considerablemente menor a ese

valor, podría indicar la presencia de compuestos fitotóxicos en el compost o sustrato analizado.

6-Observaciones y recomendaciones finales:

- Es importante mantener una buena higiene en todo el procedimiento para evitar contaminaciones externas que puedan alterar el resultado. Los recipientes que se utilizan y las superficies donde se trabaja deben estar limpios, también las manos y cualquier instrumento que esté en contacto con los elementos del bioensayo.
- Las condiciones ambientales durante la incubación deben ser lo más estables posibles. Manteniendo la temperatura entre 20 y 25 °C y oscuridad permanente.
- Es importante realizar como mínimo 2 o 3 réplicas de la misma muestra. Esto permite identificar posibles variaciones y da mayor certeza de los resultados.
- Se sugiere realizar un control negativo, el mismo consiste en seguir tal cual los pasos para realizar el bioensayo, pero en vez de colocar el elutriado se coloca agua potable sin contacto con el sustrato o compost. Esto se hace para evaluar cómo se comportan las semillas en condiciones óptimas y sirve como referencia para comparar el largo radicular y el porcentaje de germinación con las expuestas al sustrato o compost. O sea, que si las semillas expuestas al elutriado tienen un porcentaje de germinación o crecimiento radicular notablemente menor que las del control negativo, podría indicar la presencia de sustancias fitotóxicas.
- Este protocolo es una herramienta de evaluación rápida, práctica y accesible, pero tiene sus limitaciones. No reemplaza un análisis químico de laboratorio, está pensado para arrojar una primera aproximación sobre la calidad del compost o suelo.

El protocolo diseñado busca ofrecer una herramienta clara y accesible para para la evaluación del compost mediante bioensayo con *Lactuca sativa*. Con el fin de complementar la descripción textual, se elaboró un esquema visual en formato folleto, que resume de manera simplificada los pasos principales del

procedimiento, facilitando su comprensión y posible aplicación práctica. Dicho esquema se puede observar en la figura 8.

GUIA PARA EVALUAR COMPOST Y SUELOS CON SEMILLAS DE LECHUGA

LO QUE VAS A NECESITAR:



PASO A PASO

REALIZAR EL EXTRACTO

- Mezclar 2 cucharadas soperas colmadas del sustrato a analizar en medio vaso de agua.
- Agitar activamente hasta homogeneizarlo.
- Filtrar el agua con el papel de filtro de café.



PREPARAR LA PRUEBA

- Colocar papel de filtro en la base del recipiente (pueden ser tupperes o recipientes reciclados de vidrio de mermelada por ejemplo).
- Agregar 5 semillas de lechuga previamente lavadas con una mezcla de agua e hipoclorito. (En medio vaso de agua agregar una cucharadita de té de hipoclorito).
- Agregar una cucharada sopera del agua filtrada sobre el el papel de filtro y semillas.



INCUBAR

- Tapar el recipiente y guardarlo en una bolsa tipo ziploc.
- Almacenar en la oscuridad a temperatura ambiente.
- A los 2 días observar si hubo germinación y volver a guardar.
- Esperar hasta que hayan pasado 5 días desde el inicio del test.



OBSERVAR Y MEDIR

- Contar cuantas semillas germinaron.
- Medir la radícula de cada semilla con regla o calibre.



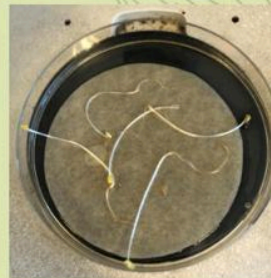
¿QUE RESULTADOS OBTUVISTE?



- Buena germinación y buen crecimiento = compost apto



- Radículas blancas y largas = compost apto



- Radículas cortas, oscuras o quemadas= Posible efecto de fitotoxicidad



ESTE ENSAYO ES SOLO UNA PRIMERA APROXIMACIÓN: ANTES DE HACERLO CON TU COMPOST, REALIZÁ UNA PRUEBA CON AGUA PARA ASEGURARTE DE QUE LAS SEMILLAS GERMINAN CORRECTAMENTE Y EL ENSAYO FUNCIONA BIEN. SI EN ESA PRUEBA LAS SEMILLAS GERMINAN NORMALMENTE, PERO EN EL ENSAYO CON TU COMPOST NO LO HACEN O NO HAY CRECIMIENTO DE LA RADÍCULA, ES PROBABLE QUE EXISTA ALGUNA SUSTANCIA CONTAMINANTE O EFECTO FITOTÓXICO EN EL SUSTRATO ANALIZADO.

