



7527/254.18d

INFORME DE ESTUDIO

EMPRESA SOLICITANTE

CESAR SALLÉN ROSELLÓ

COORDINADOR

ILERSAP-Servei Anàlisi el Pla, S.L.U.
Crta LL-11, km 9
C/ Ivars d'Urgell, nº 65
Edifici Neoparc 2, 4^a Planta
25191 Lleida

MATERIAL QUE PRESENTA

1 Muestra con referencia: ECOFIRE (Ref. interna: 032/18).

FECHA DE RECEPCIÓN DEL MATERIAL

01/06/18

ESTUDIO QUE SOLICITA

Determinación de la Ecotoxicidad en plantas, según OCDE 208.

FECHA DE INICIO

20/06/18

FECHA DE FINALIZACIÓN

11/07/18

Los resultados de este informe conciernen exclusivamente a las muestras, productos o materiales entregados al LABORATORIO e indicados en el apartado "material que presenta".

La reproducción de este informe solo es autorizada si se hace en su totalidad. Este documento consta de 10 páginas de las cuales 8 son anexos.

7527/254.18d

El estudio consiste en la determinación de la inhibición de la germinación de semillas y la inhibición de la biomasa en las especies *Brassica rapa*, *Lolium perenne* y *Trifolium pratense*, que ha sido llevada a cabo según el MO 09 basado en el método OCDE 208 (2006) (Terrestrial Plant test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test).

Los resultados obtenidos son los siguientes:

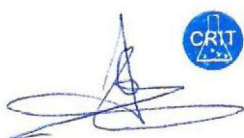
Inhibición de la Germinación			
Muestra (Ref)	CE ₅₀ (g/Kg ss)* 21 días		
	<i>B.rapa</i>	<i>L.perenne</i>	<i>T.pratense</i>
ECOFIRE	73,45	67,8	62,15

Inhibición de la Biomasa			
Muestra (Ref)	CE ₅₀ (mg/Kg ss)* 21 días		
	<i>B.rapa</i>	<i>L.perenne</i>	<i>T.pratense</i>
ECOFIRE	20,34	44,07	54,24

*: g/Kg suelo seco

Terrassa 12 de Julio de 2018

Responsables del Informe




Centre de Recerca i
Innovació en Toxicologia
UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA



Fdo. Dra. M^a Carmen Riva
Directora del CRIT (UPC)

Fdo. Dra. Bettina Vallès
Dirección Técnica

ANEXOS

7527/254.18d

INDICE:

1. Resumen
2. Objetivo del Estudio
3. Sustancia / Producto de Ensayo
4. Organismo de Ensayo
5. Condiciones de ensayo
6. Desarrollo del ensayo
7. Resultados
8. Conclusión
9. Validación
10. Referencias

1.-Resumen

Se ha realizado el Estudio de la inhibición de la germinación y la inhibición de la biomasa en plantas de la muestra referenciada **ECOFIRE**.

Para la Determinación de la inhibición de la germinación y la inhibición de la biomasa en plantas se han utilizado las especies *Lolium perenne*, *Brassica rapa* y *Trifolium pratense* y se ha seguido el método operativo MO 09 basado en el método OCDE 208 (2006) (Terrestrial Plant test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test).

Las especies *Lolium perenne*, *Brassica rapa* y *Trifolium pratense* han sido sometidas a las muestras de ensayo a las concentraciones: 0,3, 1, 3, 10 y 30% (3,39, 11,3, 33,9, 113 y 339 g/kg) suelo seco. La duración total del ensayo ha sido de 21 días.

El resultado obtenido en este ensayo indica que la muestra **ECOFIRE** presenta un valor de CE₅₀ (21d) para la Germinación igual a 6,5% (73,45 g/kg), 6,0% (67,8 g/kg) y 5,5% (62,15 g/Kg) para *Brassica rapa*, *Lolium perenne* y *Trifolium pratense* respectivamente.

El resultado obtenido en este ensayo indica que la muestra **ECOFIRE** presenta un valor de CE₅₀ (21d) para la Biomasa igual a 1,8% (20,34 g/kg), 3,9% (44,07 g/kg) y 4,8% (54,24 g/Kg) para *Brassica rapa*, *Lolium perenne* y *Trifolium pratense* respectivamente.

2.-Objetivo del Estudio

El objetivo del estudio es investigar los efectos de las muestras de ensayo en las especies *Lolium perenne*, *Brassica rapa* y *Trifolium pratense* a partir de los 14 días después de la germinación del 50% de los controles.

3.-Sustancias de ensayo

Muestra con referencia: ECOFIRE

4.-Organismo de ensayo

- Especie monocotiledónea: *Lolium perenne* (cv. Tove)
- Especies dicotiledóneas: *Brassica rapa* (cv. Oleifera)
Trifolium pratense (cv. Marino)
- Procedencia: Semillas comerciales *Lolium perenne*: Semillas Fitó
Brassica rapa: Semillas Batlle
Trifolium pratense: Semillas Batlle

5.-Condiciones de ensayo

- Duración del ensayo: mínimo 14 días después de la germinación del 50% de los controles
- Descripción del diseño de ensayo:
 - Recipientes de ensayo: macetas de plástico
 - Volumen de cultivo utilizado: 200 g de suelo húmedo
- Disolución del producto de ensayo: se ha mezclado la muestra en las proporciones establecidas con el suelo artificial.
- Suelo artificial según las directivas OCDE con la siguiente composición:
 - Turba 30%
 - Suelo natural 70%
 - pH: 7,6

