

IDENTIFICATION OF FRESHWATER HYDROPHYTES FOR GENOTOXICITY ASSESSMENT OF AQUATIC POLLUTANTS

IDENTIFICACIÓN DE HIDRÓFITAS DULCEACUÍCOLAS PARA ESTUDIOS DE GENOTOXICIDAD DE CONTAMINANTES ACUÁTICOS

Menone M.L.^{1,2,*}, Pérez D.J.^{1,2}, Lukaszewicz G.^{1,2}, Camadro E.L.^{2,3}

¹Laboratorio de Ecotoxicología, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMYC) CONICET-UNMDP, Funes 3350 (7600) Mar del Plata, Argentina.

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Rivadavia 1917 (1033) Buenos Aires, Argentina.

³Laboratorio de Genética, Estación Experimental Agropecuaria Balcarce (INTA)/ Facultad de Ciencias Agrarias, UNMDP, CC 276 (7620) Balcarce, Argentina.

Corresponding Author: mirta.menone@gmail.com

ABSTRACT

For exploring the potential use of hydrophytes in genotoxicity bioassays for aquatic contaminants, as a complement or replacement of the traditional and standardized use of terrestrial macrophytes (*Allium cepa* (L.), *Pisum sativum* (L.), *Tradescantia* sp. (L.), among others), a preliminary study was carried out in an attempt to select at least one wild wetland taxonomic species that had to meet the following requirements: to have a low basic chromosome number and a high mitotic index (MI), and to be easily propagated in the laboratory. Three field vegetation surveys were carried out in La Brava Lake (Buenos Aires province, Argentina). Seeds of the most representative species were collected and placed in Petri dishes for germination. Cytogenetic studies were, then, performed in root tips. Two of the species, *Bidens laevis* (L.) and *Solanum chenopodioides* (Lam.) fulfilled the requirements for their use in the analysis of genotoxicity of aquatic contaminants.

Key words: native aquatic macrophytes, basic chromosome number, mitotic index, cytogenetic bioassays, genotoxicity.

RESUMEN

Con el objeto de explorar el uso de hidrófitas en ensayos de genotoxicidad de contaminantes acuáticos, como complemento o reemplazo del uso tradicional y estandarizado de macrófitas terrestres (*Allium cepa* (L.), *Pisum sativum* (L.), *Tradescantia* sp., entre otras), se llevó a cabo un estudio preliminar en un intento por seleccionar al menos una especie taxonómica silvestre dulceacuícola que debe cumplir los siguientes requisitos: poseer número cromosómico básico bajo, índice mitótico (IM) elevado y ser fácil de propagar en laboratorio. Para tal fin, se realizaron tres campañas de relevamiento de vegetación en la Laguna La Brava (provincia de Buenos Aires, Argentina). Se recolectaron semillas de las especies más representativas, y se dispusieron en placas de Petri para su germinación. Luego se realizaron estudios citogenéticos en ápices radicales. Las especies taxonómicas *Bidens laevis* (L.) y *Solanum chenopodioides* (Lam.) cumplieron los requisitos para su uso en el análisis de genotoxicidad de contaminantes acuáticos.

Palabras clave: macrófitas acuáticas nativas, número cromosómico básico, índice mitótico, bioensayos citogenéticos, genotoxicidad.

Fecha de recepción: 20/02/2014
Fecha de aceptación de versión final: 09/12/2014

INTRODUCCIÓN

El primer intento de evaluación de ensayos de mutagenicidad con plantas fue llevado a cabo por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de América (USEPA) con el programa Gene-Tox, publicado en 1982 (Constantin y Owens, 1982). Este programa tenía como fin la evaluación del estado de los bioensayos de genética toxicológica en microorganismos, animales y plantas. Los resultados mostraron que los ensayos en plantas tenían alta sensibilidad para predecir la actividad mutagénica de compuestos químicos, es decir que se observaban pocos falsos negativos, por lo que resultaban ser sumamente confiables. En general el análisis de los datos mostró una alta concordancia entre los ensayos en plantas y mamíferos (Ennever *et al.*, 1988). Sin embargo, algunas sustancias químicas que daban respuestas negativas en animales tenían resultados positivos en plantas, como es el caso de la hidrazida maleica (HM) (Gichner *et al.*, 1982; Alvarez Moya *et al.*, 2001; Rank *et al.*, 2002).

