



## INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/3240

Fecha: 3 de abril de 2018



CODIGO MUESTRA LAB. : LB-BIOE-R-02/ 4531  
SOLICITADO POR : Austral Chemicals  
TIPO DE BIOENSAYO : Crónico  
ESPECIES UTILIZADAS : Trigo, rábano y lechuga  
RESPUESTA MEDIDA : Germinación de semillas y largo de epicotilo  
FECHA INICIO BIOENSAYOS : 20 de marzo 2018  
TIEMPO DE EXPOSICION : 7 días



### CONDICIONES DE LA MUESTRA PREVIO AL BIOENSAYO

MUESTRAS PROPORCIONADAS POR : Austral Chemicals  
TIPO DE MUESTRA : Agente de extinción de fuego y retardante de la combustión  
NOMBRE PRODUCTO : Silflame

### CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO

UNIDAD EXPERIMENTAL : Placa Petri 9 cm con rodela de papel filtro  
NUMERO REPLICAS/ESPECIE : 3  
N° SEMILLAS/UNIDAD EXP: : 10  
TEMPERATURA BIOENSAYO : 20 °C  
VOLUMEN MUESTRA DE AGUA : 5 mL  
FOTOPERIODO : Luz artificial (continua)

### METODOLOGIA DE ENSAYO:

Como unidad experimental se utilizaron placas Petri con una lámina de papel filtro en su interior. En cada placa se inoculó con 5 mL de las distintas concentraciones del producto evaluado. El control con solo papel filtro recibió 5 mL de agua destilada. Sobre el papel filtro embebido se depositaron uniformemente 10 semillas por placa, con 3 réplicas por especie. El tiempo de exposición de las semillas al agua con las distintas concentraciones del producto y al agua control fue de 7 días. Como fuente lumínica se utilizó luz artificial continua. Al término del período de exposición se contaron las semillas que no germinaron como efecto tóxico agudo y se midió el largo del epicotilo de aquellas que germinaron como un efecto de toxicidad crónica medida en el crecimiento. La significancia de la diferencia en la germinación de las semillas y del crecimiento de



plántulas por especie entre el agua control y las concentraciones de Silflame se determinó mediante test estadísticos del paquete computacional Toxstat.

### **RESULTADOS:**

#### **Efecto de la concentración de Silflame sobre la germinación de las semillas:**

El resultado del ensayo de germinación de semillas se presenta en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Evaluación de la capacidad inhibidora de las concentraciones del producto sobre la germinación de semillas de rábano, lechuga y trigo sembradas 7 días antes del recuento.

Especie ensayada	Porcentaje de semillas germinadas /tratamiento			
	Control	10 g/L	20 g/L	40 g/L
Trigo	86,6	96,6	83,3	83,3
Rábano	96,6	90	93,3	73,3
Lechuga	86,6	100	100	33,3 *

\* Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control

El porcentaje de germinación de las 3 especies de semillas plantadas en concentraciones de Silflame fue similar o superior a la germinación en el control, excepto para lechuga expuesta a 40 g/L donde la germinación fue un 40 % de lo registrado en el control. Los análisis estadísticos por especie son: Trigo (anexo 1), Rábano (anexo2), Lechuga (anexo 3).

#### **Efecto de las concentraciones de Silflame en el crecimiento de las plántulas:**

El efecto de las distintas concentraciones del producto evaluado sobre el crecimiento de las plántulas desarrolladas a partir de las semillas que lograron germinar, se cuantificó midiendo el largo de los epicotilos de cada plántula al final del período de exposición (7 días).

Los valores del largo (mm) de cada planta y el promedio por grupo, en las distintas especies evaluadas, se presentan en la Tabla 2 para trigo, Tabla 3 para rábano y Tabla 4 para lechuga.





**Tabla 2:** Largo individual (mm) del epicotilo de las plantas de trigo que crecieron en el agua control y en las concentraciones de Silflame.

Tratamiento		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control	R1	41	36	55	47	45	45	44	41	43	27
	R2	51	55	50	60	45	52	58	64	34	-
	R3	45	59	64	67	47	64	55	-	-	-
10 g/L	R1	58	61	55	55	43	52	60	26	55	-
	R2	58	50	50	38	54	49	43	49	27	15
	R3	45	55	47	26	51	49	55	49	60	40
20 g/L	R1	45	55	53	60	38	45	57	15	-	-
	R2	51	45	44	42	55	45	20	45	12	-
	R3	43	36	46	54	25	62	32	35	-	-
40 g/L	R1	31	27	22	30	25	20	22	10	-	-
	R2	11	20	25	15	12	21	24	-	-	-
	R3	24	20	18	13	22	24	21	23	27	-
<b>Largo promedio epicotilos (mm)</b>		<b>Control</b>			<b>10 g/L</b>			<b>20 g/L</b>		<b>40 g/L</b>	
		<b>49,8</b>			<b>47,4</b>			<b>42,4 *</b>		<b>21,1 *</b>	

\* Diferencia estadísticamente significativa con el control.

