



Universidad Autónoma
de Entre Ríos
Facultad de Ciencia y Tecnología
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

TRABAJO FINAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO
EN BIOLOGÍA

Efectos del mercurio en agua sobre la germinación y
desarrollo de plántulas en dos genotipos de arroz
(*Oryza sativa* L.).

TESISTA

Prof. Jonathan Jesús Medrano
DNI: 33.033.808

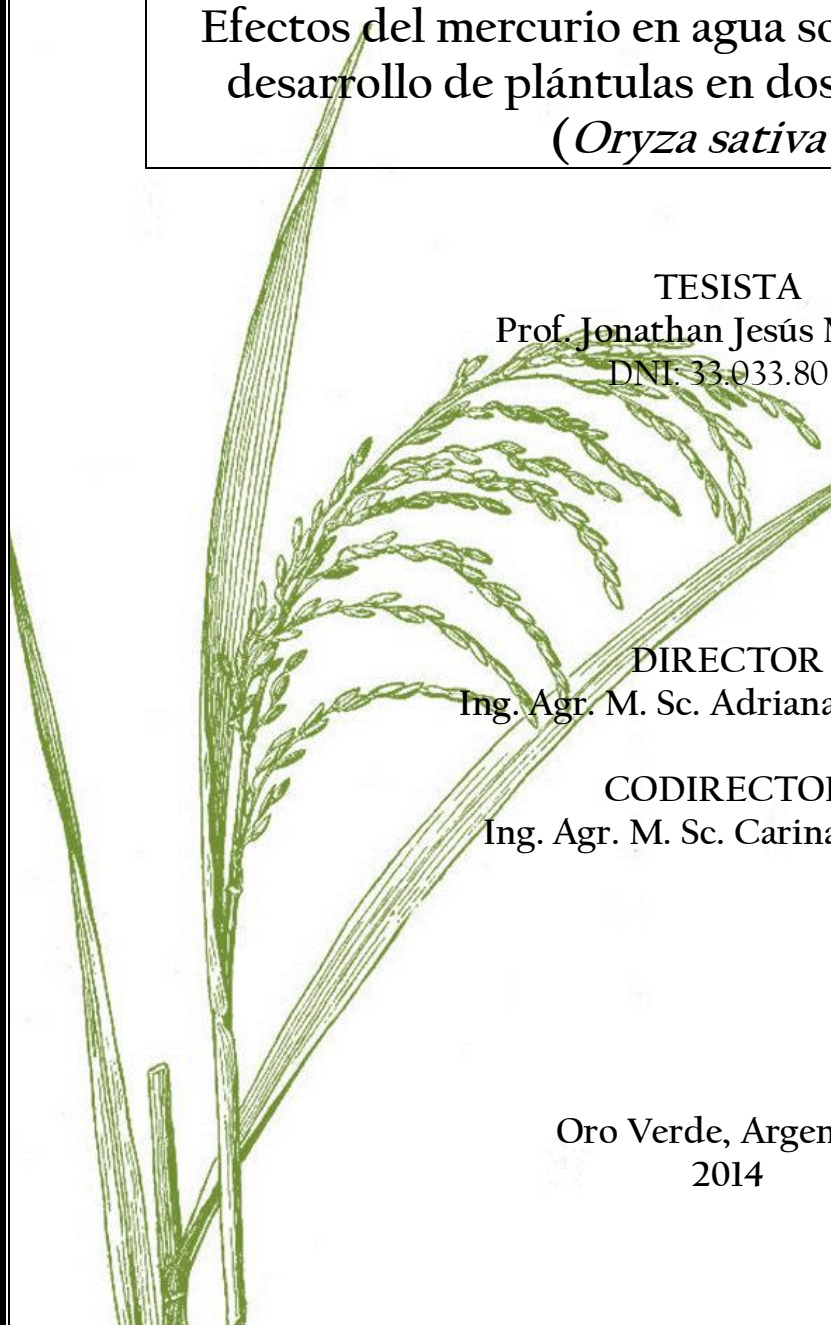
DIRECTOR

Ing. Agr. M. Sc. Adriana M. Bretón

CODIRECTOR

Ing. Agr. M. Sc. Carina Cáceres

Oro Verde, Argentina
2014



TRIBUNAL EXAMINADOR

Biol. MSc. María Cristina Manjón

Ing. Agr. Fernando J. Arbitelli

Lic. Dr. Diego Brandoni



—Te juzgarás a ti mismo —le respondió el rey—
Es lo más difícil. Es mucho más difícil juzgarse a sí mismo que a los demás.
Si logras juzgarte bien a ti mismo eres un verdadero sabio.

(El Principito, Antoine de Saint-Exupéry)



AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Agr. MSc. Adriana Bretón, mi directora, principal formadora y, en algunos casos, mi segunda mamá. Adriana, gracias por confiar y apostar tu tiempo y esfuerzo a este trabajo, por todo tu apoyo y por la admirable dedicación que le pones a todo. ¡Gracias! Este logro también es tuyo.

A la Ing. Agr. MSc. Carina Cáceres, mi codirectora. Gracias por el apoyo, los consejos, correcciones y el empuje a terminar esta tesis.

A mi familia. Que siempre está ahí de una u otra forma. Porque aunque crezca se que siempre puedo volver a mis raíces.

A la Prof. Cristina Gettig por el gran apoyo a la hora de tomar y cargar los datos.

Al Dr. Víctor H. Lallana responsable del Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (FCA), de la Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER) por permitirme utilizar las instalaciones de dicho laboratorio.

A la MSc. Cristina Manjón y la Prof. Mercedes Rodríguez. Quienes me abrieron las puertas de su cátedra Ecología General para realizar mi primer Adscripción y me ayudaron a crecer alentándome en cada paso.

A mis amigos. A todos gracias por sus palabras de aliento y apoyo en cada etapa. Algunas están aquí conmigo y otros en mis recuerdos, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí y por todo lo que me han brindado.

A los miembros del Jurado de esta tesis por sus valorables sugerencias que contribuyeron al mejoramiento y ordenamiento del presente trabajo.

Al cuerpo directivo de la Facultad de Ciencia y Tecnología y de la Licenciatura en Biología por haberme facilitado el ámbito para el desarrollo de la presente investigación.



ÍNDICE

Resumen.....	6
Introducción.....	9
Hipótesis.....	12
Objetivos.....	12
Marco Conceptual	14
- El Mercurio.....	15
+ Antecedentes históricos.....	15
+ Características físico-químicas.....	16
+ Usos y aplicaciones del mercurio.....	17
+ El ciclo del mercurio.....	20
+ El mercurio y las normas nacionales.....	25
+ El mercurio y las plantas.....	28
- El arroz.....	30
+ Caracterización de la especie.....	30
+ El arroz en la región.....	33
- El arroz y el mercurio.....	34
Materiales y Métodos	35
- Material biológico.....	36
- Especie química y medio de cultivo.....	36
- Análisis de muestras y datos.....	38
Resultados.....	42
Discusión.....	50
Conclusiones.....	54
Bibliografía.....	56
Anexo.....	66



RESUMEN



RESUMEN

La información sobre los efectos de metales pesados, como el Mercurio (Hg), en el agua disponible para las plantas en las etapas de germinación y desarrollo de plántulas, es escasa. Dicha información resulta fundamental cuando estos estudios se refieren a plantas que se cultivan a gran escala con el propósito fundamental de proveer alimentos a la población humana. Tal es el caso del arroz (*Oryza sativa* L.), cereal que representa, conjuntamente con el maíz (*Zea mays* L.) y el trigo (*Triticum aestivum* L.), fuentes fundamentales de alimentos a nivel mundial. Para la provincia de Entre Ríos no se han encontrado trabajos que se aboquen al estudio de los posibles efectos de la contaminación con Hg, sin embargo se conoce que sus niveles van en aumento debido al incremento del empleo de este metal a nivel industrial, como así también a su presencia natural en el suelo. El arroz es un cultivo que requiere de períodos de inundación durante su cultivo, lo que resulta en una mayor exposición a la posible presencia de sales mercuriales, tal como se sabe ocurre en el caso de la presencia de Arsénico (otro de los metales pesados que se encuentran en los suelos de nuestra provincia). Los posibles efectos sobre la germinación y el desarrollo de las plántulas de arroz, que podría ocasionar el Hg, implicaría problemas de diversa índole. Productivos en un comienzo, hasta llegar a ocasionar intoxicaciones en quienes lo consumen, según la forma en la cual es metabolizado y bioacumulado en la planta. El presente estudio plantea un primer acercamiento a la evaluación de los efectos del Hg en la germinación y desarrollo de plántulas correspondientes a dos genotipos comerciales de arroz de amplio empleo en nuestra provincia, Cambá INTA Proarroz y Gurí INTA CL, considerando que podrían detectarse comportamientos diferenciales según el genotipo. Para la realización de la experiencia, se sometieron las semillas de arroz a diferentes concentraciones de Hg en el agua (0; 0,5; 1; 5 y 10 mg/L) durante 7 días, en condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo. Posteriormente se midieron las siguientes variables: porcentaje de germinación, peso de plántula, largo de vástago, largo de raíz y número de raíces. Por otra parte se calcularon los índices de Diferencia del control, Fitotoxicidad y Tolerancia, todos ellos estimadores de fitotoxicidad de empleo común para los estudios de presencia de metales pesados en el ambiente. Los datos fueron analizados estadísticamente empleando el paquete estadístico InfoStat, Se realizaron análisis por variable y multivariados que permitieron determinar diferencias entre tratamientos y entre genotipos. Si bien se observaron diferencias significativas entre tratamientos y



genotipos para todas las variables, el largo y número de raíces fueron las variables que mostraron mayores respuestas. Las dosis de 5 mg Hg/l y superiores, fueron las que expresaron las mayores diferencias. El genotipo Cambá resultó más sensible a la presencia de Hg en el agua que el genotipo Gurí.



INTRODUCCIÓN



INTRODUCCIÓN

Los metales constituyen componentes comunes de la litosfera y forman parte de numerosos ciclos biológicos y geológicos naturales. No obstante, se ha demostrado que la creciente industrialización y actividades agrícolas suelen generar importantes modificaciones en estos ciclos (Gutiérrez y Gagnetten, 2001). Los procesos de contaminación que afectan a la población mundial están directamente vinculados con el crecimiento demográfico de las distintas sociedades. Así, el avance industrial y la diversificación de actividades productivas se traducen en efectos sobre los ecosistemas, ocasionando muchas veces daños irreversibles. Dentro de este panorama ambiental los temas relacionados con el abastecimiento y calidad de alimentos se hacen preocupantes y necesarios de atención.

Siendo el arroz (*Oryza sativa* L.), conjuntamente con el trigo (*Triticum aestivum* L.) y el maíz (*Zea mays* L.), los cultivos que proveen la mayor parte del alimento mundial (Ramos Gamiño, 2013), se considera importante el estudio de los efectos que podría ocasionar, sobre el desarrollo de este cultivo, el incremento de las concentraciones de metales pesados como el mercurio (Hg), en el suelo y el agua.

La contaminación por metales pesados es una problemática actual y preocupante en muchas partes del mundo. Por lo general ocurre como resultado de acciones naturales y antropogénicas y ha aumentado considerablemente en los últimos años (Jana, 1988; Kiram y Sahim, 2006; Kumar Rai y Kumar, 2010). Factores, tales como actividades mineras e industriales, las fuentes no puntuales de emisión (especialmente los automóviles), el uso creciente de materiales metálicos enriquecidos, de fertilizantes químicos, abonos agrícolas y los lodos de aguas residuales, pueden contribuir a esta contaminación (Kumar Rai y Kumar, 2010).

El término “metal pesado”, refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una relativa alta densidad y sea tóxico o venenoso en concentraciones incluso muy bajas (Prieto-Méndez *et al.*, 2009). Según Fortuño Saavedra *et al.* (2006), se denominan metales pesados a aquellos elementos químicos que poseen un peso atómico comprendido entre 63,55 (Cu) y 200,59 (Hg), y que presentan un peso específico



superior a 4 g cm^{-3} . Entre ellos se pueden citar el plomo (Pb), el cadmio (Cd), el cromo (Cr), el zinc (Zn), el cobre (Cu), la plata (Ag) y el mercurio (Hg), que constituyen un grupo de gran importancia, ya que algunos de ellos son esenciales para las células, pero en altas concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos (Spain *et al.*, 2003; Schinitman, 2004; Navarro *et al.*, 2006).

Uno de los principales problemas del Hg es que al ser incorporado a los organismos sufre un proceso de bioacumulación, proceso por el cual los organismos pueden tomar más rápidamente el contaminante que eliminarlo. También se biomagnifica, lo que significa que la concentración de este contaminante se incrementa al pasar a un nivel trófico superior en la cadena trófica (Molina *et al.*, 2010)

La información sobre la acumulación de Hg en los cultivos de alimentos es escasa. Recientemente se ha informado que en algunas zonas contaminadas, la transferencia a la cadena alimentaria terrestre podría ser significativa, así como la acumulación de Hg en los granos de arroz (Meng *et al.*, 2012).

Si bien el Hg forma parte de los llamados contaminantes tradicionales (Luoma, 1999), muchos compuestos actuales como medicamentos o productos de uso agrícola aún utilizan este metal para la elaboración de sus formulados, pasando a formar parte de lo que se viene llamando *contaminantes emergentes* (Gil *et al.*, 2012).

Para la provincia de Entre Ríos no se han encontrado trabajos que se aboquen al estudio de los posibles efectos de la contaminación con Hg derivado de los procesos industriales, del uso de productos que poseen el metal en su formulación o de su incremento en el suelo y agua a partir de procesos naturales. Se considera que el presente trabajo contribuirá a generar información de interés sobre una temática desatendida hasta el momento, en relación a un cultivo de importancia regional y mundial, como lo es el arroz.



HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



HIPÓTESIS

🌱 La presencia de diferentes concentraciones de mercurio en el agua disponible para el desarrollo del arroz (*Oryza sativa* L.) incide en la germinación de las semillas y produce variaciones en el crecimiento de las plántulas.

OBJETIVOS

🌱 Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de Hg en el agua sobre la germinación de las semillas de dos genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.).

🌱 Determinar el efecto de diferentes concentraciones de Hg en agua sobre el crecimiento temprano de plántulas de dos genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.).

🌱 Determinar si existen respuestas diferenciales entre genotipos, ante la presencia de diferentes concentraciones de Hg en el agua.