En 1984 se inició un estudio colaborativo con plantas superiores, dentro del *International Program on Chemical Safety* (IPCS) bajo el auspicio del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). En dicho estudio, se proponía la evaluación de ensayos en plantas a corto plazo para la detección de sustancias potencialmente mutagénicas y carcinogénicas, y la posibilidad de aplicar estos ensayos, en particular en países en desarrollo. Entre otros utilizados, se encuentran los bioensayos de pelos estaminales en *Tradescantia pallidosa* (E.S. Anderson & Woodson) para detectar mutaciones génicas, aberraciones cromosómicas en ápices de raíz en *Vicia faba* (L.) y micronúcleos (MN) en *T. pallidosa*, para evaluar los químicos hidrazida maleica (HM), N-nitroso-N-metilurea (MNU), azida sódica (NaN₃), azidoglicerol (AG) y etil metanosulfonato (EMS).

Se concluyó que los ensayos con plantas son sistemas eficientes y confiables para un monitoreo rápido de mutagenicidad y clastogenicidad de compuestos químicos (Shandu *et al.*, 1994). Si bien solamente fueron validados tres bioensayos a través del programa internacional IPCS, cualquier sistema con plantas superiores que sea validado y demuestre ser eficiente para el monitoreo *in situ* o para ensayos de laboratorio, podría ser incluido en estudios futuros dentro de este marco (Ma, 1998).

Particularmente, la Angiosperma terrestre *Allium cepa* (L.) fue introducida en 1938 como sistema de prueba para determinar los efectos de la colquicina (Maluszynska y Juchimiuk, 2005). Posteriormente se utilizó dicha especie para analizar la genotoxicidad de compuestos químicos mediante el ensayo de aberraciones cromosómicas, restricciones en el crecimiento de raíces y concentraciones efectivas (EC) de diferentes tóxicos facilitándose así la comparación con otros ensayos de toxicidad (Fiskesjö, 1997). Este ensayo se puede aplicar para la evaluación de aguas provenientes de fuentes naturales (ríos, lagos, lagunas), de bebida, de efluentes domésticos e industriales y de químicos solubles e insolubles en agua (Wulff y Andrioli, 2006), y presenta la ventaja de ser de rápida aplicación, económico y fácil de llevar a cabo. Sin embargo, en la literatura se reconoce la necesidad de hallar nuevas especies sensibles para realizar bioensayos de toxicidad (Vervliet-Scheebaum *et al.*, 2006), entre los que pueden incluirse los de genotoxicidad como el ensayo de aberraciones cromosómicas en anafase-telofase (EACAT).

En la mayoría de los bioensayos previamente mencionados se utilizan plantas terrestres bioindicadoras (Rank, 2003), que resultan ser una herramienta de uso corriente en la evaluación de efectos genotóxicos, pero los resultados son relevantes sólo cuando se aplican en ambientes terrestres. Algunos autores, en contraposición a este hecho, reconocen la gran utilidad de los bioensayos con plantas estándares terrestres para la detección de genotoxinas en el ambiente acuático (Majer *et al.*, 2005). Sin embargo, el uso de plantas terrestres no revela el impacto de compuestos genotóxicos sobre las poblaciones de plantas acuáticas crónicamente expuestas en su hábitat natural, y es por ello que los estudios pueden llevar a resultados alejados de la realidad o falsos positivos (Latuzka *et al.*, 2003). Estos problemas pueden ser solucionados si se utilizan especies indicadoras que son parte de la flora natural del lugar de monitoreo, porque los datos que se obtengan serán más ajustados a la realidad del ambiente que se analiza. Por esta razón, el uso de hidrófitas como bioindicadoras de efectos genotóxicos constituye una herramienta irremplazable para el monitoreo y la conservación de ecosistemas litorales (Ferrat *et al.*, 2003). Así, el objetivo general del presente trabajo fue seleccionar especies silvestres de ecosistemas dulceacuícolas que reunieran características apropiadas

para su utilización en bioensayos de genotoxicidad de tóxicos presentes en el medio acuático, para lo cual deben cumplir con los siguientes requisitos: ser fáciles de propagar en laboratorio, y poseer bajo número cromosómico básico y elevado índice mitótico (IM).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de muestreo y material biológico