Figura 8: Esquema simplificado tipo folleto que resume los pasos del bioensayo de fitotoxicidad con *Lactuca sativa*.

Anexo 7 - Entrevista a Alejandra Kröger

1- ¿Hace cuánto trabajas con bioensayos de fitotoxicidad y en qué casos los recomiendas?

Trabajo desde hace cinco años específicamente en bioensayos de fitotoxicidad. Estos ensayos son altamente recomendados para clasificar el nivel de toxicidad de una muestra y, en base a los resultados obtenidos, definir su disposición final, ya sea en el caso de lixiviados, efluentes o suelos.

2- ¿Qué ventajas tienen estos ensayos frente a otros métodos de análisis de suelos o compost?

En muchos casos, al analizar una muestra, no se conoce su composición química exacta ni su origen. Por ello, los bioensayos resultan herramientas fundamentales, ya que integran los efectos combinados de todos los compuestos presentes, incluyendo posibles interacciones de sinergia o antagonista. Además, permiten detectar tanto efectos letales como subletales, lo que brinda una visión más completa del riesgo biológico. Otra ventaja clave es que se trata de ensayos relativamente cortos, de bajo costo y que no requieren equipamiento sofisticado.

3- ¿Cuáles son los aspectos más importantes a tener en cuenta a la hora de realizar un bioensayo confiable?

Para garantizar la confiabilidad y reproducibilidad de los bioensayos, es fundamental seguir protocolos estandarizados. Esto implica controlar las condiciones experimentales, como temperatura, fotoperiodo, humedad y calidad de las semillas. También es muy importante que el control negativo cumpla con los criterios de aceptación establecidos. Por ejemplo, en el caso de *Lactuca sativa*, se requiere que el control negativo tenga un porcentaje de germinación $> 80\%$ y que el coeficiente de variación (CV) de la elongación de la radícula sea $< 30\%$.

4- ¿Qué señales se deben observar para detectar fitotoxicidad en radículas y semillas?

Durante el desarrollo del bioensayo, se deben observar indicadores claros de fitotoxicidad, como el porcentaje de inhibición de la germinación y del crecimiento radicular, así como alteraciones en la morfología de la radícula. Estas pueden incluir engrosamientos, curvaturas anormales o cambios en la coloración, todos los cuales reflejan efectos negativos del agente en estudio.

5- ¿A partir de qué nivel de inhibición considera que un compost no es seguro para utilizar?

La seguridad de un compost, va a depender del uso que se le quiera dar. Si se utiliza para una huerta para producir alimentos se busca que el compost no tenga niveles de toxicidad o muy bajos. Si se utiliza para un jardín, canchas, o en cualquier espacio recreativo se toleran niveles moderados de inhibición, ya que el compost actúa más como mejorador del suelo. Si se va a usar como relleno o cobertura en terrenos degradados, se aceptan niveles más altos de toxicidad, ya que no está destinado directamente al crecimiento de plantas.

6- ¿Cuáles son las principales limitaciones o problemas de los bioensayos de fitotoxicidad?

En mi opinión la primera dificultad que nos enfrentamos a la hora de realizar bioensayos de fitotoxicidad sobre todo en *Lactuca sativa* es la variabilidad que presentan las semillas. Por ese motivo sugiero que antes de empezar con cualquier ensayo se realicen pruebas con las mismas.

7- ¿Se utilizan de forma regular en proyectos de monitoreo ambiental en Uruguay?

Si en Uruguay se realizan de forma regular monitoreos ambientales con bioensayos. Sin embargo, son pocas las instituciones que los aplican de forma frecuente como parte de sus programas de monitoreo. Esto se debe, a que los bioensayos no siempre están incorporados de manera obligatoria en la normativa ambiental, y requieren recursos técnicos, personal capacitado para garantizar resultados confiables.