MARCO CONCEPTUAL



MARCO CONCEPTUAL

EL MERCURIO

Antecedentes históricos

El mercurio (Hg) ha sido conocido y utilizado por el hombre por más de 3.500 años, desde la época de los trabajos de minería de oro realizados por los romanos (Meech *et al.*, 1998). Por más de veinte siglos ha sido conocido y empleado por diversas culturas, debido a sus especiales características. Sin embargo, su uso se expandió significativamente a partir de la revolución industrial (Cabañero Ortiz, 2005).

El conocimiento y uso, tanto del Hg como del cinabrio (HgS), se remonta a la más lejana antigüedad. En el siglo IV a.c., el Hg ya era utilizado por Aristóteles en ceremonias religiosas debido a que era un metal apreciado con suma reverencia. No obstante, el mineral cinabrio se había utilizado durante el paleolítico superior (33000 – 9000 a.c.) como pigmento rojo bermellón en las pinturas rupestres de Altamira y Lascaux. En Egipto se encontró la primera muestra de Hg líquido en una tumba que data del 1600 a.c., y tanto griegos como romanos utilizaron Hg para la preparación de cosméticos, medicamentos y para amalgamación. Además, en esta época, el Hg era también conocido en China e India. La utilización de este metal continuó a lo largo de los siglos y durante la Edad Media tuvo una singular trascendencia, aunque la verdadera expansión de la industria del Hg no se produjo hasta 1900 (Jiménez Moreno, 2009).

Su nombre en castellano procede del dios Mercurio, aunque también existe la creencia de que esta denominación proviene de las estrechas relaciones que en la antigüedad había entre la Metalurgia y la Astrología, lo que determinó que a cada metal se le asignara un cuerpo celeste. Así, al Hg se le asignó correspondencia con el planeta de su mismo nombre. Estas relaciones también se manifestaron en el florecimiento de la alquimia durante la edad Media. Diversos fueron los símbolos asignados al Hg por los alquimistas (Fig. 1) (Jiménez Moreno, 2009).





Figura 1. Símbolos alquímicos más representativos del mercurio

El nombre que se le da al Hg en la tabla de los elementos: Hg, deriva de la palabra griega *hydrargyros*, (“agua plateada”). Los romanos lo denominaron *Argentum Vivum* (“Plata viva”) (PNRQ, 2007). Los Incas ya conocían el Hg (en forma de cinabrio), al cual lo denominaban “ilampí” y lo empleaban como pintura. Prueba de esto es que, en la época de la colonia los españoles encontraron pequeñas bocaminas de azogue (denominación colonial del Hg) entre Huarina y el sur de Achacaqui (altiplano boliviano, La Paz), como también cerámicas incaicas pintadas con bermellón (cinabrio) (Molina *et al.*, 2010).

El metal fue descrito por primera vez como elemento por el químico francés Antoine Laurent Lavoisier, alrededor del año 1789, en sus experimentos sobre la composición del aire (Yarto *et al.*, 2004; PNRQ, 2007).

Características físico-químicas

El Hg es un metal que existe naturalmente en el medio ambiente en una variedad de formas (Olivero Verbel *et al.*, 2002; Freitas de Jesus *et al.*, 2010). Todas sus formas poseen una multitud de aplicaciones en la industria y en la agricultura, con propiedades tóxicas intrínsecas. Esto supone que cada especie química del Hg debería ser estudiada por separado para valorar su riesgo ambiental y toxicológico (Olivero Verbel *et al.*, 2002).

Este elemento ocupa la zona de los metales en la Tabla Periódica de los Elementos (Fig. 2), con número atómico 80 y peso atómico 200,59. Junto con el zinc y el cadmio forman parte del grupo IIb (elementos de transición), pero tiene un comportamiento tan diferente que no puede considerarse como análogo aunque pertenezca a su mismo grupo (Jiménez Gómez, 2005).



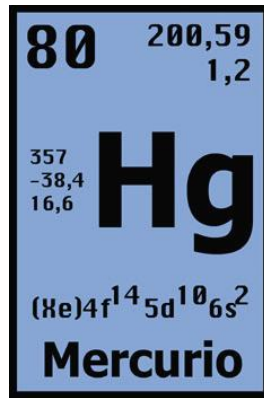


Figura 2. El mercurio en la Tabla Periódica

El Hg elemental es un elemento de color plateado, inodoro, pesado; 13,5 veces más denso que el agua. Tiene una muy baja presión de vapor, punto de fusión de 38,87°C (Freitas de Jesus *et al.*, 2010), un punto de ebullición de 356,72 °C y emite vapores a temperatura ambiente. Es buen conductor de la electricidad y su coeficiente de dilatación es prácticamente constante. Es el único metal que se encuentra en estado líquido a temperatura ambiente (Boening, 2000; PNRQ, 2007).

Debido a que el Hg elemental tiene una alta tensión superficial, forma gotas pequeñas, compactas y esféricas cuando es liberado en el medio ambiente. Aunque las gotas mismas son estables, su alta presión de vapor, comparado con otros metales, hace que se evapore fácilmente (Weinberg, 2010).

El Hg no se ha reportado como esencial para ningún proceso biológico, pero se acumula en la mayoría de seres vivos. En la naturaleza puede estar unido al azufre formando sulfuros de Hg (cinabrio, de color rojo), y también se le haya directamente unido a minerales de zinc, cobre, oro y plomo (Ramírez, 2008).

Usos y aplicaciones del mercurio

A pesar de que el Hg y sus compuestos no tienen ninguna función metabólica conocida, que su presencia en los organismos vivos se considera indeseable y potencialmente peligrosa, no ocurre lo mismo con sus aplicaciones que han sido y son variadas y útiles (Jiménez Moreno, 2009).

Este elemento se utiliza (aunque cada vez menos) para la fabricación de barómetros, manómetros, termómetros y en la amalgamación (Babor e Ibarz Aznárez,



1968; PNRQ, 2007; Freitas de Jesus *et al.*, 2010), es empleado también en muchos productos farmacéuticos como el Merthiolate (Geier *et al.*, 2007), y como antiséptico (Cloruro mercuríco) en soluciones diluidas (Babor e Ibarz Aznáres, 1968).

Se emplea también en la fabricación de lámparas de vapor de Hg, como fuente de luz ultravioleta o esterilizador de agua, y para la iluminación pública (PNRQ, 2007). Los compuestos orgánicos de Hg se utilizan en la industria de pulpa de papel, también como conservadores y en algunos países como fungicidas (ATSDR, 1999; Ramírez *et al.*, 2004; Patnaik y Mohanty, 2013).

El Hg metálico se destina también a la construcción de interruptores eléctricos y como fluido de trabajo en bombas de vacío. Se emplea en la fabricación de espejos, medidores, tacómetros, termostatos, lentes de telescopios, lámparas de difusión y ultravioleta, cátodos electrolíticos, turbinas de vapor y lámparas de bajo consumo (de uso muy difundido), en el curtido y tratamiento flexibilizante de pieles y fabricación de fieltros; en la producción de ácido acético y acetaldehído a partir de acetileno; en la taxidermia; en la fotografía y el fotograbado; en la fabricación de algunas pinturas y pigmentos; en la electrodeposición del oro, la plata, el bronce y el estaño; en la fabricación de seda artificial, en la industria farmacéutica y en la práctica odontológica (PNRQ, 2007). También es utilizado para el control de infecciones fúngicas en semillas y en plantas bulbosas (Olivero Verbel *et al.*, 2002).

Uno de los usos más frecuentes del Hg es como cátodo en la electrólisis de la solución del cloruro de sodio para producir soda cáustica y cloro gaseoso. Cantidades del orden de 10 toneladas del líquido metálico son usadas en cada planta de procesamiento (Olivero Verbel *et al.*, 2002).

Los alcances farmacológicos del Hg comprendieron desde antiguo un amplio espectro de oportunidades de empleo: se lo utilizó como afrodisíaco y recuperador de la vitalidad sexual; los árabes usaban el Hg para tratar enfermedades de la piel; los romanos para el tratamiento de ectoparásitos. Asimismo fue utilizado contra la sífilis (Azevedo, 2012), la fiebre amarilla, el tifus, como purgante, antihelmíntico, para tratar enfermedades de los ojos, de la sangre y del estómago (PNRQ, 2007).



La medicina moderna ha utilizado con fines terapéuticos compuestos con presencia de metales pesados como oro, plata, zinc, cobre y mercurio. Estos últimos fundamentalmente como diuréticos, antisépticos y fungicidas locales. La utilización de Hg en medicamentos de uso local para aliviar los síntomas de la dentición en niños, dio lugar a la aparición de cuadros neurológicos graves denominándoseles como “la enfermedad rosada”, prohibiéndose su empleo durante la década del '50 (PNRQ, 2007).

Hasta la actualidad se lo emplea en productos biológicos para humanos y en medicina veterinaria en las formas de thimerosal, acetato de fenilmercurio, nitrato de fenilmercurio, acetato de mercurio, nitrato de mercurio, merbromina y oxido amarillo de mercurio. Los productos para medicina humana incluyen formulaciones oftalmológicas, óticas, desinfectantes dérmicos, descongestivos nasales, antihemorroidales, antihistamínicos, corticoides, antivirales, antimicóticos y antibióticos, que se presentan en ungüentos, lociones, gotas y spray (PNRQ, 2007).

También actualmente, numerosos grupos étnicos lo utilizan con fines mágicos o religiosos: rociando objetos para dar buena suerte; en velas (magia blanca) o mezclándolo con productos líquidos para la limpieza (Ortega García *et al.*, 2003). La figura 3 muestra la distribución aproximada del uso del Hg, expresado en toneladas métricas / año, a nivel mundial, estimación realizada en el año 2005.

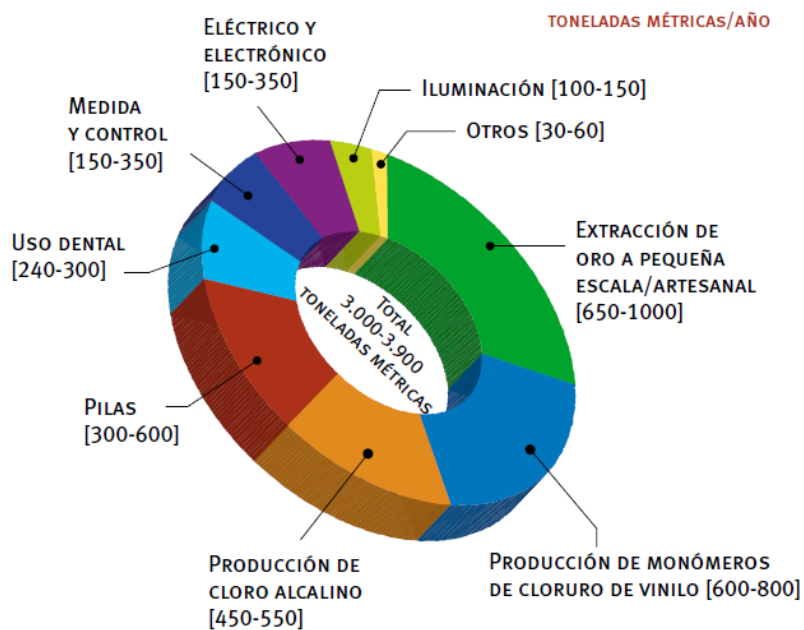


Figura 3. Los usos del mercurio a nivel global, datos del año 2005.
(Tomada de gacetilla informativa del Consejo Nórdico de Ministros, 2007)



El ciclo del Mercurio

El Hg es un elemento que se encuentra libre en la naturaleza, se origina a partir de procesos geológicos como la erosión, la desgasificación de la corteza terrestre, las emisiones volcánicas (Olivero Verbel *et al.*, 2014); o por acción antropogénica, debido fundamentalmente a las emisiones industriales.

Se encuentra diseminado en mares, suelos, en el agua de lluvia, las rocas y los minerales de Hg, aunque es más frecuente hallarlo formando compuestos o sales inorgánicas (PNUMA, 2002; Ascorra, 2006; PNRQ, 2007). La figura 4 representa algunas de las formas de emisión de Hg.



Figura 4. Tipos de emisiones de mercurio existentes.

(Tomada de Moreira de Almeida, 2011).



El Hg existe en el ambiente en varias especies o formas químicas: como Hg⁰ o Hg elemental (conocido en el argot popular como azogue); Hg monovalente: ión mercurioso o Hg¹⁺ (I); (Hg-Hg), Hg²⁺ divalente: ion mercúrico o Hg(II), y las formas orgánicas. Estas últimas son compuestos organometálicos en los cuales el Hg está unido mediante enlaces covalentes a uno o dos átomos de carbono para formar compuestos del tipo RHgX y RHgR', respectivamente. Donde R y R' son grupos orgánicos, siendo algunos de los compuestos más comunes las sales de metilmercurio (CH₃HgX), fenilmercurio (C₆H₅HgX), metoxietilmercurio (CH₃OC₂H₄HgX) y el dimetilmercurio (CH₃)₂Hg. En los ejemplos anteriores son incluidos compuestos donde el símbolo "X" puede representar al cloruro, bromuro, ioduro, nitrato o acetato. El enlace carbono-mercurio (Hg-C) de los compuestos organomercuriales, no es un enlace fuerte (cerca de 60 kJ/mol), pero en cambio es más estable frente al enlace mercurio-oxígeno (Hg-O). Esto permite explicar por qué los compuestos organometálicos de Hg son estables al oxígeno y al agua y por tanto persistentes en el ambiente (Olivero Verbel *et al.*, 2002; Yarto *et al.*, 2004). En la tabla 1 se muestran las estructuras químicas de las especies de Hg más comunes.

Los compuestos de Hg están muy distribuidos en los distintos estadios que completan su ciclo global. La concentración, transformación, movilidad y acumulación de Hg en un estadio dado, dependerá de numerosos factores tales como el pH, la temperatura, presencia de componentes orgánicos, así como de las actividades microbianas y antropogénicas (Cabañero Ortiz, 2005).

Tabla 1. Principales especies de mercurio.
(Tomada de Torres Escribano, 2011).