El relevamiento de especies fue realizado entre los meses de abril y mayo de 2004, y consistió de tres salidas de campo en las que se muestrearon macrófitas acuáticas y palustres en la Laguna La Brava, provincia de Buenos Aires (37° 53' Latitud Sur, 57° 59' Longitud Oeste). Las estaciones de muestreo se ubicaron en el tributario de dicha laguna, el arroyo El Peligro, y en su emisario, el arroyo Tajamar. La condición taxonómica de los ejemplares recolectados se determinó mediante el uso de las claves dicotómicas de Morton (1976), Petetín *et al.* (1977), Cabrera y Zardini (1978), Orchard (1981) y Boelcke y Vizini (1987). La caracterización de las especies se realizó utilizando el Catálogo de Plantas Vasculares del Conosur (CPVC 2013).

De las especies seleccionadas acorde a su representatividad en el lugar, se recolectaron flores maduras en bolsas de papel, que se etiquetaron, y se aislaron las semillas. Una vez secas, las semillas se lavaron con una mezcla de agua destilada: hipoclorito de sodio 1:1 v/v, durante 5 min, con agitación constante a 20° C, usando un agitador magnético para lograr una correcta desinfección superficial. Para las especies acuáticas *Myriophyllum quitense* (Kunth), *Ludwigia peploides* (H.B.K.) e *Hydrocotyle ranunculoides* (L.) se recolectaron ejemplares que fueron colocados en acuarios de vidrio, debido a que su modo de reproducción es principalmente por propagación vegetativa. Por ello, para estas especies no se calculó el poder germinativo de las semillas.

Cálculo del porcentaje de germinación y capacidad de propagación en laboratorio

Se acondicionaron semillas (n= 21) de cada especie en cajas de Petri, con algodón húmedo y papel de filtro para su germinación y posterior obtención de plántulas, en cámara de crecimiento a 22° C, y en oscuridad. El número y distribución de las semillas fue uniforme en cada caja con el propósito de estandarizar las condiciones de crecimiento de las plántulas. Luego de 15 días se cuantificó

el número total de semillas germinadas por especie, evaluando la emergencia de cotiledones y radícula, y el poder germinativo se expresó como porcentaje del total de semillas evaluadas.

Cálculo del índice mitótico y del número cromosómico

Las semillas germinadas fueron transferidas a macetas que contenían como sustrato una mezcla de humus: turba 70:30 p/p aproximadamente, y las plántulas derivadas se cultivaron en invernáculo. Para el cálculo del índice mitótico, se seleccionaron entre cinco y ocho plántulas de cada especie, de las que se cosecharon raíces de no más de 1 cm de longitud, las cuales se transfirieron a una solución mezcla de etanol: ácido acético glacial 3:1 v/v durante 24 h, para la fijación del tejido. Luego, las raíces fijadas se transfirieron a etanol 70 % para su conservación en heladera a 4° C hasta el procesamiento. La hidrólisis se realizó en una solución de HCl 1N durante 10 min a 60° C en baño termostático, luego del lavado de las raíces con agua destilada. Las raíces hidrolizadas se enjuagaron dos veces con agua destilada y se tiñeron con solución de Feulgen (fucsina leucobásica) durante 2 h en oscuridad. Posteriormente, se colocaron en un portaobjetos con una gota de solución de carmín 1-2 % en ácido acético 45 %. El extremo apical, localizado mediante observación bajo lupa, fue separado del resto del material con un bisturí y desmenuzado con una varilla de vidrio. Por último se realizó el aplastamiento de la muestra con cubreobjetos sobre portaobjetos (técnica de "squash"). Los preparados realizados se observaron mediante microscopía óptica, con un microscopio Olympus BH-2. El índice mitótico (IM) fue calculado como el número de células en división mitótica (estadios de profase, metafase, anafase y/o telofase) cada 1.000 células observadas y fue expresado en porcentaje.

Para la determinación del número cromosómico se seleccionaron entre cinco y ocho plántulas de cada especie y se cosecharon raíces de no más de 1 cm de longitud. Dichas raíces se transfirieron a una solución de 8-hidroxiquinoleína durante 2-4 h, continuándose luego con el mismo procedimiento descrito previamente para el cálculo del índice mitótico. El número cromosómico fue determinado en al menos cinco campos microscópicos en c-mitosis.