**Trigo:** El crecimiento promedio de los epicotilos de las plántulas de trigo expuestas a 20 g/L fue solo un 5 % inferior al crecimiento registrado en el control, pero la diferencia es significativa (Anexo 4). El crecimiento promedio en Silflame a 40 g/L fue un 42,4 % inferior al control.

**Tabla 3:** Largo individual (mm) y promedio del grupo de epicotilos de las plantas de rábano que crecieron en las distintas concentraciones del producto evaluado.

Tratamiento		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control	R1	30	25	27	24	24	25	25	10	5	3
	R2	34	22	25	27	20	18	30	22	21	19
	R3	24	25	25	32	15	25	17	15	21	-
10 g/L	R1	22	25	32	20	15	17	22	-	-	-
	R2	15	22	27	11	30	30	30	15	15	9
	R3	21	15	19	27	16	25	24	17	27	20
20 g/L	R1	15	18	20	23	23	24	22	10	4	-
	R2	23	27	13	14	7	17	20	5	7	-
	R3	30	12	26	18	20	13	14	15	25	20
40 g/L	R1	15	16	23	15	12	12	11	8	11	-
	R2	10	10	20	10	11	5	-	-	-	-
	R3	9	13	10	10	9	11	5	-	-	-
<b>Largo promedio epicotilos (mm)</b>		<b>Control</b>			<b>10 g/L</b>			<b>20 g/L</b>		<b>40 g/L</b>	
		<b>21,9</b>			<b>21,0</b>			<b>17,3 *</b>		<b>11,6 *</b>	

\* Diferencia estadísticamente significativa con el control.



**Rábano:** El crecimiento de los epicotilos de las plántulas de rábano expuestas a 10 g/L no es afectado. Con exposición a 20 y 40 g/L el crecimiento es un 79 % y 53 % del registrado en el control, respectivamente. Las diferencias son estadísticamente significativas (Anexo 5).

**Tabla 4:** Largo individual (mm) y promedio del grupo de epicotilos de las plantas de lechuga que crecieron en las distintas concentraciones del producto evaluado.

Tratamiento		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Control	R1	6	8	5	7	5	4	3	-	-	-	
	R2	8	6	6	7	10	5	6	5	3	-	
	R3	5	9	8	3	4	3	3	3	4	4	
10 g/L	R1	5	8	6	3	4	7	5	5	4	4	
	R2	10	6	5	6	5	9	8	10	4	3	
	R3	8	6	5	7	7	5	5	4	5	5	
20 g/L	R1	5	5	6	6	5	6	3	5	5	6	
	R2	5	4	3	3	6	6	5	5	5	5	
	R3	3	5	5	8	6	3	4	2	5	2	
40 g/L	R1	3	4	2	-	-	-	-	-	-	-	
	R2	5	4	-	-	-	-	-	-	-	-	
	R3	5	4	2	2	4	-	-	-	-	-	
<b>Largo promedio epicotilos (mm)</b>		<b>Control</b>			<b>10 g/L</b>			<b>20 g/L</b>			<b>40 g/L</b>	
		<b>5,4</b>			<b>5,8</b>			<b>4,7</b>			<b>3,5 *</b>	

\* Diferencia estadísticamente significativa con el control.

**Lechuga:** El crecimiento de plántulas de lechuga solo es afectado significativamente (Anexo 6) en la concentración de 40 g/L, donde el largo promedio es un 65 % de lo medido en el control.

### CONCLUSIONES:

- La germinación no fue afectada significativamente por Silflame excepto en la concentración de 40 g/L a la cual lechuga alcanzó un tamaño de un 40 % de lo medido en el control.
- El crecimiento del epicotilo de las tres especies es menor a 40 g/L que en el control, alcanzando entre 42 y 65 % del largo del control. A 20 g/L el efecto inhibitorio de Silflame sobre el crecimiento de estas especies es despreciable.

*Jeannette Silva*  
Jeannette Silva  
Investigador responsable



*Dr. Enrique Bay-Schmith B.*  
Dr. Enrique Bay-Schmith B.  
Director





**ANEXO 1. Análisis estadístico de la germinación de semillas de trigo. Significancia de las diferencias entre control y concentraciones.**

Germinación x Silflame

File: TrSil

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	4.667	1.556	1.556
Within (Error)	8	8.000	1.000	
Total	11	12.667		



Critical F value = 4.07 (0.05,3,8)

Since  $F < \text{Critical } F$  FAIL TO REJECT  $H_0$ : All equal



DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2  $H_0$ :Control=Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Control	8.667	8.667		
2	10	9.667	9.667	-1.225	
3	20	8.333	8.333	0.408	
4	40	8.000	8.000	0.816	

Dunnett table value = 2.88 (2 Tailed Value,  $P=0.05$ ,  $df=8,3$ )

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2  $H_0$ :Control=Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	Control	3			
2	10	3	2.352	27.1	-1.000
3	20	3	2.352	27.1	0.333
4	40	3	2.352	27.1	0.667



**ANEXO 2.** Análisis estadístico de la germinación de semillas de rábano. Significancia de las diferencias entre control y concentraciones.