Mercurio inorgánico	Elemental Hg (0)	Hg ⁰
	Mercurioso Hg (I)	Hg ⁺¹
	Mecúrico Hg (II)	Hg ⁺²
	Sales inorgánicas de mercurio X: -OH ⁻ ; -CN ⁻ ; -Cl ⁻ ; -Br ⁻	HgX ₂ HgX ₃ ⁻ HgX ₄ ²⁻
Mercurio orgánico	Monometilmercurio (MeHg ⁺)	CH ₃ Hg ⁺
	Dimetilmercurio (Me ₂ Hg)	(CH ₃) ₂ Hg
	Etilmercurio (EtHg ⁺)	CH ₃ CH ₂ Hg ⁺
	Fenilmercurio (PhHg)	C ₆ H ₅ Hg ⁺



El ciclo del Hg se refiere a los múltiples y complejos intercambios entre la hidrósfera, atmósfera, biosfera, pedósfera y litosfera, sus diversos estados físicos (sólido, líquido o gas), y diferentes especies químicas (inorgánica, orgánica, reducida u oxidada), que controlan su origen y destino; la figura 5 esquematiza este ciclo (Resabala, 2008).

Se considera que dos ciclos están implicados en el transporte y distribución del Hg en el medio ambiente: uno de ellos de alcance mundial consiste en la circulación atmosférica de vapor de Hg elemental a partir de fuentes en tierra hacia los océanos; el segundo ciclo es de ámbito local y depende de la metilación del Hg inorgánico, principalmente proveniente de fuentes antropogénicas (Boening, 2000; Jiménez Gómez, 2005).

Según Gaona Martínez (2004), en cualquier punto de la tierra, la cantidad de Hg presente será función de:

- 🌿 el ciclo global natural
- 🌿 el ciclo global perturbado por la actividad humana
- 🌿 fuentes regionales de Hg
- 🌿 fuentes locales de Hg

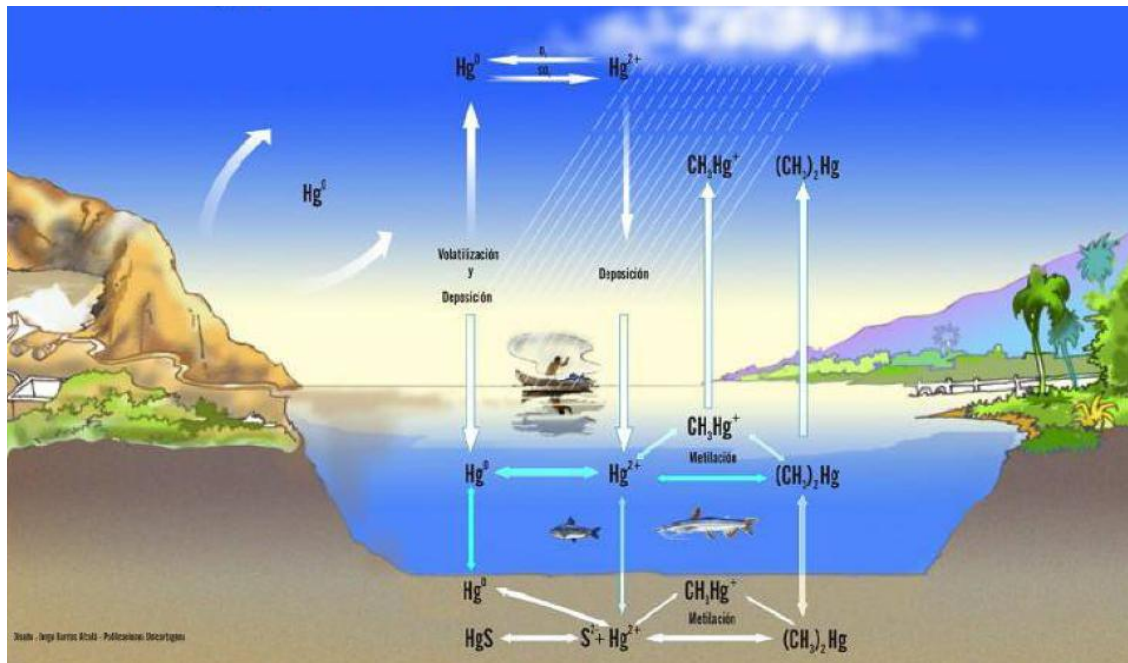


Figura 5. Ciclo natural del mercurio.



Uno de los aspectos de mayor importancia en el ciclo biogeoquímico del Hg es la volatilidad de este metal. En la atmósfera está ampliamente distribuido en forma de gas y partículas. Entre el 90-95% de este elemento es gaseoso, incluyendo vapor de mercurio (Hg^0), compuestos inorgánicos (cloruros y óxidos) y compuestos orgánicos (etilmercurio y metilmercurio) (Olivero Verbel *et al.*, 2002). En su ciclo global el viento puede transportar a grandes distancias el Hg antes de su depósito terrestre o acuático, que se produce principalmente por la lluvia y otros fenómenos meteorológicos (Ortega García *et al.*, 2003).

Este metal puede encontrarse en los sistemas naturales dentro de: la atmósfera, el medio acuoso y los sedimentos (Fortuño Saavedra *et al.*, 2006). La contaminación acuática con Hg, generada por el proceso de industrialización o procesos naturales, constituye uno de los problemas ambientales más críticos en la actualidad, debido a su alta toxicidad, persistencia y capacidad de bioacumulación y bioconcentración (también conocida como biomagnificación). Las actividades humanas son las responsables de entre el 35 y el 65% de la liberación de este metal (ATSDR, 1999). De forma global nuestro continente contribuye con el 3% de las emisiones antropogénicas mundiales (Fig. 6).

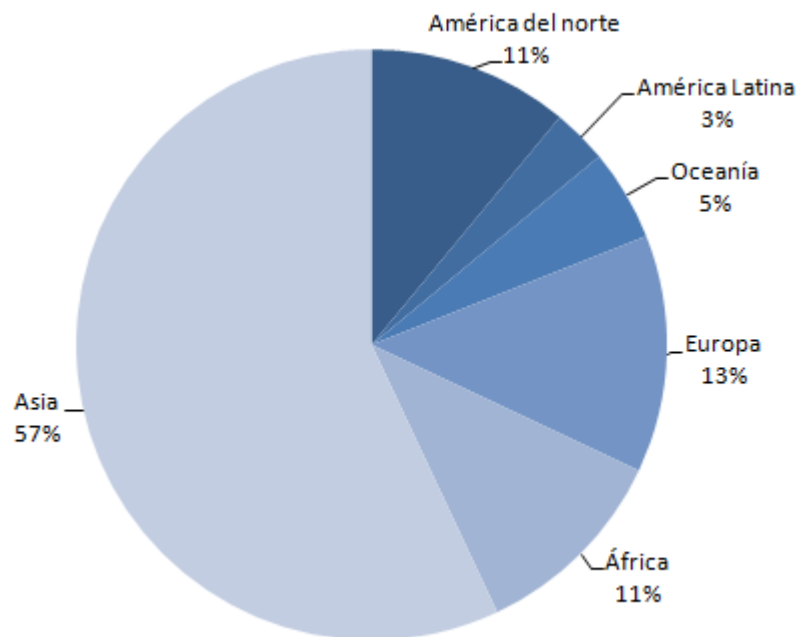


Figura 6. Emisiones globales antropogénicas de Hg.
(Modificada de Ortega García *et al.*, 2003).



En condiciones naturales, la concentración de Hg en tierra arable no contaminada es muy bajo (20-150 mg / kg). Sin embargo, la contaminación de Hg se ha convertido en un problema ambiental a escala global con el desarrollo de la industria y la agricultura moderna (Chong-qing *et al.*, 2013).

En la figura 7, se muestra un esquema del ciclo antropizado del Hg, donde se puede observar que la incorporación del mismo a las cadenas tróficas, por esta vía, es más variada que la observada en la figura 5. Puede entrar en un ciclo atmosférico, por los vertidos industriales atmosféricos o por la combustión de carbones, desde donde se introduce en las cadenas tróficas por el ciclo del agua, o bien se inhala directamente. También se incorpora en el ciclo del agua, mediante el vertido de residuos en ríos y mares, y a través de vertidos industriales o domésticos (alcantarillado). Además, el uso agrícola del Hg, lo incorpora como contaminante del suelo, desde donde se incorpora a las cadenas tróficas (Villarejo, 2004).

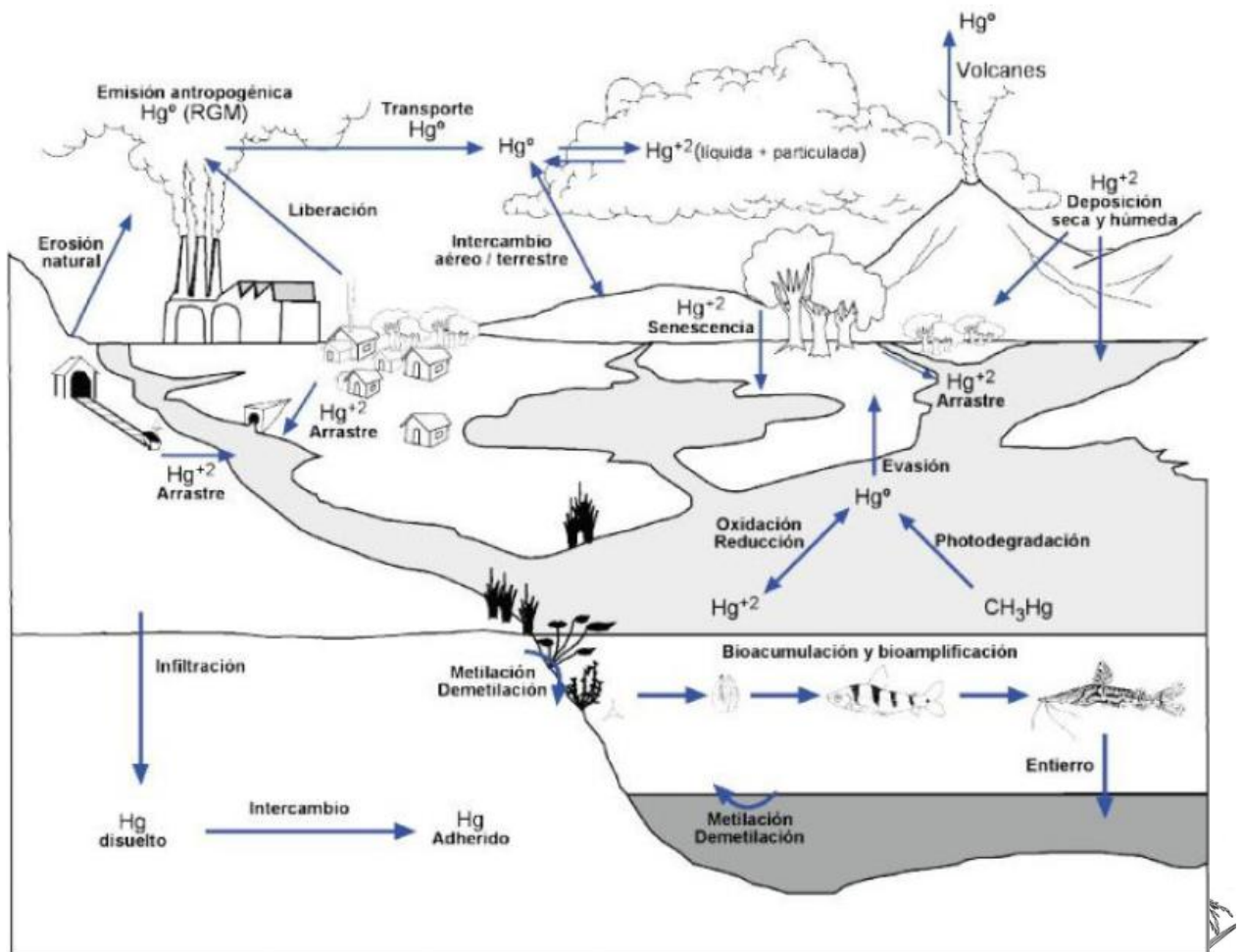



Figura 7. Ciclo antropizado del mercurio (Molina *et al.*, 2010).


La contaminación con Hg particularmente en países como Brasil, Colombia, Ecuador y Bolivia, es originada durante el proceso de extracción de oro, lo cual se realiza mezclando la roca triturada que contiene oro, con Hg metálico para formar una amalgama, que posteriormente es presionada para remover el exceso de Hg. Este proceso ocasiona el derramamiento directo de grandes cantidades de Hg en ríos y otros cuerpos de agua. Posteriormente la amalgama mercurio-oro es quemada, usualmente a campo abierto, dejando libre el oro y liberando Hg metálico, en forma de vapor, directamente a la atmósfera (Olivero Verbel *et al.*, 2002).

En Argentina, existen reportes de la presencia de Hg en ambientes acuáticos, aunque se desconoce la fuente de contaminación. Un caso fue descrito en lagos del noroeste de la Patagonia, donde se detectaron altos niveles de Hg en peces como percas y truchas. Los investigadores advirtieron que los valores hallados fueron significativamente altos considerando que no hay fuentes de contaminación directa de Hg en la región.


El mercurio y las normas nacionales


En materia de legislación sobre este metal, Argentina dispone de una vasta normativa, no obstante esto, muchas de ellas se encuentran sin aplicación o regulación. A continuación se presenta un listado adaptado de Santos Capra (2006):


 Ley 26.184 de Energía Eléctrica Portátil: prohíbe en todo el territorio de la nación la fabricación, ensamblado e importación de pilas y baterías primarias, con forma cilíndrica o de prisma, comunes de carbón cinc y alcalinas de manganeso, cuyo contenido de mercurio, cadmio y plomo sea superior al 0,0005 % en peso de Hg.

 Ley 24.051 de Residuos Peligrosos y su normativa complementaria: Argentina adhiere a las previsiones del Convenio de Basilea aprobado por Ley 23.922. Registro Nacional de Generadores y Operadores de Residuos Peligrosos; Manifiestos de Transporte; Certificados Ambientales.





 Ley 24.449 de Tránsito y Seguridad Vial: Decreto Reglamentario 779/1995; cuenta con un Anexo S que aprueba el “Reglamento General para el Transporte de Mercancías Peligrosas por Carretera”; posteriormente mediante la Resolución 195/1997 de la Secretaría de Transporte se regulan las “Normas Técnicas para el Transporte de Mercancías Peligrosas por Carretera”.