RESULTADOS

Entre las especies taxonómicas más frecuentes en las orillas de la Laguna La Brava se encontraron *Cleome titubans* (Speg.), *Typha latifolia* (L.), *Ludwigia peploides* (H.B.K.), *Solanum chenopodioides* (Lam.), *Myriophyllum quitense* (Kunth), *Schoenoplectus californicus* (C.A. Meyer), *Bidens laevis* (L.) *Hydrocotyle ranunculoides* (L.), *Polygonum persicaria* (L.).

En la Tabla 1 se presenta la clasificación taxonómica, hábito de crecimiento y status para cada una de las especies seleccionadas. Las semillas de *T. latifolia*, *S. californicus* presentaron poder germinativo menor a 2 %, hecho que dificultó la obtención de plántulas para realizar el recuento cromosómico y los bioensayos. Sin embargo, para ambas especies se observó que las células eran poliploides; aunque no se pudo establecer el número cromosómico en forma precisa, se estimó que el mismo es mayor a 50. Del mismo modo, las especies *L. peploides* y *H. ranunculoides* resultaron

ser poliploides, con números cromosómicos somáticos mayores a 50 (Tabla 2, Figura 1), teniendo en cuenta que poseen especies estrechamente emparentadas con $n=x=8$ y $n=x=12$ (Raven y Tai, 1979; Murray *et al.*, 2012).

El número cromosómico somático de la macrófita acuática *M. quitense* fue $2n=14$, pero esta especie no presentó un IM apropiado para ser utilizada en el EACAT, ni un número suficiente de células interfásicas para el recuento de micronúcleos (MN). Las especies *B. laevis*, *C. titubans*, *S. chenopodioides* y *P. persicaria* resultaron de fácil propagación, y con un número cromosómico apropiado para realizar los bioensayos ($2n=24$, $2n=14$, $2n=22$ y $2n=22$, respectivamente) (Figura 1). *Cleome titubans* y *P. persicaria* presentaron IM inferiores a 1 % mientras que *S. chenopodioides* y *B. laevis* mostraron valores entre 3-12 % (Tabla 2).

Tabla 1. Clasificación taxonómica, hábito de crecimiento y status de las hidrófitas dulceacuícolas estudiadas

Especie taxonómica	Nombre vulgar	Familia	Hábito	Status
<i>Cleome titubans</i> (Speg.)	Flor de araña chica	Capparaceae	Hierba	Nativa
<i>Typha latifolia</i> (L.)	Totora	Typhaceae	Hierba perenne	Cosmopolita
<i>Ludwigia peploides</i> (H.B.K.)	Falsa verdolaga	Onagraceae	Hierba perenne	Nativa
<i>Solanum chenopodioides</i> (Lam.)	Hierba mora	Solanaceae	Arbusto perenne	Nativa
<i>Myriophyllum quitense</i> (Kunth)	Gambarrusa	Haloragaceae	Hierba acuática perenne	Nativa
<i>Schoenoplectus californicus</i> (C.A. Meyer)	Junco	Cyperaceae	Hierba acuática perenne	Nativa
<i>Bidens laevis</i> (L.)	Amor seco	Asteraceae	Hierba perenne	Nativa
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (L.)	Redondita de agua	Apiaceae	Hierba perenne	Nativa
<i>Polygonum persicaria</i> (L.)	Moco de pavo	Polygonaceae	Hierba anual	Adventicia

Tabla 2. Características citológicas de las hidrófitas dulceacuícolas estudiadas

Especie taxonómica	Poder germinativo de semillas	Mortalidad de plántulas	Número Cromosómico somático	Índice mitótico (%)	Número Cromosómico Básico descrito en Género (G) y/o Especie (E)*
<i>Cleome titubans</i>	≥ 50	Escasa	$2n=14$	$< 1\%$	$x=9, 10, 11, 12, 13, 14$ (G)
<i>Typha latifolia</i>	≤ 2	n.a.	n.a.	n.a.	$x=15$ (G); $2n=30$ (E)
<i>Ludwigia peploides</i>	n.a.	n.a.	> 50	n.a.	Jussieua** $x=8$; <i>J. repens</i> $2n=16$
<i>Solanum chenopodioides</i>	≥ 70	Nula	$2n=22$ y 24	3-12	$x=12$ (G)
<i>Myriophyllum quitense</i>	n.a.	Nula	$2n=14$	< 1	$x=7$ (G)
<i>Schoenoplectus californicus</i>	≤ 2	n.a.	> 50	n.a.	$x=20, 21$ (G)
<i>Bidens laevis</i>	≥ 70	Nula	$2n=24$	4-12	$x=12$ (G)
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	n.a.	n.a.	> 50	n.a.	$x=8, 9, 11$ (Murray <i>et al.</i> , 2012)
<i>Polygonum persicaria</i>	≥ 70	Nula	$2n=22$	< 1	$x=11$ (G); $2n=4x=44$ (E)

n.a.: no analizado. * tomados de Darlington y Wylie (1961), excepto para *Hydrocotyle ranunculoides*. **Actualmente género *Ludwigia*.

