

A diferencia de la prueba tradicional de germinación de semillas, la evaluación del efecto en la elongación de la radícula y del hipocotilo de las plántulas permite ponderar el efecto tóxico de compuestos solubles presentes en niveles de concentración tan bajos que no son suficientes para inhibir la germinación, pero que sin embargo pueden retardar o inhibir completamente los procesos de elongación de la radícula o del hipocotilo, dependiendo ello del modo y sitio de acción del compuesto. De esta manera, la inhibición en la elongación de la radícula e hipocotilo constituyen indicadores subletales muy sensibles para la evaluación de efectos biológicos en vegetales, aportando información complementaria a la proporcionada al estudiar el efecto en la germinación.

Por otra parte, muchas de las reacciones y procesos involucrados son generales para la gran mayoría de las semillas, por lo que la respuesta de esta especie y los datos obtenidos a partir de la aplicación de esta prueba son en gran medida representativos de los efectos en semillas o plántulas en general. El éxito o aptitud de una plántula para establecerse en un ambiente determinado es relevante para garantizar la supervivencia de la especie. La evaluación del desarrollo de la radícula y del hipocotilo constituyen indicadores representativos para determinar la capacidad de establecimiento y desarrollo de la planta.

2.3.1. Procedimiento para el desarrollo de la prueba.

A. Preparación de las muestras

En el caso de que la muestra sin diluir resultase fitotóxica y por tanto se observase una ausencia de germinación o un porcentaje menor al 50%, se tenía previsto realizar una curva dosis-respuesta preparando diluciones con un factor de 0,5 lo que permite abarcar el intervalo de concentraciones 100, 50, 25, 12, 6, 3 y 1,5% y obtener gran precisión en los resultados. No fue necesaria esta preparación ya que con la siembra directa en las muestras de agua residual sin diluir se observó un buen porcentaje de germinación. El agua destilada se utilizó para la preparación de cada dilución y para realizar el **control negativo**.

Con el fin de controlar la sensibilidad de las semillas, simultáneamente a la evaluación de la toxicidad de una muestra debía realizarse un **control positivo**, utilizando sulfato de zinc como tóxico de referencia. La concentración de prueba de este control es la correspondiente a la CI_{50} para el lote de semillas (tenemos que saber con qué concentración se produce la muerte del 50% de los individuos o en nuestro caso el 50% de la inhibición de la germinación de las semillas).