 Ley 19.587 de Higiene y Seguridad en el Trabajo. El Hg elemental y otras formas inorgánicas, compuestos alquílicos y arílicos, está regulado con Valores Aceptables que no pueden ser superados en el ambiente laboral. Esto consta en la “Tabla de Concentraciones Máximas Permisibles” del Anexo III correspondiente al artículo 61 del Decreto 351/1979; modificado por Resolución 295/2003 del Ministerio de Trabajo. La Superintendencia de Riesgos del Trabajo dictó la Resolución 839/2005 por la que se aprueba un “Plan de Acción del Programa de Promoción de la Investigación, Formación y Divulgación sobre Riesgos del Trabajo”, en su Anexo I refiere al empleo de Hg en hospitales como línea de trabajo prioritaria.


 Regulaciones del área de Agricultura:


- ✓ Resolución 750/2000 de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación que prohíbe el empleo del plaguicida Fenilacetato de mercurio.
- ✓ Disposición 80/1971 del ex Servicio Nacional de Sanidad Vegetal que prohíbe la aplicación en tabaco de cloruro de mercurio.


 Resolución Ministerio de Salud (MS) 139/2009. Mediante la cual el MS adopta la política de la Organización Mundial de la Salud (OMS), definiendo un plan de minimización de exposición y reemplazo del Hg en el sector salud, instruyendo a todos los hospitales y centros de salud del país para que a partir de los nuevos procedimientos de compra de insumos, esfigmomanómetros y termómetros clínicos se adquieran libres de Hg.


 Resolución MS 274/2010. Prohíbe la producción, importación, comercialización y cesión gratuita de esfigmomanómetros de columna de Hg para la evaluación de la tensión arterial al público en general, a la atención médica y veterinaria.



 Resolución MS 553/2009. Aprueba la participación del MS en el proyecto “Demostración y Promoción de las Mejores Técnicas y Prácticas para la reducción de desechos generados por la atención de la salud a fin de prevenir emisiones de dioxinas y Hg al medio ambiente”.

 Ley 18.284 Código Alimentario Argentino; Decreto reglamentario 2.126/1971 de Energía Eléctrica Portátil Convenio de Basilea: establecen las características físicas, químicas y microbiológicas que debe cumplir el agua potable, fijando para el Hg un contenido máximo de 0,001 mg/l (Cap. XII –Bebidas alcohólicas, Bebidas hídricas, Agua y Agua gasificada –Agua Potable Art.982).

 Resolución 314/92 Secretaría de Recursos Naturales y Ambiente Humano: modifica los valores de los Límites Transitoriamente Tolerados establecidos por la Resolución 79.179/1990 de la entonces Obras Sanitarias de la Nación “Anexo B”. Asigna al parámetro Hg como límite transitoriamente tolerado en el vertido a colectora cloacal, conducto pluvial y cursos de agua, el valor de 0,005 mg/l.

 Resolución 1/08 de la Autoridad de Cuenca Matanza Riachuelo (ACUMAR): aprueba los límites admisibles para descargas de efluentes líquidos en territorio ACUMAR, estableciendo para el Hg:

- ✓ Límite para descargar a colectora cloacal: $\leq 0,005$ mg/l.
- ✓ Límite para descargar a pluvial/cuerpo superficial: $\leq 0,005$ mg/l.
- ✓ Límite para descargar a absorción suelo: Ausente, dicha indicación es equivalente a menor que el límite de detección de la técnica analítica indicada (3500 Hg B).

Para la ciudad de Paraná, la Ordenanza N° 7717/95, que sanciona el Código Ambiental, en su Anexo VI, dispone, en concordancia a la ley Provincial N° 6260 de 1978; que se deberá declarar la presencia de Hg y sus compuestos en los Residuos Sólidos (Municipalidad de Paraná, 1995).



El mercurio y las plantas

El proceso de crecimiento de las plantas depende de un ciclo de nutrientes que incluye elementos traza que pueden pasar desde el suelo a las plantas, las cuales pueden actuar como una vía muy importante de captación y entrada del Hg que está en el suelo. No obstante, el Hg puede formar complejos estables en el horizonte A del suelo, reduciendo su movilidad y disponibilidad para ser asimilado por los organismos vivos (Molina Cataño *et al.*, 2010).

Los metales pesados presentan elevado potencial tóxico en plantas, actuando directamente en la velocidad de desarrollo o bloqueando algún estadio (Tozzi *et al.*, 2009; Patnaik y Mohanty, 2013). La influencia sobre el desarrollo y la reproducción de las plantas pueden ser en primer lugar cuantificada mediante la determinación de los rasgos de germinación de semillas y el crecimiento de las plántulas (Ling *et al.*, 2010).

Las plantas son el primer eslabón de la cadena alimentaria de los heterótrofos; aportan proteínas, carbohidratos, vitaminas, hierro, calcio y otros nutrientes. La acumulación de metales pesados en estos organismos, puede producir efectos muy graves en la salud de las personas.

Las plantas pueden absorber los metales pesados del suelo, entre ellos el Hg, que puede acumularse en diferentes órganos o tejidos (Molina Cataño *et al.*, 2010). Se ha reportado que cerca de la mitad de la ingestión de Hg se debe al consumo de vegetales contaminados (Qiu *et al.*, 2008).

En los últimos años, diversos aspectos de los efectos de los metales pesados en las plantas han sido estudiados (Kiram y Sahim, 2006). Los ensayos de fitotoxicidad con semillas germinadas son simples, versátiles y útiles para evaluar la toxicidad de aguas, sedimentos y muestras de suelo (Iannacone y Alvariño, 2005). Estos ensayos dan una visión integrada del efecto tóxico generado por diversos contaminantes presentes en una muestra, y los resultados expresan el peligro potencial para los organismos (Posada y Arroyave, 2006).



La raíz es generalmente el primer órgano que toma contacto con el Hg, y también lleva a cabo las primeras respuestas. La presencia de este metal afecta a la absorción de agua a través de las raíces (Chong-qing *et al.*, 2013) y provoca una rápida reducción de la conductividad hidráulica como consecuencia de la inhibición de las acuaporinas. También se ha descrito que bloquea la absorción y el transporte de nutrientes minerales al cerrar los canales proteicos de transporte (Wan y Zwiazek, 1999; Patra y Sharma, 2000). Además, puede unirse a los grupos sulfhidrilos presentes en centros activos de enzimas o proteínas, reemplazando a otros elementos necesarios, lo cual trae como resultado el cambio de su conformación y la pérdida de la actividad enzimática (Chong-qing *et al.*, 2013).

Por lo tanto, las raíces exhiben una amplia gama de cambios morfogénicos generales tales como la inhibición de la división celular y elongación celular (Patra y Sharma, 2000).

Los efectos tóxicos del Hg descritos en plantas incluyen abscisión de las hojas más viejas, reducción del crecimiento, disminución del vigor, inhibición del desarrollo de las raíces y hojas, disminución del contenido de clorofila y de la actividad de algunas enzimas como la nitrato reductasa (Esteban *et al.*, 2008; Sharma y Subhadra, 2010). La genotoxicidad del Hg se atribuye generalmente a la capacidad del metal para unirse con la tubulina-SH, lo que afecta la función de los husos acromáticos y dando como resultado la ocurrencia de mutaciones genómicas o aberraciones cromosómicas numéricas (Kumar Rai y Kumar, 2010).

Iannacone y Alvariño (2005) citando a Calow (1993) señalan el empleo de cebolla (*Allium cepa* L., Liliaceae), acelga (*Beta vulgaris* L., Chenopodiaceae), arroz (*Oryza sativa* L., Poaceae) y rabanito (*Raphanus sativus* L., Brassicaceae) como especies sensibles y de interés para evaluar la toxicidad y el riesgo de sustancias químicas peligrosas en el ambiente.



EL ARROZ

Caracterización de la especie

El arroz es uno de los alimentos más consumidos en el mundo. Se utiliza en diversas formas para la preparación de alimentos, galletas, pasteles, etc. (Fakoor Janati *et al.*, 2011).

Es uno de los cultivos más antiguos, la mayoría de los autores indican que es originario del sudeste de Asia y su domesticación ocurrió hace unos 10.000 años. El género está representado por un total de 23 especies a nivel mundial, de las cuales sólo dos especies son cultivadas: *O. sativa* y *O. glaberrima* (Dimitri, 1987; Livore, 2006a).

El arroz pertenece a la división Angiospermae, clase Monocotyledoneae, orden Glumiflorae, familia Poaceae (gramineae), tribu Oryzeae (Acevedo, *et al.*, 2006). Es una especie diploide que posee un genoma compuesto por 12 pares de cromosomas con un tamaño de 430 Mbp (Livore, 2006a).

La especie *O. sativa* es una planta anual, cespitosa, palustre de 0,60 a 1 m de altura. Hojas tiernas y envainadoras. Panoja laxa o contraída generalmente nutante con ramas secundarias ramificadas (Dimitri, 1987). Cada tallo de la planta está formado de una serie de nudos y entrenudos. Los entrenudos varían en largo de acuerdo al genotipo y ambiente, generalmente son más largos en la parte superior de la planta (Fig. 8). Cada nudo superior tiene una hoja (lámina) y una yema. La hoja bandera esta empalmada en el nudo con su vaina que rodea todo el tallo. En la unión entre la lámina y la vaina se encuentran las dos aurículas y la lígula de 15 a 45 mm de largo (Olmos, 2007).

El grano de arroz recién cosechado, comúnmente llamado semilla, está formado por el cariópse y la cáscara, está última constituida por las glumas. Industrialmente se considera al arroz cáscara aquel comprendido por el conjunto de cariópse y glumas (Fig. 9). El cariópse, está formado por el embrión, el endosperma, capas de aleurona (tejido rico en proteínas), tegmen (cubierta seminal), y el pericarpio (cubierta del fruto) (Olmos, 2007).



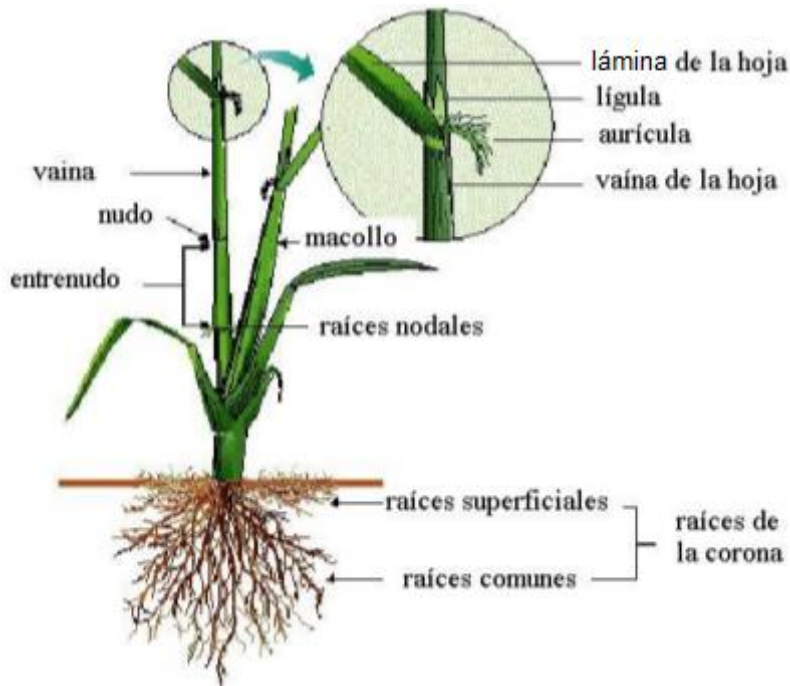


Figura 8. Etapa vegetativa de la planta de arroz, sus partes (adaptado de Olmos, 2007).

La germinación da inicio a la fase vegetativa, comienza cuando la radícula o el coleoptilo emergen del cariópse (Fig. 10). En condiciones aeróbicas (siembra convencional) lo primero en emerger desde la coleorriza del embrión (vainas que recubre a la radícula) es la radícula, luego recién lo hace el coleoptilo. En condiciones anaeróbicas (cuando la siembra se realiza con el suelo inundado, o cuando hay anegamiento por lluvias excesivas sobre una siembra en seco) lo primero en emerger es el coleoptilo, mientras que la radícula emerge recién cuando el coleoptilo haya alcanzado un ambiente aeróbico (Olmos, 2007).



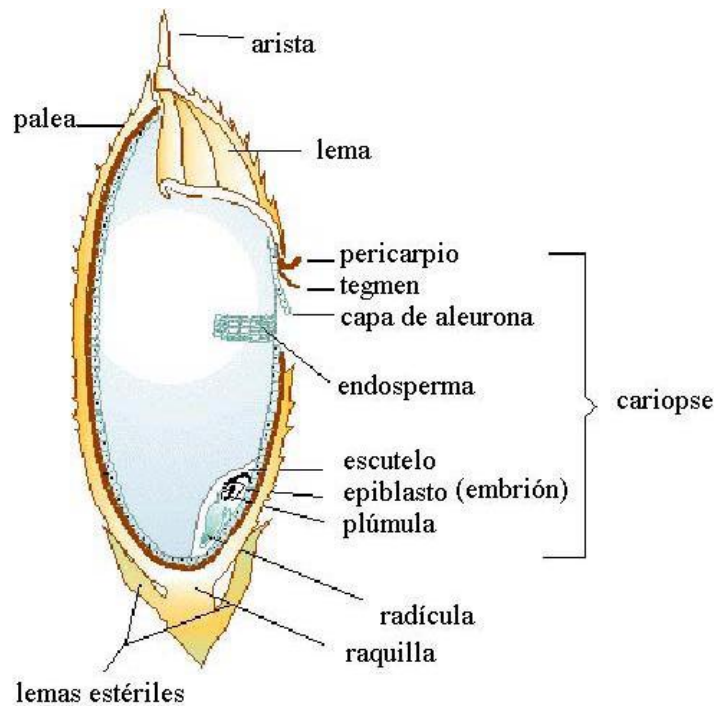


Figura 9. Grano de arroz, sus partes (adaptado de Olmos, 2007).

Cuando las semillas se desarrollan en la oscuridad (en siembras en seco) emerge la radícula y un tallo corto llamado mesocótilo que mantiene la corona de la planta justo debajo de la superficie. Luego de emerger el coleoptilo, por dentro del mesocótilo, crece la hoja primaria (Fig. 10) (Olmos, 2007).