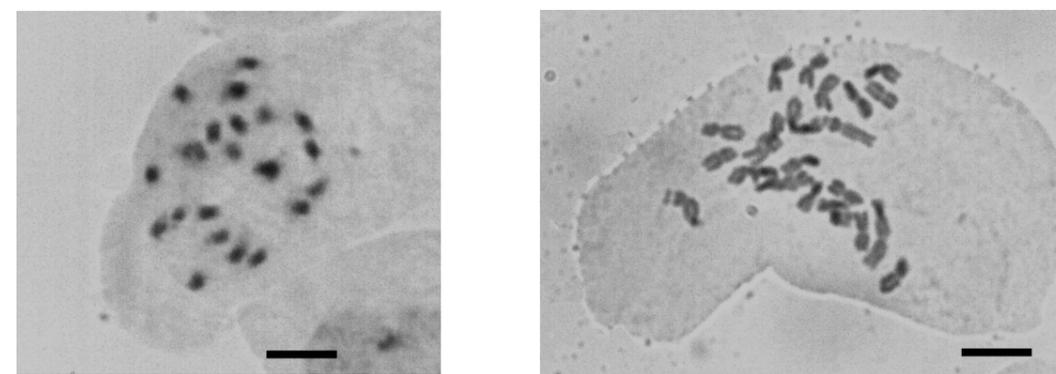


Figura 1. Cromosomas en las hidrófitas *Bidens laevis* y *Solanum chenopodioides*. Tamaño de la barra: 5 micrones.

DISCUSIÓN

Para estudios de genotoxicidad *in situ* se ha propuesto transportar la especie terrestre *Vicia faba* a sitios de contaminación potencial, por lo que se la haría crecer en ambientes que no son naturales para la especie (Grant y Owens, 2001). Por el contrario, el uso de hidrófitas en el biomonitoreo de contaminantes de ecosistemas acuáticos proporcionaría datos más ajustados a la realidad que los que puedan obtenerse con las especies modelo terrestres usadas actualmente. Por eso, se plantea la necesidad de identificar especies vegetales vinculadas al medio acuático que permitan revelar el verdadero impacto de compuestos genotóxicos sobre las poblaciones autóctonas. Además, hay que tener en cuenta que las poblaciones de especies introducidas pueden estar adaptadas a tóxicos ambientales por lo que los resultados que se obtienen pueden estar alejados de la realidad o ser falsos negativos (Lazutka *et al.*, 2003). En el presente estudio se evaluaron características citológicas, hábito de crecimiento y clasificación taxonómica de especies pertenecientes a ecosistemas acuáticos lagunares, identificándose a *B. laevis* y *S. chenopodioides* como aquellas que cumplen con los requisitos para su utilización en la evaluación de genotoxicidad de contaminantes acuáticos.

El género *Bidens* es muy amplio, ya que contiene alrededor de 240 especies taxonómicas. En Argentina, crecen espontáneamente diez de dichas especies, de las cuales tres están ampliamente distribuidas en la provincia de Buenos Aires, *B. laevis*, *B. pilosa* y *B. subalternans* (Cabrera y Zardini, 1978). *B. laevis* es la única que habita en ecosistemas acuáticos, siendo nativa y representativa de los ambientes lagunares pampásicos. Presenta una amplia distribución en toda América, desde Estados Unidos de América, México y Colombia hasta Chile, Uruguay y Argentina (Lahitte y Hurrell, 1997). En Argentina, se halla en las provincias de Buenos Aires, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santa Fe y San Juan (Cabrera *et al.*, 2000; Sáenz y Tombesi, 2003), creciendo comúnmente en suelos pantanosos, orillas de ríos y arroyos, en esteros y sobre embalsados flotantes, hasta los 500 m sobre el nivel del mar siendo, asimismo, característica de los pajonales de la ribera del Plata (Cabrera y Zardini, 1978; Sáenz y Tombesi, 2003). Es una macrófita herbácea perenne que, similarmente a muchas otras plantas palustres o helófitas, durante los meses de invierno conserva sólo un tallo subterráneo dentro del sedimento y se hace conspicua a partir de la primavera,

floreciendo en el sudeste bonaerense entre enero y mayo, y atravesando luego un periodo de disecación de la parte emergente en junio-agosto.