6.-Desarrollo del ensayo:

- N° de concentraciones de ensayo: 11 + Control
- Concentraciones de ensayo: 0,3, 1, 3, 10 y 30%.
- N° de réplicas por concentración: 4
- N° de semillas por réplica: 5
- Preparación de las concentraciones de ensayo: Se han preparado cada una de las concentraciones añadiendo la cantidad de muestra al suelo y se ha homogenizado. Finalmente se ha añadido la cantidad de agua necesaria para obtener la humedad adecuada y se han llenado los recipientes de ensayo.
- Sala de ensayo con luz y temperatura controlada.
- Fotoperiodo: 16 h luz/8 h oscuridad
- Intensidad de luz: 5000-6000 Lux
- Temperatura de incubación: $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$
- Humedad relativa: 70%

7.-Resultados

- Número y porcentaje de semillas germinadas en el ensayo con la muestra **ECOFIRE** en relación al Control (Tablas 1, 2 y 3):

Concentración		<i>Brassica rapa</i>							
		4d		7d		14d		21d	
%	g/kg ss	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Control		17:20	85	20:20	100	20:20	100	20:20	100
0,3	3,39	15:20	75	19:20	95	20:20	100	20:20	100
1	11,3	13:20	65	17:20	85	18:20	90	20:20	100
3	33,9	7:20	35	9:20	45	13:20	65	14:20	70
10	113	1:20	5	3:20	15	9:20	45	10:20	50
30	339	0:20	0	0:20	0	0:20	0	0:20	0

Concentración		<i>Lolium perenne</i>							
		4d		7d		14d		21d	
%	g/kg ss	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Control		18:20	90	20:20	100	20:20	100	20:20	100
0,3	3,39	18:20	90	20:20	100	20:20	100	20:20	100
1	11,3	15:20	75	17:20	85	18:20	90	18:20	90
3	33,9	7:20	35	10:20	50	12:20	60	14:20	70
10	113	0:20	0	2:20	10	6:20	30	8:20	40
30	339	0:20	0	0:20	0	0:20	0	0:20	0

Concentración		<i>Trifolium pratense</i>							
		4d		7d		14d		21d	
%	g/kg ss	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Control		19:20	95	20:20	100	20:20	100	20:20	100
0,3	3,39	17:20	85	19:20	95	19:20	95	20:20	100
1	11,3	12:20	60	15:20	75	17:20	85	18:20	90
3	33,9	8:20	40	10:20	50	12:20	60	14:20	70
10	113	0:20	0	1:20	5	2:20	10	3:20	15
30	339	0:20	0	0:20	0	0:20	0	0:20	0

Peso medio de las plantas germinadas (peso fresco de las plantas) y Porcentaje en relación al Control (**Tabla 4**) en el ensayo con la muestra **ECOFIRE**:

Concentración (%)	<i>B.rapa</i>		<i>L.perenne</i>		<i>T.pratense</i>	
	mg	%	mg	%	mg	%
Control	166,8	-	32,6	-	17,7	-
0,3	163,0	2,3	32,5	0,3	18,2	-2,7*
1	106,7	36,0	28,1	13,6	14,1	20,7
3	37,9	77,3	19,8	39,2	12,7	28,6
10	14,4	91,4	10,0	69,4	6,4	64,1
30	0	100	0	100	0	100

*: presenta más biomasa que el control

La Concentración de producto de ensayo **ECOFIRE** que produce la inhibición de la Germinación al 50% después de 21 días (CE₅₀ (21d)) de exposición, ha sido determinada mediante regresión lineal, obteniendo el siguiente resultado:

*B. rapa*CE₅₀ (21d) = 6,5% (73,45 g/kg))

*L. perenne*CE₅₀ (21d) = 6,0% (67,8 g/kg)

*T. pratense*CE₅₀ (21d) = 5,5% (62,15 g/kg)

La Concentración de producto de ensayo **ECOFIRE** que produce la inhibición de la Biomasa al 50% después de 21 días (CE₅₀ (21d)) de exposición, ha sido determinada mediante regresión lineal, obteniendo el siguiente resultado:

*B. rapa*CE₅₀ (21d) = 1,8% (20,34 g/kg))

*L. perenne*CE₅₀ (21d) = 3,9% (44,07 g/kg)

*T. pratense*CE₅₀ (21d) = 4,8% (54,24 g/kg)

Observaciones

No se observan alteraciones morfológicas en ninguna de las concentraciones de ensayo.

8.-Conclusión

La muestra de ensayo **ECOFIRE** influye tanto en la Germinación de las semillas como en la Biomasa en las 3 especies. No obstante, en ninguna de las 3 especies se han observado alteraciones morfológicas en las concentraciones de ensayo.

Este producto no presenta toxicidad por debajo de la concentración 11,3 g/Kg (11.300 mg/Kg) en la especie *B. rapa*, y por debajo de la concentración 3,39 g/Kg (3.390 mg/Kg) en las especies *L. perenne* y *T. pratense*.

9.-Validación

El criterio de validación para este ensayo es:

- Que germinen más del 70% de las semillas.
- La supervivencia de las semillas germinadas de los Controles es superior al 90%.

10.-Referencias

1. OECD Guideline for Testing of Chemicals 208 (2006): “Terrestrial Plant test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test”
2. MO 09 “Test de Toxicidad de corta duración en plantas”