En cuanto a la fenología, el ciclo del arroz se divide en tres períodos (Quintero, 2009):

- 1) **Período vegetativo:** transcurre desde la germinación de la semilla hasta la aparición del primordio floral en la base de la planta y tiene una duración de unos 45 a 50 días dependiendo del genotipo;
- 2) **Período reproductivo:** comienza con la aparición de los primordios florales hasta la apertura de la flor, que por lo general ya está polinizada al abrir debido a su sistema de reproducción autógama;
- 3) **Período de maduración:** comprende el llenado de granos, teniendo especial importancia el aporte en carbohidratos generados por fotosíntesis en las hojas superiores, especialmente la hoja bandera.



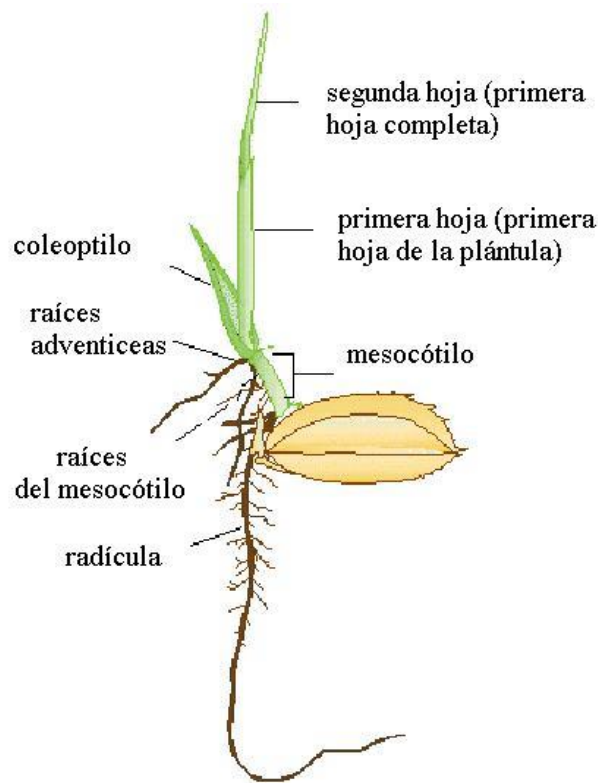


Figura 10. Plántula de arroz, sus partes (adaptado de Olmos, 2007).

El arroz en la región

Los cultivares de arroz más difundidos en la región arrocera de Argentina han variado en sus características de tipo de planta, calidad industrial y calidad culinaria a través del tiempo en función de la demanda de los mercados a nivel nacional e internacional (Livore, 2006b).

En la provincia de Entre Ríos, el arroz posee una significativa importancia en el área de suelos vertisoles que presentan limitaciones para la implantación de otros cultivos tradicionales (Lallana, 2005). Se citan como cultivares de mayor difusión: El Paso 144, Taim, Irga 417-Puitá INTA CL, RP2, Yeruá P.A., Cambá INTA-Proarroz y Supremo 13 (Quintero, 2009). Actualmente se ha desarrollado una nueva variedad conocida como Gurí INTA CL, el cual se obtuvo por cruzamiento del genotipo Puitá INTA CL con Cambá INTA Proarroz (Fundación ProArroz, 2012).

Para la campaña 2013-2014, en la provincia de Entre Ríos, el área cultivada con el cereal fue de 68.000 ha y no presentó variaciones significativas con respecto al año anterior. En lo que respecta al rendimiento promedio provincial, mostró un crecimiento



desde 638 kg/ha a 7.441 kg/ha, lo cual representó un incremento del 9,4% para esta última campaña (BolsaCer, 2014).

EL ARROZ Y EL MERCURIO

El arroz, al igual que cualquier alimento de origen vegetal, contiene contaminantes provenientes del suelo, el agua, fertilizantes y otros suministros (da Silva *et al.*, 2013).

Varios trabajos exponen sobre la contaminación del arroz con Hg, sobre todo en los países del continente asiático (Horvat *et al.*, 2003; Fakoor Janati *et al.*, 2011; Qiu *et al.*, 2012), en estos artículos se planteó la medición de las concentraciones de Hg (en alguna de sus formas orgánicas y/o inorgánicas) en diversas partes de las plantas del cereal proveniente de áreas contaminadas. Se observó así, que por su capacidad de bioacumulación en los tejidos, el arroz puede ser una vía importante de exposición de los habitantes al metilmercurio (Zhang *et al.*, 2010).

Recientemente, el estudio de la acumulación de Hg en el arroz ha recibido considerable atención en todo el mundo. Meng *et al.* (2012), citando a Zhang *et al.* (2010), especifican que, en promedio, los factores de bioacumulación de MeHg (metilmercurio) en arroz eran más de 800 veces más altos que los de Hg inorgánico. Estos datos indicarían que las fuentes y mecanismos de absorción, transporte y bioacumulación de Hg inorgánico y MeHg en los tejidos de las plantas de arroz deben ser diferentes.

Estudios realizados por Meng *et al.* (2012) indican que las raíces absorbían, en primer lugar, el MeHg presente de los suelos utilizados para la investigación, y luego lo traslocaban a las partes aéreas de la planta. Finalmente, se determinó que la mayor parte del MeHg acumulado en los tallos y las hojas era transferido a las semillas durante el período de maduración. Con lo cual el Hg llegaría a los consumidores de granos de arroz, que como se ha señalado previamente, comprende a gran parte de la población mundial.



MATERIALES Y MÉTODOS



MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

El material biológico empleado para este estudio, correspondió a organismos pertenecientes a la especie *Oryza sativa* L. Se trabajó con dos genotipos, los cuales fueron: Gurí INTA CL y Cambá INTA Proarroz.

El genotipo Cambá INTA Proarroz es una variedad de ideotipo tropical, de alto rendimiento agrícola, calidad molinera superior y excelente calidad culinaria. Planta de alto macollaje, semienana, panoja de tamaño intermedio, pubescente, granos mútricos de color pajizo; el peso de 1000 granos es de alrededor de 25,8 g. Presenta ciclo intermedio y madurez a los 130 días de emergido. Resiste la cosecha a bajo porcentaje de humedad conservando la calidad molinera (INTA, 2014).

El genotipo Gurí INTA CL es una variedad de ideotipo tropical. Ha sido obtenido recientemente mediante selección a partir del cruzamiento de los genotipos Puitá INTA CL por Cambá INTA Proarroz. Es de mayor rendimiento agrícola que su progenitor Puita INTA CL (que presenta la característica de ser resistente a herbicidas del grupo de las imidazolinonas), tiene calidad molinera superior, excelente calidad culinaria y mantiene la característica de resistencia a herbicidas que posee su progenitor Puita INTA CL. No es transgénico. Las plantas del genotipo Gurí presentan alto macollaje, son semienanas, con panoja de tamaño intermedio, pubescente, con granos mútricos de color pajizo y el peso de 1000 granos es de aproximadamente 25,1 g. Presenta ciclo intermedio y madurez a los 134 días de emergido. Resiste la cosecha a bajo porcentaje de humedad conservando la calidad molinera (INTA, 2014).

Especie química y medio de cultivo

La especie química utilizada para el ensayo fue el mercurio (Hg), el cual se encontraba bajo la forma de bicloruro de mercurio (HgCl_2).

Para evaluar la respuesta de ambos genotipos se trabajó utilizando cinco tratamientos (Iannacone y Alvarino, 2005; Kiram y Sahim, 2006) consistentes en diferentes concentraciones de la especie química mencionada, los cuales fueron:

a- 0,0 mg/l de HgCl_2 (tratamiento testigo)

b- 0,5 mg/l de HgCl_2



- c- 1,0 mg/l de HgCl₂
- d- 5,0 mg/l de HgCl₂
- e- 10,0 mg/l de HgCl₂

La obtención de cada concentración se generó realizando distintas diluciones a partir de una solución madre preparada con 1 g de HgCl₂ y enrasada a 1 l empleando agua destilada estéril.

Previo a la siembra, las semillas fueron desinfectadas realizando un lavado con alcohol etílico al 70% durante 1 min, luego se colocaron en hipoclorito de sodio (NaClO) al 10% durante 10 min y finalmente se enjuagaron tres veces con agua bidestilada estéril (Esteban *et al.*, 2008).

Las semillas se sembraron, bajo cámara de flujo laminar, dentro de bandejas plásticas, las cuales se desinfectaron con alcohol etílico al 70%. Estos recipientes contenían en su base una lámina de papel secante y la solución formada por agua bidestilada estéril con las diferentes concentraciones de HgCl₂, según el tratamiento. Se realizaron 4 repeticiones por tratamiento, sembrando 50 semillas por repetición (Figura 11).

Cada bandeja se colocó dentro de una bolsa de nylon (Fig. 12), permeable al aire, a fin de evitar la evaporación de la solución y posibles contaminaciones, y se mantuvieron durante 7 días en cámara de cría bajo condiciones constantes de fotoperiodo (16 horas de luz y 8 de oscuridad) y temperatura (25 ± 2°C).



Figura 11. Sembrado de semillas de arroz en cámara de flujo laminar.



Figura 12. Preparación bandejas para llevar a cámara de cría.

Análisis de muestras y datos

Se trabajó utilizando un diseño completamente aleatorizado. La unidad experimental estuvo representada por cada bandeja.

Completado el tiempo del bioensayo (Figs. 13, 14 y 15), se midieron para las 2000 semillas sembradas, y las correspondientes plántulas crecidas, las siguientes variables:

- 🌱 Germinación (G): colocando 1 ó 0 de acuerdo a si la semilla había germinado o no.
- 🌱 Peso de plántula (PP), para las determinaciones de peso se empleó una balanza de precisión marca ACCULAB ALC-210.4; con rango de 0,0001 a 210 g, se tomaron los valores de cada plántula y posteriormente se uniformaron en las tablas contemplando cuatro dígitos luego de la coma.
- 🌱 Longitud de vástago (LV), se midió empleando una regla milimetrada.
- 🌱 Longitud de raíces (LR), se midió empleando una regla milimetrada.
- 🌱 Número de raíces por plántula (NR), se realizó el visualmente el conteo del número de raíces que presentaba cada individuo.



Figura 13. Plántula genotipo Gurí a los 7 días de la siembra.



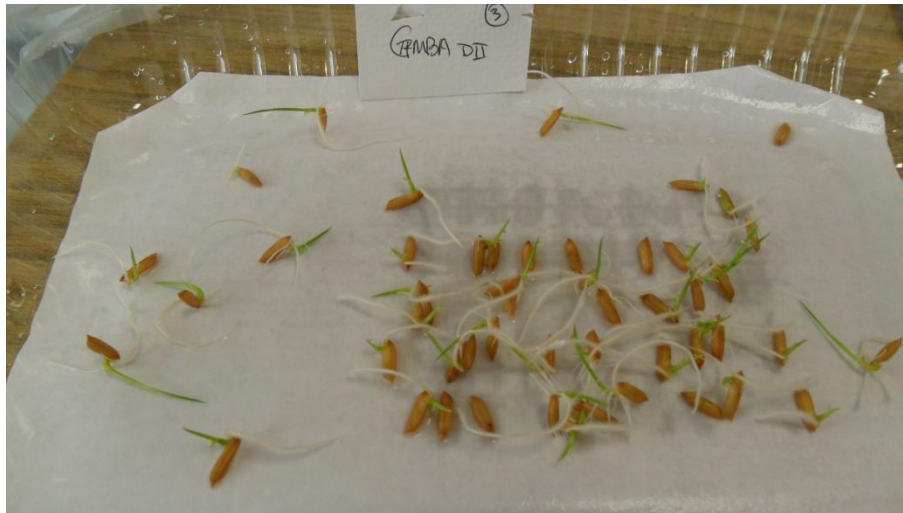


Figura 14. Plántula genotipo Cambá a los 7 días de la siembra.



Figura 15. Plántula de arroz a los 7 días de la siembra.

Varios autores han propuesto el empleo de índices de biomonitorio basados en la germinación y el crecimiento de las plántulas, a fin de comparar efectos de diferentes dosis de contaminantes en distintos genotipos (Turner y Marshal, 1972; Abdul-Baki y Anderson, 1973; Chou *et al.*, 1978; Mhatre y Chaphekar, 1982; Mishra y Choudhuri, 1999; Datta, *et al.*, 2011). En base a estos estudios previos, algunos de ellos realizados en arroz, y utilizando los datos de germinación, longitud de vástago, longitud de raíces y



número de raíces por plántula se determinaron los siguientes índices tomados de Mishra y Choudhuri (1999):

🌱 Porcentaje de diferencia del control: %DFC (% Difference from control)

$$\%DFC = \frac{\%GC - \%GT}{\%GC} \times 100$$

En donde: %GC= porcentaje de germinación del control (testigo).

%GT= porcentaje de germinación del tratamiento.

🌱 Porcentaje de fitotoxicidad para tallo o raíz

$$\%Fitotoxicidad = \frac{LVoR C - LVoRT}{LVoR C} \times 100$$

En donde: LVoRC= longitud de vástago o raíz del control (testigo).

LVoRT= longitud de vástago o raíz del tratamiento.

🌱 Índice de Tolerancia: TI (Tolerance Index)

$$TI = \frac{\text{Longitud de la raíz más larga del tratamiento}}{\text{Longitud de la raíz más larga del control}}$$

Además de los índices obtenidos (%DFC; TI y Porcentaje de fitotoxicidad para tallo o raíz), se analizaron los datos de las variables a fin de obtener las medias por tratamiento y genotipo con lo cual se generaron tablas y gráficos explicativos de los diferentes resultados.

Para corroborar las hipótesis se realizaron análisis de variancias, ANAVA, (Montgomery, 1991.) y se aplicó el test de Duncan de comparación de medias (Duncan,



1955), a fin de verificar si las diferencias entre las medias previamente calculadas eran estadísticamente significativas.

Se realizó también un análisis multivariado de conglomerados, tomando en cuenta las 5 variables medidas, con el propósito de obtener un dendrograma que permitiera observar las distancias entre tratamientos y genotipos.

Para el análisis estadístico de los datos se empleó el software InfoStat (InfoStat, 2013).



RESULTADOS



RESULTADOS

La tabla 2 muestra los valores medios para las cinco variables estudiadas en el trabajo. Las semillas de ambas variedades de arroz germinaron bajo todos los tratamientos. Los valores porcentuales de germinación revelaron claramente los efectos inhibidores del Hg sobre la germinación de las semillas de los dos genotipos de arroz, ya que dichos valores disminuyeron con el incremento de la concentración de Hg en el medio.