Por su parte, el género *Solanum* es también muy amplio, e incluye 243 especies taxonómicas en la Argentina (CPVC, 2013), tanto terrestres como palustres. Dos de ellas, *S. tuberosum* (papa) y *S. lycopersicum* (tomate), son de gran importancia para la alimentación. La especie *S. chenopodioides* (sinónimo de *S. sublobatum* Willd) se encuentra en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos, Misiones, Río Negro, Santa Fe y Neuquén en Argentina, así como en Brasil, Uruguay y Paraguay (CPVC, 2013).

Los ambientes pampásicos donde habitan *B. laevis* y *S. chenopodioides* son regiones de intensa actividad agrícola, motivo por el cual la llegada de agroquímicos a los cuerpos de agua superficiales por fenómenos de escorrentía, lixiviación, transporte atmosféricos, entre otros, es un factor crucial que puede determinar la dinámica poblacional de todo el ecosistema acuático y, en particular, la bioacumulación de estos compuestos en las macrófitas con los consiguientes efectos adversos.

La evaluación de aberraciones cromosómicas consume tiempo pero es facilitada por el uso de especies indicadoras que poseen número bajo de cromosomas de tamaño grande, siendo las especies *Tradescantia* sp., *Crepis capillaris*, *Vicia faba* y *Allium cepa* las que cumplen con este criterio (Uhl *et al.*, 2003). La especie *B. laevis* ya ha sido utilizada por nuestro grupo de trabajo en bioensayos de genotoxicidad, habiéndose demostrado que es una especie de sensibilidad elevada en comparación con *Allium cepa* (cebolla) cuando fue expuesta a reconocidos mutágenos como metil metanosulfonato (MMS), ENU y el herbicida HM (Pérez *et al.*, 2011). Además, esta especie mostró un incremento en la frecuencia de ACAT y cambios en enzimas de estrés oxidativo al ser expuesta al insecticida organoclorado endosulfán (Pérez *et al.*, 2008; 2011; 2013).

Entre las especies más abundantes en biomasa en las lagunas pampásicas, y por esto las más representativas, están *S. californicus* y *M. quitense* (Lahitte y Hurrell, 1997). Sin embargo, y con respecto a las características analizadas en este trabajo, ambas especies resultaron no ser aptas para ensayos de genotoxicidad debido a que la primera es poliploide y las semillas de la segunda presentan un poder germinativo extremadamente bajo; asimismo, el número de células interfásicas es insuficiente para el recuento de

MN posiblemente debido a la presencia de abundante aerénquima en la raíz, por lo que fueron descartadas como posibles especies modelo. Por otra parte, se debe resaltar que en el EACAT utilizando la especie terrestre *Allium cepa* para la evaluación de diversos agentes mutagénicos es frecuente observar variaciones amplias en los IM de las muestras de los tratamientos controles (Rank, 2003). Por este motivo, se cuestiona si este índice debe ser utilizado como una medida cuantitativa de la genotoxicidad de los compuestos cuyo efecto se desea caracterizar. Varios autores consideran que sólo hay que tenerlo en cuenta para determinar si en las muestras se encontrará la cantidad mínima de células en división necesarias para llevar a cabo el recuento de células en anafase-telofase en el EACAT. Los IM obtenidos en las raíces de plántulas de *B. laevis* y *S. chenopodioides* se corresponden con los valores recomendados por Rank (2003) (>1 %) para llevar a cabo el EACAT, cumpliendo así con uno de los requisitos para que estas especies puedan ser utilizadas en análisis de genotoxicidad. Otra característica importante que poseen ambas especies es el número cromosómico relativamente bajo, lo que es recomendable (Majer *et al.*, 2005), como en *Tradescantia paludosa* (2n= 24) (Sobham *et al.*, 1991).