Rábano x germinación

File: raSi

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	9.667	3.222	2.148
Within (Error)	8	12.000	1.500	
Total	11	21.667		



Critical F value = 4.07 (0.05,3,8)

Since  $F < \text{Critical } F$  FAIL TO REJECT  $H_0$ : All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2  $H_0$ :Control=Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	CONTROL	9.667	9.667		
2	10	9.000	9.000	0.667	
3	20	9.333	9.333	0.333	
4	40	7.333	7.333	2.333	

Dunnett table value = 2.88 (2 Tailed Value,  $P=0.05$ ,  $df=8,3$ )

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2  $H_0$ :Control=Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	CONTROL	3			
2	10	3	2.880	29.8	0.667
3	20	3	2.880	29.8	0.333
4	40	3	2.880	29.8	2.333



**ANEXO 3. Análisis estadístico de la germinación de semillas de lechuga. Significancia de las diferencias entre control y concentraciones.**

Lechuga x Germinacion

File: LeSi Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	90.667	30.222	25.905
Within (Error)	8	9.333	1.167	
Total	11	100.000		

Critical F value = 4.07 (0.05,3,8)

Since  $F > \text{Critical } F$  REJECT  $H_0$ : All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2  $H_0$ :Control=Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Control	8.667	8.667		
2	10	10.000	10.000	-1.512	
3	20	10.000	10.000	-1.512	
4	40	3.333	3.333	6.047	*

Dunnett table value = 2.88 (2 Tailed Value,  $P=0.05$ ,  $df=8,3$ )

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2  $H_0$ :Control=Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	Control	3			
2	10	3	2.540	29.3	-1.333
3	20	3	2.540	29.3	-1.333
4	40	3	2.540	29.3	5.333





ANEXO 4. Crecimiento de plántulas de trigo. Diferencia entre control y concentraciones.

Crecimiento x Silflame  
File: E:\TREP. Transform: NATURAL LOG(Y)



ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	12.009	4.003	38.627
Within (Error)	100	10.363	0.104	
Total	103	22.373		



Critical F value = 2.76 (0.05,3,60)  
Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

BONFERRONI t-TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Control	3.886	49.769		
2	10	3.819	47.414	0.772	
3	20	3.679	42.400	2.300	*
4	40	3.010	21.125	9.616	*

Bonferroni t table value = 2.16 (1 Tailed Value, P=0.05, df=100,3)

BONFERRONI t-TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	Control	26			
2	10	29	8.334	16.7	2.355
3	20	25	8.614	17.3	7.369
4	40	24	8.696	17.5	28.644





ANEXO 5. Crecimiento de plántulas de rábano. Diferencia entre control y concentraciones.

Rabano x crecimiento

File: Raep

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	1580.923	526.974	13.120
Within (Error)	102	4096.851	40.165	
Total	105	5677.774		



Critical F value = 2.76 (0.05, 3, 60)

Since  $F > \text{Critical } F$  REJECT  $H_0$ : All equal



BONFERRONI t-TEST

TABLE 1 OF 2

$H_0$ : Control < Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 Control	21.897	21.897		
2	10 21.037	21.037	0.507	
3	20 17.321	17.321	2.725	*
4	40 11.636	11.636	5.726	*

Bonferroni t table value = 2.16 (1 Tailed Value,  $P=0.05$ ,  $df=100,3$ )

BONFERRONI t-TEST

TABLE 2 OF 2

$H_0$ : Control < Treatment

GROUP IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 Control	29			
2	10 27	3.657	16.7	0.860
3	20 28	3.623	16.5	4.575
4	40 22	3.867	17.7	10.260



ANEXO 6. Crecimiento de plántulas de lechuga. Diferencia entre control y concentraciones.

Lechuga x crecimiento  
File: Leep Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	46.419	15.473	5.208
Within (Error)	92	273.321	2.971	
Total	95	319.740		

Critical F value = 2.76 (0.05, 3, 60)  
Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

BONFERRONI t-TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 Control	5.385	5.385		
2 10	5.800	5.800	-0.899	
3 20	4.733	4.733	1.410	
4 40	3.500	3.500	2.938	*

Bonferroni t table value = 2.16 (1 Tailed Value, P=0.05, df=90,3)

BONFERRONI t-TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 Control	26			
2 10	30	0.998	18.5	-0.415
3 20	30	0.998	18.5	0.651
4 40	10	1.386	25.7	1.885