Tabla 2. Efectos del Hg sobre % de germinación, longitud media de vástago y raíz, número de raíces y peso de plántula en dos genotipos de arroz.

Tratamiento	% Germinación		Vástago (cm)		Nº Raíces		Raíz (cm)		Peso (gr)	
	Cambá	Gurí	Cambá	Gurí	Cambá	Gurí	Cambá	Gurí	Cambá	Gurí
Testigo	90,0	95,5	1,90	1,70	2,48	3,15	2,36	3,25	0,0429	0,0498
0,5 mg/l	88,5	95,5	1,39	1,63	2,37	2,75	2,33	3,38	0,0400	0,0459
1 mg/l	85,5	94,5	1,12	1,45	1,94	2,51	2,04	3,10	0,0373	0,0420
5 mg/l	82,0	93,0	1,00	1,39	2,59	2,43	2,00	2,80	0,0369	0,0418
10 mg/l	80,5	90,0	0,99	1,31	1,77	2,41	1,84	2,55	0,0351	0,0394

Los resultados incluidos en la Tabla 2 muestran que tanto la longitud de los vástagos como la de raíces, en ambos cultivares, fue inhibida por la presencia de Hg en el agua. Debido al poco desarrollo en longitud de raíces y vástagos, sumado al escaso desarrollo en el número de raíces, las plántulas presentaron menor tamaño lo que se tradujo en una disminución del peso de las mismas en función del aumento de la concentración del metal en el agua. Las diferencias entre medias para ambos genotipos por cada variable estudiada, pueden observarse de manera gráfica en las figuras 18 a 21 incluidas en el anexo de la presente tesis.

Si bien a simple vista las medias de las variables medidas muestran diferencias entre tratamientos y genotipos, se realizó un análisis de la varianza a fin de comprobar cuáles de estas diferencias eran significativas estadísticamente. A partir de este análisis se comprobó que el modelo utilizado fue significativo y que en la mayoría de las variables existían diferencias entre ambos genotipos y entre tratamientos.



La tabla 3 muestra los resultados del análisis de varianza con aplicación del test de Duncan ($\alpha= 0,05$) para la variable porcentaje de germinación. Con el modelo utilizado se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos genotipos y entre tratamientos pero no apareció como estadísticamente significativa la interacción entre genotipo y tratamiento.

Tabla 3. Porcentaje de germinación.

Genotipo	Tratamiento	Medias	
Gurí	T	0,95	A
Gurí	0,5 mg	0,95	A
Gurí	1 mg	0,94	A B
Gurí	5 mg	0,93	A B
Gurí	10 mg	0,90	A B C
Cambá	T	0,90	A B C
Cambá	0,5 mg	0,88	B C
Cambá	1 mg	0,85	C D
Cambá	5 mg	0,82	D
Cambá	10 mg	0,80	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

El análisis para la variable largo de vástago (Tabla 4) mostró diferencias estadísticas significativas entre genotipos, entre tratamientos y en la interacción genotipo-tratamiento ($p < 0,0001$ en cada caso), agrupando la variable en conjuntos heterogéneos y diferenciándose los tratamientos testigos por sobre los demás, con lo cual el supuesto planteado de que las medias mostraban diferencias se verificó correctamente. Para el genotipo Gurí los tratamientos testigo y 0,5 mg Hg no fueron estadísticamente diferentes.

Tabla 4. Largo de vástago.

Genotipo	Tratamiento	Medias	
Cambá	T	1,90	A
Gurí	T	1,70	B
Gurí	0,5 mg	1,63	B
Gurí	1 mg	1,45	C
Cambá	0,5 mg	1,39	C
Gurí	5 mg	1,39	C
Gurí	10 mg	1,31	C
Cambá	1 mg	1,12	D
Cambá	5 mg	1,00	D
Cambá	10 mg	0,99	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)



La tabla 5 muestra los resultados obtenidos para la variable número de raíces por plántula, que también mostró diferencias estadísticamente significativas entre genotipos, tratamientos y en la interacción genotipo-tratamiento ($p < 0,0001$ en cada caso). Al analizar los datos se pudo observar que el tratamiento testigo para el genotipo Gurí se diferenció respecto a los demás tratamientos, no siendo igual para Cambá, el cuál presentó las mayores diferencias en los tratamientos de 1 y 10 mg de Hg sobre el resto de los grupos formados, debido posiblemente a que los valores medios fueron bajos en comparación con los de Gurí.

Tabla 5. Número de raíces por plántula.

Genotipo	Tratamiento	Medias	
Gurí	T	3,15	A
Gurí	0,5 mg	2,75	B
Cambá	5 mg	2,58	B C
Gurí	1 mg	2,51	B C
Cambá	T	2,48	B C
Gurí	5 mg	2,43	C
Gurí	10 mg	2,41	C
Cambá	0,5 mg	2,34	C
Cambá	1 mg	1,91	D
Cambá	10 mg	1,75	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Para la variable largo de raíz (Tabla 6) a través del modelo utilizado se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos genotipos y entre tratamientos, pero no se observó significancia estadística en la interacción entre genotipo y tratamiento ($p=0,1067$). En el genotipo Cambá los datos se mostraron ordenados, siguiendo las concentraciones de los tratamientos, indicando esto claramente que el aumento de las dosis de Hg, produjo una respuesta directa en la morfología radicular. Para el genotipo Gurí sucedió algo similar, pero se observó que el tratamiento testigo mostró una media de longitud menor que el tratamiento de 0,5 mg de Hg, aunque no estadísticamente significativa.



Tabla 6. Largo de raíces

Genotipo	Tratamiento	Medias	
Gurí	0,5 mg	3,38	A
Gurí	T	3,25	A B
Gurí	1 mg	3,10	B
Gurí	5 mg	2,80	C
Gurí	10 mg	2,55	D
Cambá	T	2,36	D E
Cambá	0,5 mg	2,31	E
Cambá	1 mg	2,01	F
Cambá	5 mg	2,00	F
Cambá	10 mg	1,82	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

En la tabla 7 se muestran los resultados para la variable peso de plántula. En este caso tampoco se observó significancia estadística en la interacción genotipo-tratamiento ($p=0,7295$), pero sí fue significativamente diferente para genotipo y tratamiento ($p<0,0001$ en cada caso). Si bien las medias dentro de los genotipos fueron similares, los datos se agruparon en grupos heterogéneos diferenciándose los tratamientos testigo dentro de cada genotipo.

Tabla 7. Peso de plántula.

Genotipo	Tratamiento	Medias	
Gurí	T	0,05	A
Gurí	0,5 mg	0,05	B
Cambá	T	0,04	C
Gurí	1 mg	0,04	C D
Gurí	5 mg	0,04	C D
Cambá	0,5 mg	0,04	C D E
Gurí	10 mg	0,04	D E F
Cambá	1 mg	0,04	E F G
Cambá	5 mg	0,04	F G
Cambá	10 mg	0,04	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

La tabla 8 muestra los resultados obtenidos al aplicar los diferentes índices propuestos por Mishra y Choudhuri (1999). Para ambos genotipos, al analizar el Porcentaje de Diferencia del Control (%DFC) se observó un incremento del valor del índice con el aumento de las concentraciones de mercurio en el agua disponible. Para el



genotipo Gurí no hubo diferencias en el porcentaje de germinación entre el tratamiento testigo y el de 0,5 mg de Hg.

Tabla 8. Porcentaje diferencia de control, Índice de fitotoxicidad e Índice de tolerancia.

Tratamiento	% DFC		Índice Fitotoxicidad				TI	
			Vástago		Raíz			
	Cambá	Gurí	Cambá	Gurí	Cambá	Gurí	Cambá	Gurí
Testigo	-	-	-	-	-	-	-	-
0,5 mg/l	1,67	0	26,84	4,12	1,27	-4,00	0,82	1,07
1 mg/l	5,00	1,05	41,05	14,71	13,56	4,62	0,80	0,96
5 mg/l	8,89	2,62	47,37	18,24	15,25	13,85	0,78	0,92
10 mg/l	10,56	5,76	47,89	22,94	22,03	21,54	0,84	0,87

La aplicación del Índice de Fitotoxicidad para vástago y raíz mostró un comportamiento similar que el Porcentaje Diferencia del Control; se observó en ambos genotipos un aumento en dicho índice en respuesta al aumento de las concentraciones del metal. Para el genotipo Cambá los resultados fueron superiores que para el genotipo Gurí, indicando quizás mayor susceptibilidad ante la presencia de Hg. Debido a que la media para largo de raíz en Gurí fue superior en el tratamiento de 0,5 mg de Hg que la media del tratamiento testigo, el índice dio negativo al aplicarlo.

Al analizar los resultados obtenidos de la aplicación del Índice de Tolerancia se observó en ambos genotipos una disminución del mismo en función del aumento de concentración del metal pesado en el medio de cultivo. Si bien los datos a simple vista son ligeramente similares, el genotipo Gurí presentó los mayores valores de este índice, lo cual podría estar indicando también que el genotipo Cambá es más sensible a la presencia de Hg. El valor 1,07 obtenido para el genotipo Gurí con la dosis de 0,5 mg de Hg en el agua, podría tomarse como un indicador de tolerancia a la presencia del metal de dicho genotipo.

El análisis multivariado de conglomerados permitió, mediante la lectura de los dendrogramas (Figs. 16 y 17), evaluar las distancias entre tratamientos por genotipos. Para dicho análisis se emplearon las cinco variables medidas: porcentaje de germinación, largo de vástago, largo y número de raíces y peso de plántula.



Se observó para Cambá, considerando la mitad de la distancia total, que los tratamientos se ordenaron en tres grupos. El primero comprendió el tratamiento testigo y 0,5 mg de Hg; el segundo incluyó los tratamientos de 1 y 10 mg de Hg y separado del resto se ubicó el tratamiento de concentración 5 mg de Hg.

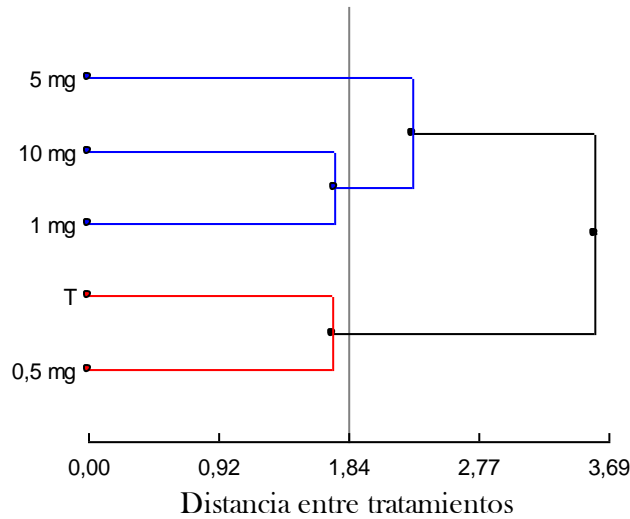


Figura 16. Dendrograma Genotipo Cambá por tratamiento.

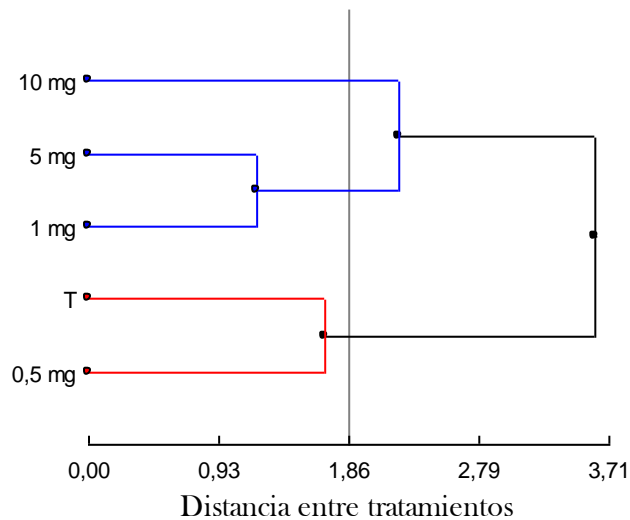


Figura 17. Dendrograma Genotipo Gurí por tratamiento.

Para el genotipo Gurí, considerando la mitad de la distancia total, también se observó en el dendrograma un agrupamiento de los tratamientos en tres grupos. Pero en este caso se presentaban asociados los tratamientos testigo y 0,5 mg de Hg por un lado, luego los tratamientos con las concentraciones que se seguían, de 1 y 5 mg de Hg, con



una mayor distancia entre ellos respecto del primer grupo y, en un grupo aparte y solo, se ubicó el tratamiento de 10 mg de Hg, diferenciándose claramente de los otros. En el genotipo Gurí aparecieron claramente ordenados los tratamientos en función del incremento de la concentración de Hg en agua.

Comparando los resultados obtenidos mediante los análisis de varianzas y test de Duncan, con lo observado en los dendrogramas, se puede corroborar el comportamiento de los genotipos por tratamiento.



DISCUSIÓN



DISCUSIÓN

En concordancia con lo expresado por Wang (1991), quien indicó que el crecimiento de raíz como punto final de lectura, es más sensible a la toxicidad que la germinación de semillas; los ensayos realizados en la presente tesis permitieron observar que tanto el largo como el número de raíces otorgan un buen punto de lectura de los efectos del Hg sobre ambos genotipos de arroz, ya que ambas variables se vieron afectadas, mostrando una disminución de sus valores en respuesta al aumento de concentración de Hg en agua.

Varios autores citan este tipo de respuestas del crecimiento de las raíces frente a la presencia de Hg para otras especies como *Picea albis* (Godbold, 1991); *Allium cepa*, *Beta bulgaris*, *Raphanus sativus* (Iannacone y Alvariño, 2005); *Lens culinaris* (Kiram y Sahim, 2006); *Bowiea volubilis*, *Eucomis autumnalis* (Street *et al.*, 2007); y *Lupinus albus* (Esteban *et al.*, 2008).