La identificación de especies acuáticas y/o palustres potencialmente útiles para realizar bioensayos de genotoxicidad y/o biomonitoreo *in situ* en ambientes lagunares es de gran interés para el avance del conocimiento en ecogenotoxicidad, es decir, en la susceptibilidad genotóxica de la flora silvestre en vistas al desarrollo de estrategias para el mantenimiento de la biodiversidad de ciertos biomas. Por otro lado, estos estudios cobran relevancia por su posible uso en ambientes sustentables, disminuyendo el riesgo de la alteración del equilibrio ante la exposición a insecticidas propios de las economías agrícolas de ciertas zonas de nuestro país (Mudry *com. pers.*, 2009). En conclusión, entre las especies taxonómicas nativas evaluadas, *B. laevis* y *S. chenopodioides* resultaron ser las más adecuadas para su utilización en estudios de genotoxicidad, tanto para el biomonitoreo *in situ* como para bioensayos.

BIBLIOGRAFÍA

Alvarez Moya C., Santerre-Lucas A., Zuniga-González G., Torres-Burgarín O., Padilla-Camberos E., Feria-Velasco A. (2001) Evaluation of genotoxic activity of maleic hydrazide, ethyl methane sulfonate, and

N-nitroso diethylamine in *Tradescantia*. Salud Pública de Mex. 43: 563-569.

Boelcke O., Vizini A. (1987) Plantas Vasculares de la Argentina nativas y exóticas. Vol II. Casuarinácea a Leguminosas. Ed. Hemisferio Sur S.A. 1^{er} Edición, pp. 57.

Cabrera A.L., Crisci J.V., Deluchi G., Freire S.E., Giuliano D.A., Iharlegui L., Katinas L., Sáenz A.A., Sancho G., Urtubey E. (2000) Catálogo ilustrado de las compuestas (= Asteraceae) de la provincia de Buenos Aires, Argentina: sistemática, ecología y usos, Zavaro, C.A., Buenos Aires, Argentina, pp. 136.

Cabrera A.L., Zardini E.M. (1978) Manual de la flora de los alrededores de Buenos Aires. Ed. Acme S.A.C.I. Buenos Aires, Argentina.

CPVC: Catálogo de Plantas Vasculares del Conosur (2013) Instituto Darwinion. <http://www.darwin.edu.ar/Publicaciones/CatalogoVascII/CatalogoVascII.asp>. (Acceso Noviembre de 2013).

Constantin M.J., Owens E.T. (1982) Introduction and perspectives of plant genetic and cytogenetic assays. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat. Res. 99:1-12.

Darlington C.D., Wylie A.P. (1961) Chromosome atlas of flowering plants. George Allen and Unwin Ltd. London, pp. 519.

Ennever F.K., Andreano G., Rosenkranz H.S. (1988) The ability of plant genotoxicity assays to predict carcinogenicity. Mutat. Res. 205: 99-105.

Ferrat L., Pergent-Martini C., Roméo M. (2003) Assessment of the use of biomarkers in aquatic plants for the evaluation of environmental quality: application to seagrasses. Aquatic Toxicology 65: 187-204.

Fiskesjo G. (1997) Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters. In: Wang W., Gorsuch J.W., Hughes J.S. (Eds.) Plants for environmental studies. Chapter 11: Lewis Publishers, NY.

