

- b) Marcar correctamente cada caja con la dilución correspondiente, así como la fecha y hora de inicio y término del bioensayo.
- c) Saturar el papel de filtro con 10 ml de la muestra evitando que se formen bolsas de aire.
- d) Con la ayuda de una pinza, colocar cuidadosamente 13 semillas, dejando espacio suficiente entre ellas para permitir la elongación de las raíces.
- e) Tapar las cápsulas y precintarlas con parafilm para evitar la pérdida de humedad. Para favorecer la germinación de la semilla de lechuga fue necesaria la oscuridad por lo que las placas de Petri debieron incubarse durante 120 h (cinco días) a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C en una cámara de germinación.
- f) Realizar repeticiones para cada dilución ensayada (se hicieron tres repeticiones).
- g) Terminado el periodo de exposición (120 h), se procede a cuantificar el efecto en la germinación y en la elongación de la radícula y del hipocotilo.
- h) Medir cuidadosamente la longitud de la radícula y del hipocotilo de cada una de las plántulas correspondientes a las muestras y a los controles. La medida de elongación de la radícula se considera desde el nudo (región más engrosada de transición entre la radícula y el hipocotilo) hasta el ápice radicular. La medida de elongación del hipocotilo se considera desde el nudo hasta el sitio de inserción de los dos cotiledones (figura 7).

La figura 8 muestra los distintos estadios de la semilla durante la prueba de germinación y elongación. Para facilitar la medición de la radícula e hipocotilo, se procedió a congelar las cápsulas de Petri correspondientes a todos los tratamientos y descongelarlas a medida que se van midiendo. De esta manera, las plántulas descongeladas adquieren una consistencia blanda, favoreciendo la medición.

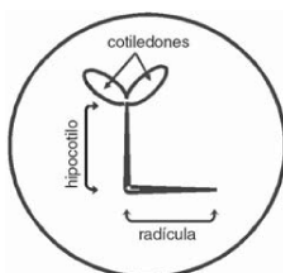


Figura 7: Esquema de plántula de *L. sativa* al finalizar el periodo de exposición (Sobrero y Ronco, 2004).