La tabla 9 adaptada de Mishra y Chouduri (1999), muestra los resultados obtenidos en un bioensayo con plomo y mercurio sobre dos genotipos de arroz de uso comercial (Ratna e IR36). Estos investigadores encontraron que al aumentar la concentración de los metales en los medios de cultivos se producía como respuesta una inhibición del crecimiento radicular y caudal de la planta respecto del ensayo control. Estos resultados son similares a lo que plantearon Iannacone y Alvariño (2005), quienes realizaron un ensayo en el cual evaluaron, para cuatro especies de plantas vasculares, la respuesta a la presencia de tres metales pesados (Cr^{+6} , Hg^{+2} y Pb^{+2}). Para el caso del arroz obtuvieron un valor de inhibición de crecimiento de radícula en presencia de Hg, en términos de concentración de inhibición media, de 5,47 mg/l. Para el caso de la presente tesis, los datos obtenidos concuerdan con lo observado con ambos trabajos mostrando un patrón similar de inhibición de crecimiento de las variables estudiadas.

En la tabla 6; presentada en la sección resultados se observó que en el genotipo Gurí el largo de raíz mostró un crecimiento superior en la dosis de 0,5 mg de Hg, respecto del tratamiento testigo. Ling *et al.* (2010), publicaron una respuesta similar para esta variable en *Brassica oleracea* y *Spinacia oleracea*, donde observaron que la variable



exhibía un incremento para el primer tratamiento (correspondiente a una concentración de 0,1 mM de Hg) respecto del tratamiento testigo.

Más recientemente, este mismo efecto también fue observado por Morales y Gallego (2013), en un trabajo realizado con la especie *Brachiaria dictyoneura* donde el primer tratamiento (5mg Hg(II)) exhibía un mayor largo de raíces respecto al tratamiento testigo.

Los datos obtenidos para porcentaje de germinación, donde la variable mostró una disminución en función del aumento de concentración del metal pesado en agua, concuerdan con lo presentado por Morales y Gallego (2013), quienes también presentaron que la variación en el porcentaje de germinación de *B. dictyoneura* también disminuía con el aumento de concentración del Hg en el sustrato utilizado.

Mishra y Choudhuri (1999), en sus trabajo con los genotipos Ratna e IR36 aplicaron diferentes índices para evaluar la respuesta de ambos genotipos de arroz a los metales y encontraron una respuesta similar a la observada para el crecimiento de las plántulas; concluyendo, que si bien existían diferencias entre variedades de arroz, la Fitotoxicidad y la Tolerancia de estos cultivares aumentaba con las concentraciones de Hg en el medio de cultivo. Estos resultados son similares a los obtenidos en este trabajo en donde se observó un comportamiento similar con los genotipos Cambá y Gurí.

Tabla 9. Efectos del Pb y Hg sobre la longitud media de tallo y raíz, Porcentaje de Fitotoxicidad e Índice de tolerancia en dos cultivares de arroz (Mishra y Choudhuri, 1999).

Treatments		Mean shoot length		Mean root length		% Phytotoxicity				TI	
		Ratna	IR36	Ratna	IR36	Shoot		Root		Ratna	IR36
						Ratna	IR36	Ratna	IR36		
Control	(H ₂ O)	14,0	10,5	8,7	11,0	-	-	-	-	-	-
PbCl ₂	10 ⁻⁵ M	13,2	10,0	5,7	8,0	5,71	4,76	34,48	27,27	46,77	67,10
	10 ⁻⁴ M	10,1	9,0	4,9	7,4	27,85	14,28	43,67	32,72	25,80	53,94
HgCl ₂	10 ⁻³ M	13,0	9,8	3,5	6,2	7,14	6,67	59,77	43,63	39,51	59,86
	10 ⁻⁴ M	9,4	8,4	1,7	4,2	32,85	20,00	80,45	61,81	22,58	40,78
LSD at P= 0,05		1,16	0,91	0,71	1,25	2,10	1,85	2,71	2,23	3,75	5,40



La aplicación de los índices que se observan en la tabla 9 reveló diferencias entre genotipos, IR36 mostró mayor resistencia al Hg que Ratna. Esta misma relación fue observada entre los genotipos utilizados en este trabajo, ya que se observó que Gurí presentó mayor resistencia al metal pesado que Cambá. Cabe recordar que, como se mencionó en Materiales y Métodos, el genotipo Gurí es un cultivar mejorado, obtenido a partir de la cruce de Cambá y Puita INTA CL y, por lo que ha podido observarse, muestra una mejor respuesta a la presencia de Hg que su progenitor Cambá.

Estos datos y antecedentes podrían revelar que a bajas dosis el Hg presente en el sustrato de crecimiento del arroz no produce un efecto tóxico en algunos genotipos de éste cultivo, lo cual indicaría la existencia de variabilidad genética. Algo similar sucedería también en las otras especies estudiadas en los trabajos citados precedentemente.

De existir dicha variabilidad, se abriría la posibilidad de lograr genotipos mejorados, adaptados a zonas con residuos mercuriales, a fin de que la población de dichas regiones pueda continuar el cultivo de arroz, cereal de importante utilización en la alimentación humana, como así también de otras especies de interés. Desde luego, si este fuera el caso, se deberá estudiar exhaustivamente la bioacumulación de Hg en las partes comestibles del cultivo y las posibles consecuencias en la salud humana.



CONCLUSIONES



CONCLUSIONES

Se logró determinar el efecto diferencial del Hg sobre la germinación y el crecimiento temprano de plántulas de dos genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.).

Mediante los ensayos realizados se pudo corroborar la hipótesis y cumplir los objetivos planteados al inicio del trabajo.

Si bien todas las variables evaluadas mostraron una reducción en sus medias al aumentar las concentraciones de Hg en el agua, las variables largo y número de raíces fueron las que mejor explicaron las respuestas de ambos genotipos ante la presencia del metal, apoyándonos en este resultado se podría pensar en reducir el número de variables a evaluar en futuros trabajos relacionados con el tema planteado.

Las mayores diferencias entre tratamientos respecto de los testigos se observaron a partir de los 5 mg de Hg, pudiendo ser este un nivel umbral en la tolerancia de los genotipos a la presencia del metal.

Los índices utilizados fueron de utilidad para evaluar los efectos del metal pesado en ambos cultivares de arroz.

Si bien en ambos genotipos se observaron cambios en el crecimiento, el genotipo Cambá mostró mayor sensibilidad al Hg que el genotipo Gurí.

La variabilidad encontrada en los genotipos de arroz evaluados, abriría la posibilidad de lograr genotipos mejorados, adaptados a zonas con residuos mercuriales.



BIBLIOGRAFÍA



BIBLIOGRAFÍA

1. Abdul Baki, A. A. y J. D. Anderson, 1973. Vigour determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop. Sci.*, 3: 630-633.
2. Acevedo, M. A.; Castrillo, W. A. y U. C. Belmonte. 2006. Origen, evolución y diversidad del arroz. *Agronomía tropical*, 56 (2): 152-170.
3. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). 1999. Reseña toxicológica del mercurio. Atlanta, Departamento de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos, Servicio de Salud Pública.
4. Ascorra, C. F. 2006. Consecuencias de la contaminación por mercurio en el ambiente y en la salud humana. Primer Seminario Taller “Agua, Salud Humana y Minería”. Pto. Maldonado, 2006, 12p.
5. Azevedo, R. y E., Rodríguez. 2012. Phytotoxicity of mercury in plants: a review. *Journal of Botany*, 2012: 6pp.
6. Babor, J. A. y J. Ibarz Aznárez. 1968. Química General Inorgánica. Martín, Barcelona, 1144p.
7. Boening, D. W. 2000. Ecological effect, transport and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, 40: 1335-1351.
8. BolsaCER (Bolsa de Cereales de Entre Ríos). 2014. Informe superficie sembrada con arroz – campaña 2013-2014. Informes SIBER. Recurso disponible en: <http://www.bolsacer.org.ar>. Visitado el 24/07/14.
9. Cabañero Ortiz, A. I. 2005. Acumulación-interacción de especies de mercurio y selenio en tejidos animales: desarrollo de nuevas metodologías de análisis. Memoria presentada para optar al grado de Doctor. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Químicas. Departamento de Química Analítica, 290p.
10. Chong-qing, W.; Tao, W.; Ping, M.; Zi-chao, L. y Y., Ling. 2013. Quantitative trait loci for mercury tolerance in rice seedlings. *Rice Science*, 20 (3): 238-242.



11. Chou, C. H., Chiang, Y. C. y Kao, C. I. 1978. Impact of water pollution on crop growth in Taiwan. II phytotoxic nature of six river waters and twenty seven industrial waters in Kaohsiung area.' Taiwan Bot Bull. Academia Sinica 19: 107-121.
12. Consejo Nórdico de Ministros. 2007. El mercurio. Reto internacional. Soluciones globales. Recurso disponible en: http://mst.dk/media/mst/67142/FactSheet_SPA_LOW.pdf. Visitado el: 20/07/14.
13. Datta, J. K.; Bandhyopadhyay, A.; Banerjee, A. y N. K., Mondal. Phytotoxic effect of chromium on the germination, seedling growth of some wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under laboratory condition. Journal of Agr. Tech., 7(2): 395-402.
14. da Silva, D. G.; Portugal, L. A.; Serra, A. M.; Ferreira, S. L. C. y V., Cerdà. 2013. Determination of mercury in rice by MSFIA and cold vapour atomic fluorescence spectrometry. Food Chem., 137: 159-163.
15. Dimitri, M. J. 1987. Enciclopedia Argentina de agricultura y jardinería. Tomo I. Acme, 117-118p.
16. Di Rienzo J. A., Casanoves F., Balzarini M. G., Gonzalez L., Tablada M. y Robledo C.W. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
17. Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F tests. Biometrics, 11: 1-42.
18. Esteban, E.; Moreno, E.; Peñalosa, J.; Cabrero, J. I.; Millán, R. y P., Zornoza. 2008. Short and long-term of Hg in White lupin plants: Kinetics and stress indicators. Environmental and Experimental Botany, 62: 316-322.
19. Fakoor Janati, S. S.; Reza Beheshti, H.; Feizy, J. y N. K., Fahim. 2011. Determinations of Cadmium, Lead, Arsenic and Mercury in Rice from Iran. Int. J. Ind. Chem., 2(4): 196-200.
20. Fortuño Saavedra, I. y K. R. de la Cuadra. 2006. Estudio de la disponibilidad de algunas especie metálicas en la laguna Carén. Trabajo de titulación. Universidad



- de Santiago de Chile, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería geográfica. 107p.
21. Freitas de Jesus, L.; Marinha, M. S. y F., Ramos Moreira. 2010. Amálgama dentário: fonte de contaminação por mercúrio para odontología e para o meio ambiente. *Cad. Saúde Colet*, 18 (4): 509-515.
 22. Fundación ProArroz. 2012. Nuevas variedades de arroz. Gurí INTA CL. Recurso disponible en: <http://www.proarroz.com.ar/variedades.php?pag=guri>. Visitado el 25/07/14.
 23. Gaona Martinez, X. 2004. El mercurio como contaminante global. Desarrollo de metodologías para su determinación en suelos contaminados y estrategias para la reducción de su liberación al medio ambiente. Universitat Autònoma de Barcelona, 246p.
 24. Geier, D. A.; Sykes, L. K. y M. R. Geier. 2007. A review of thimerosal (merthiolate) and its ethylmercury breakdown product: specific historical considerations regarding safety and effectiveness. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 10 (B): 575-596.
 25. Gil, M. J.; Soto, A. M.; Usma, J. I. y O. D., Gutiérrez. 2012. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción+Limpia*, 7(2): 52-73.
 26. Godbold, D. L. 1991. Mercury induced root damage in spruce seedling. *Water and Soil Pollut.*, 56: 823-831.
 27. Gutiérrez, M. F. y A. M. Gagneten. 2001. Efecto de los metales sobre microcrustáceos de agua dulce. Avances metodológicos y potencialidad de cladóceros y copépodos como organismos test. *Rev. peru. biol.* 18 (3): 389 – 396.
 28. Hovart, M.; Nolde, N.; Fajon, V.; Jereb, V.; Logar, M.; Lojen, S.; Jacimovic, R.; Falnoga, I.; Liya, Q.; Faganeli, J.; y D., Drobne. 2003. Total mercury, methylmercury and selenium in mercury polluted areas in the province Guizhou, China. *Science of the Tot. Env.*, 304: 231-256.



29. Iannacone, J. y L., Alvarino. 2005. Efecto ecotoxicológico de tres metales pesados sobre el crecimiento radicular de cuatro plantas vasculares. *Agricultura Técnica*, 65 (2):198-203.
30. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). 2014. Catálogo de variedades vegetales. Recurso disponible en: http://inta.gob.ar/variedades/varieties_view?b_start:int=60&-C=. Visitado el: 25/07/14.
31. Jana, S. 1988. Accumulation of Hg and Cr by three aquatic species and subsequent changes in several physiological and biochemical plant parameters. *Water Air Soil Pollut.*, 38: 105-109.
32. Jiménez Gómez, A. M. 2005. Interacción del mercurio con los componentes de las aguas residuales. Trabajo de tesis. Universidad de Colombia, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, 97 p.
33. Jimenez Moreno, M. 2009. Desarrollo de métodos analíticos para especiación de mercurio y su aplicación a la comarca de Almadén. Ediciones de la universidad de Castilla-La Mancha, 413 p.
34. Kiram, Y. y A., Sahin. 2006. The effects of cadmium on seed germination, root development and mitotic of root tip cell of lentil (*Lens culinaris* Medik). *World Journal of Agric. Sciences*, 2 (2): 196-200.
35. Kumar Rai, P. y G., Kumar. 2010. The genotoxic potential of two heavy metals in inbred lines of maize (*Zea mays* L.). *Turk J. Bot.*, 34: 39-46.
36. Lallana, V. H. 2005. Lista de malezas del cultivo de arroz en Entre Ríos, Argentina. *Ecosistemas*, 14 (2): 162-167.
37. Ling, T.; Fangke, Y. y R. Jun. 2010. Effect of mercury to seed, germination, coleoptile growth and root elongation of four vegetables. *Reserch Journal of Phytochemistry*, 4 (4): 225-233.
38. Livore, A. B. 2006a. La genética del arroz. En: Benavidez, R. (Dir). *El arroz. Su cultivo y sustentabilidad en Entre Ríos*. UNL-UNER, I: 53-74.