- Gichner T., Veleminsky J., Pokorny V. (1982) Somatic mutations induced by maleic hydrazide and its potassium and diethanolamine salts in the *Tradescantia* mutation assay. *Mutat. Res.* 103: 289-293.
- Grant W.F., Owens E.T. (2001) Chromosome aberration assays in *Pisum* for the study of environmental mutagens. *Mutat. Res.* 88: 93-118.
- Lahitte H.B., Hurrell J.A. (1997) Plantas hidrófilas de la Isla Martín García (Buenos Aires, República Argentina). Serie informe N° 52. CIC Ministerio de la Producción Provincia Buenos Aires. La Plata, pp 236.
- Lahitte H.B., Hurrell J.A. (1997) Plantas de la costa. Literature of Latin America (L.O.L.A). Ed. Colin Sharp, Buenos Aires, pp. 200.
- Lazutka J.R., Stapulionyte A., Bjerketvedt D.K., Odland A. (2003) Seasonal variation in the frequency of abnormal anaphases and mitotic index values in wild populations of herb-Paris (*Paris quadrifolia* L., Trilliaceae): implications for genetic monitoring. *Mutat. Res.* 534:113-122.
- Ma T.H. (1998) The International program on plant bioassays and the report of the followed-up study after the hands-on workshop in China. *Mutat. Res.* 426: 103-106.
- Majer B.J., Grummet T., Uhl M., Knasmüller S. (2005) Use of plant bioassays for the detection of genotoxins in the aquatic environment. *Acta Hydrochi. Hydrobiol.* 33: 45-55.
- Maluszynska J., Juchimiuk J. (2005) Plant genotoxicity: A molecular cytogenetic approach in plant bioassays. *Journal of Plant Genotoxicity* 56: 177-184.
- Morton C.V. (1976) A revision of the Argentine species of *Solanum*. Ed. Academia Nacional de Ciencias. Córdoba, Argentina, pp. 260.
- Murray B.G., Heenan P.B., de Lange P.J. (2012) New chromosome counts in New Zealand species of Hydrocotyle (Apiaceae) *New Zealand Journal of Botany*, pp. 1-4.
- Orchard A.E. (1981) A revision of South American *Myriophyllum* (Haloragaceae), and its repercussions on some Australian and North American species. *Brunonia* 4: 27-65.
- Pérez D.J., Menone M.L., Camadro E.L., Moreno V.J. (2008) Genotoxicity evaluation of the insecticide endosulfan in the wetland macrophyte *Bidens laevis* L. *Environ. Poll.* 153: 695-698.
- Pérez D.J., Lukaszewicz G., Menone M.L., Camadro E.L. (2011) Sensitivity of *Bidens laevis* L. to mutagenic compounds. Use of chromosomal aberrations as biomarkers of genotoxicity. *Environ. Poll.* 159: 281-286.
- Pérez D.J., Lukaszewicz G., Menone M.L., Amé V., Camadro E.L. (2013) Genetic and biochemical biomarkers in the macrophyte *Bidens laevis* L. exposed to a commercial formulation of endosulfan. *Environ. Toxicol.* doi:10.1002/tox.21836.
- Petetín C.A., Molinari E.P., Prego I., Marzocca A. (1977) Clave ilustrada para el reconocimiento de malezas en el campo al estado vegetativo. Ed. Colección Cinética del INTA. Bs. As. Talleres Gráficos Marcos Víctor Durruty, pp. 243.
- Rank J. (2003) The method of *Allium* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Vilnius* 1: 38-42.
- Rank J., Lopez L.C., Nielsen N.H., Moretton J. (2002) Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEHP in *Allium cepa* root cells performed by two different laboratories. *Hereditas* 136: 3-18.
- Raven P.H., Tai W. (1979) *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 66: 862-879.
- Sáenz A.A., Tombesi T.S. (2003) Nuevas citas de Asteraceae, Tribu Heliantheae. En: Novedades sobre la flora de San Juan (Argentina) II. *Hickenia* 3, 45: 177-188.
- Shandu S.S., de Serres F.J., Gopalan H.N.B., Grant W.F., Svendsgaard D., Veleminsky J., Becking G.C. (1994) Results and recommendations. *Mutat. Res.* 310: 257-263.

Sobhan M.I., Alam S.S., Zaman M.A. (1991) Cytogenetics of commelinaceae in four taxa of *Tradescantia*. *Bangladesh J. Bot.* 20: 206.

Uhl M., Plewa M.J., Majer B.J., Knasmüller S. (2003) Basic principles of genetic toxicology with an emphasis on plant bioassays, 11-30. En: J. Maluszynska, M. Plewa (Eds.) *Bioassays in plant cells for improvement of ecosystem and human health*. Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego. Katowice, pp. 150.

Vervliet-Scheebaum M., Knauer K., Maund S.J., Grade R., Wagner E. (2006) Evaluating the necessity of additional aquatic plant testing by comparing the sensitivities of different species. *Hydrobiologia* 570: 231-236.

Wulff A., Andrioli N. (2006) Evaluación de daño genético en modelos vegetales. En: Mudry M.D., Carballo M.A. (Eds.) *Genética Toxicológica*. Ed. De Los Cuatro Vientos. Buenos Aires, Argentina, pp. 317-337.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece especialmente a Juan Espinillo por su inmensa ayuda en la determinación de las características citológicas de las especies estudiadas y a Virginia Mancini por su colaboración en la descripción de las especies. Este trabajo ha sido financiado por subsidios de UNMDP, PIP 6497 y PIP 112-200-801-02190 de CONICET.