39. Livore, A. B. 2006b. Los cultivares de arroz. En: Benavidez, R. (Dir). El arroz. Su cultivo y sustentabilidad en Entre Ríos. UNL-UNER, I: 95-110.
40. Luoma, S. N. 1999. Emerging contaminant issues from an ecological perspective. In US Geological Survey Toxic Substances Hydrology Program-Proceedings of the Technical Meeting, Charleston, SC (Vol. 2).
41. Mhatre, G. N. y S. B., Chaphekar. 1982. Effect of heavy metals on seed germination and early growth. Environ. Biol., 3(2): 53-63.
42. Meech, J. A.; Veiga, M. M. y D., Tromans. 1998. Reactivity of mercury from gold mining activities in darkwater ecosystems. Ambio, 27: 92-98.
43. Meng, B.; Feng, X.; Qiu, G.; Wang, D.; Liang, P.; Li, P.; y L., Shang. 2012. Inorganic mercury accumulation in rice (*Oryza sativa* L.). Env. Toxicol. And Chem., 31(9): 2093-2098.
44. Mishra, A. y M. A., Choudhuri. 1999. Monitoring of phytotoxicity of lead and mercury from germination and early seedling growth indices in two rice cultivars. Water, air and soil pollution, 114: 339-346.
45. Molina Castaño, C. F.; Arango Álzate, C. M. y M., Serna González. 2010. Mercurio: implicaciones en la salud y el medio ambiente. Revista de toxicología en línea (RETEL): 7-19.
46. Molina, C. I.; Gibon, F. M.; Sánchez, Y.; Achá, D.; Benefice, E. y J. R. Guimaraes. 2010. Implicancia ambiental del mercurio en ecosistemas acuáticos de la Amazonía. Revista Virtual REDESMA, 4(2): 25-41.
47. Montgomery, D. 1991. Diseño y análisis de experimentos. Grupo Editorial Iberoamérica.
48. Morales, G. E. y J. L., Gallego. 2013. Determinación de los efectos tóxicos del mercurio en la especie *Brachiaria dictyoneura* (Fig.&De Not.) Stapf. Avances en Ciencias e Ingeniería, 4(1): 1-17.
49. Moreira de Almeida, E. M. 2011. Efeito do mercúrio em comunidades bacterianas associadas a plantas. Universidade de Aveiro, Departamento de Química, 122p.



50. Municipalidad de Paraná. 1995. Código ambiental: ordenanza 7717. Recurso disponible en: http://www.parana.gov.ar/digesto/index.php?option=com_content&view=article&id=232%3AAll-codigo-ambiental-ordenanza-no-7717&catid=41%3Amedioambiente&Itemid=74&showall=1. Visitado el 15/06/14.
51. Navarro, A. R., Arrueta, R. G. y M. C., Maldonado. 2006. Determinación del efecto de diferentes compuestos a través de ensayos de fitotoxicidad usando semillas de lechuga, escarola y achicoria. *Rev. Toxicol.*, 23: 125-129.
52. Olivero Verbel, J. y B., Johnson Restrepo. 2002. El lado gris de la minería del oro: la contaminación con mercurio en el norte de Colombia. Universidad de Cartagena, 123p.
53. Olivero Verbel, J.; Young Castro, F. y K., Caballero Gallardo. 2014. Contaminación por mercurio en aire del distrito minero de san Martín de Loba en el departamento de Bolívar, Colombia. *Rev. Int. Contam. Amb.*, 30 (1): 7-13.
54. Olmos, S. 2007. Apunte de morfología, fenología, ecofisiología y mejoramiento genético del arroz. Cátedra Cultivos II, FCA-UNNE, 13p. Recurso disponible en: <http://www.acpaarrozcorrientes.org.ar/academico/Apunte-MORFOLOGIA.pdf>. Visitado el 17/07/14.
55. Ortega García, J. A.; Ferrís i Torjada, J.; López Andreu, J. A.; Marco Macián, A.; García i Castell, J.; Cánovas Conesa, A.; Ortí Martín, A.; Ibiza Palacios, E.; Molina González, F. y D. Lorente Ortega. 2003. Hospitales sostenibles (II). Mercurio: exposición pediátrica. Efectos adversos en la salud humana y medidas preventivas. *Rev. Esp. Pediatr.*, 59 (3): 274-291.
56. Patnaik, A. y B. K., Mohanty. 2013. Toxic effect of mercury and cadmium on germination and seedling growth of *Cajanus cajan* L (Pigeon Pea). *Annals of Biological Research*, 4 (3): 123-126.
57. Patra, M. y A., Sharma. 2000. Mercury toxicity in plants. *Bot. Rev.*, 66: 379-422.
58. Posada, M. I. y M. del P. Arroyave. 2006. Efectos del mercurio sobre algunas plantas acuáticas tropicales. *EIA*, 6: 57-67.



59. Prieto Méndez, J.; González Ramírez, C. A.; Gutiérrez, A. D. R. y F. Prieto García. 2009. Contaminación y fototoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroec.* 10: 29-44.
60. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). 2002. Evaluación mundial sobre el mercurio. Ginebra, Suiza, 303 p.
61. Programa Nacional de Riesgos Químicos (PNRQ). 2007. Mercurio: Cartilla de Información. Proyecto: BANGH, Ministerio de Salud de la Nación, Argentina, 30p.
62. Qiu, G.; Feng, X.; Li, P.; Wang, S.; Li, G.; Shang, L. y X, Fu. 2008. Methylmercury Accumulation in Rice (*Oryza sativa* L.) grown at abandoned mercury mines in Guizhou, China. *J. Agric. Food. Chem.*, 56: 2465-2466.
63. Qiu, G.; Feng, X.; Meng, B.; y X., Wang. 2012. Methylmercury in rice (*Oryza sativa* L.) grown from the Xunyang Hg mining area, Shaanxi province, northwestern China. *Pure Appl. Chem.*, 84(2): 281-289.
64. Quintero, C. E. 2009. Factores Limitantes para el Crecimiento y Productividad del Arroz en Entre Ríos, Argentina: Tesis doctoral Universidad da Coruña. 1° Ed. Fundagro - Fundación para el desarrollo agropecuario. Impresos S.A. Santa Fe. Argentina. 167p.
65. Ramírez, A. V. 2008. Intoxicación ocupacional por mercurio. *An. Fac. Med.*, 69 (1): 46-51.
66. Ramírez, M. Y.; García. A. G. y J. C. Díaz. 2004. La contaminación por mercurio en México. *Gaceta Ecológica*, 72: 21-34.
67. Ramos Gamiño, F. 2013. Maíz, trigo y arroz. Los cereales que alimentan al mundo. Universidad Autónoma de Nueva León (UANL), 79p.
68. Resabala, C. 2008. Inventario nacional de emisiones de mercurio y productos que contienen mercurio. Ministerio del Ambiente Subsecretaría de Calidad Ambiental. Ecuador, 221p.



69. Santos Capra, A. 2011. Mercurio: situación en Argentina. En: Taller Estudio de factibilidad de almacenamiento transitorio de mercurio en Argentina y Uruguay. Montevideo, 2011. Recurso disponible en: <http://www.ccbasilea-crestocolmo.org.uy/wp-content/uploads/2011/06/Normativa-y-antecedentes-Argentina-A.-Capra.pdf>. Visitado el 28/01/14.
70. Schinitman, N. 2004. Metales pesados, ambiente y salud. Recurso disponible en: http://www.ecoportel.net/Temas_Especiales/Contaminacion/Metales_Pesados_Ambiente_y_Salud. Sitio visitado el 26/07/2012.
71. Sharma, J. y A. V., Subhadra. 2010. The effect of mercury on nitrate reductase activity in bean leaf segments (*Phaseolus vulgaris*) and its chelation by phytochelatin synthesis. LRSM, 13: 8p.
72. Spain, A. 2003. Implications of microbial heavy metals tolerance in the environment. Reviews in Undergraduate Reserch, 2: 1-6.
73. Street, R. A.; Kulkarni, M. G.; Stirk, W. A.; Southway, C. y J. Van Staden. 2007. Toxicity of metal elements on germination and seedling growth of widely used medicinal plants belonging to Hyacinthaceae. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 79: 371-376.
74. Torres Escribano, S. 2011. Bioaccesibilidad de arsénico y mercurio en alimentos con potencial riesgo toxicológico. Universitat de València, Servei de Publicacions, 242p.
75. Tozzi, H. H.; de Moura Souza Filho, P. R. y M., Takaki. 2009. Efeito tóxico do mercúrio na germinação de sementes de duas espécies de Asteraceae (*Galinsoga parviflora* Cav. e *Bidens pilosa* L.). Holos Environment, 8 (2): 4p.
76. Turner, R.C. and C. Marshal, 1972. Accumulation of zinc by subcellular fraction of root *Agrostis tenuis* Sibth in relation to zinc tolerance. New Phytol., 71: 671-676.
77. Villarejo, A. L. D. 2004. Ecotoxicología y acción toxicológica del mercurio. Anal. Real Acad. Nac. Farm., 70: 933-959.



78. Wan, X. y J. J., Zwiazek. 1999. Mercuric chloride effects on root water transport in aspen seedlings. *Plant Physiol*, 121: 939-946.
79. Wang, W. 1991. Literature review on higher plants for toxicity testing. *Water Air Soil Pollution*, 59: 381-400.
80. Weinberg, J. 2010. Introducción a la contaminación por mercurio para las ONG, IPEN, 166p.
81. Yarto, M., Gavilán, A. y J., Castro. 2004. La contaminación por mercurio en México. *Gaceta ecológica*, 72: 21-34.
82. Zhang, H.; Feng, X.; Larssen, T.; Shang, L. y P. Li. 2010. Bioaccumulation of Methylmercury versus Inorganic Mercury in Rice (*Oryza sativa* L.) grain. *Environ. Sci. Technol.*, 44(12): 4499-4504.



ANEXO



ANEXO

Figura 18. Valores medios Porcentaje de germinación

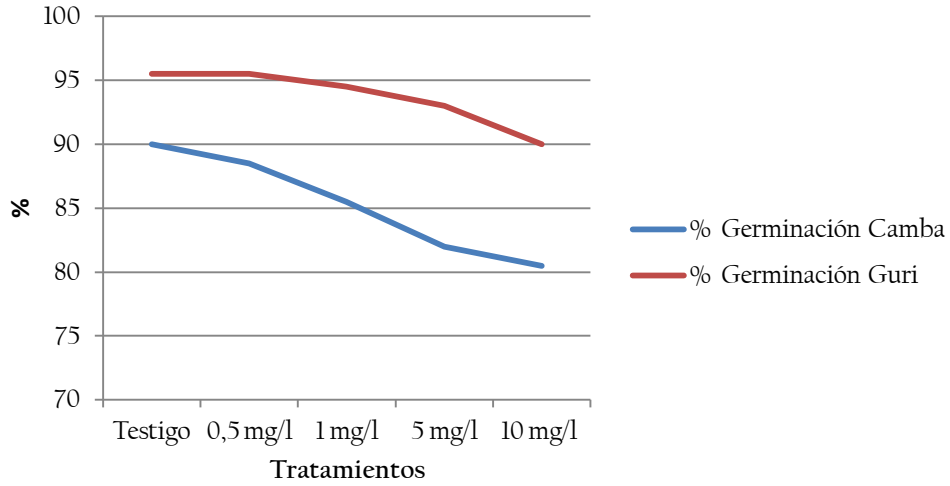


Figura 19. Valores medio de Largo de vástago y raíz

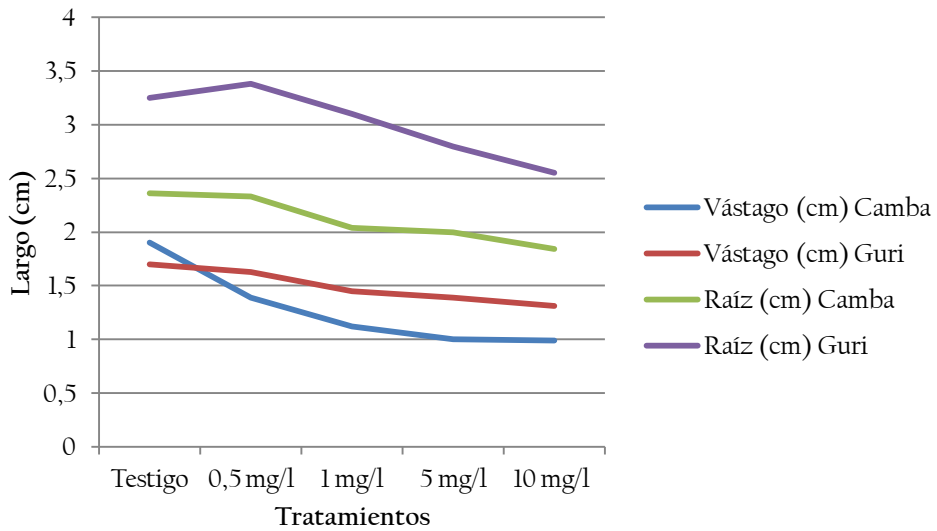


Figura 20. Valores medios de Número de raíces

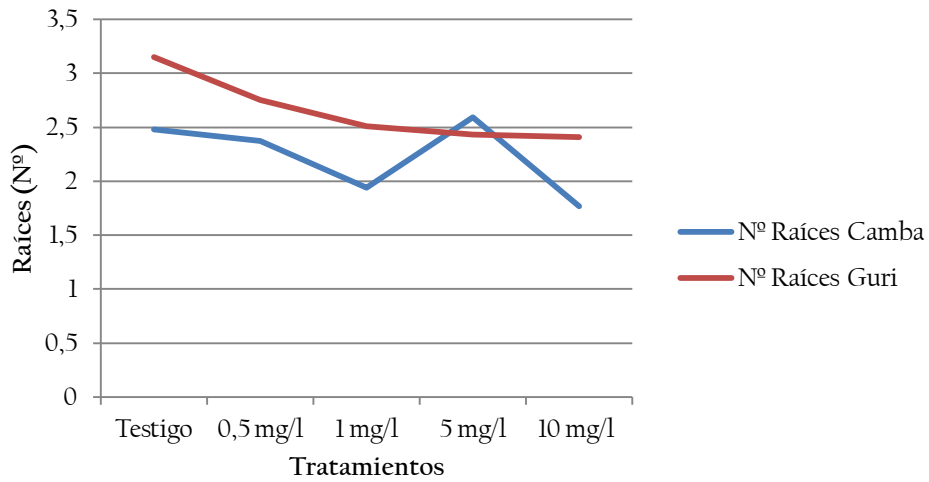


Figura 21. Valores medios Peso de plántula

