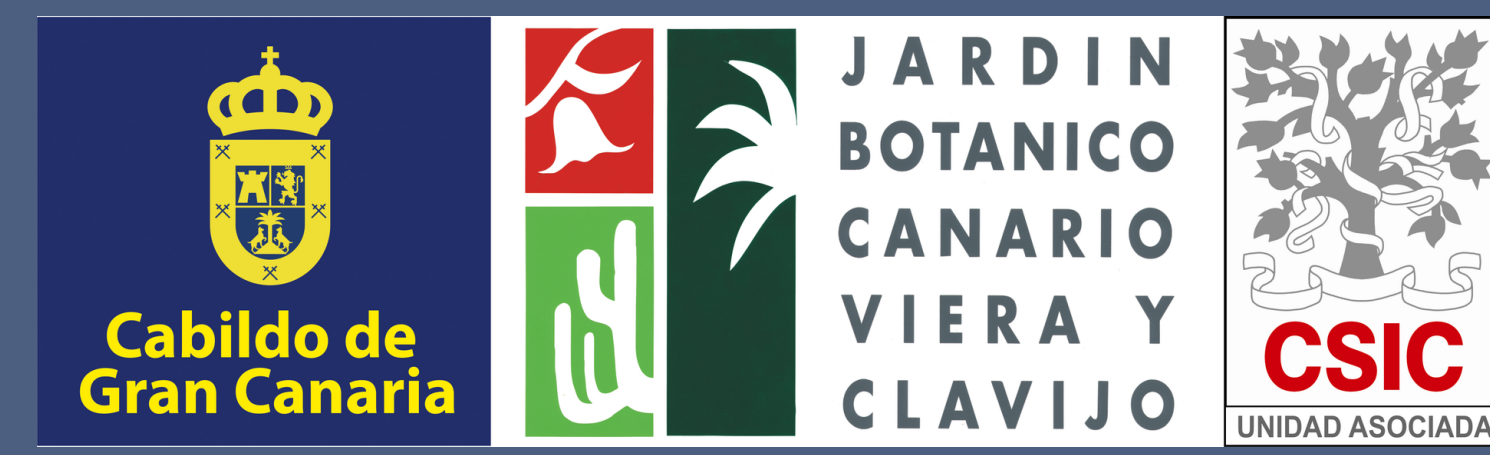


APLICACIÓN DEL TEST DE RESAZURINA COMO PRUEBA DE VIABILIDAD DE SEMILLAS EN DOS ESPECIES AUTÓCTONAS CANARIAS: *PAROLINIA ARIDANAE* SANTOS-GUERRA Y *PERIPLOCA LAEVIGATA* AITON



Banco de Germoplasma. Jardín Botánico Canario Viera y Clavijo- Unidad asociada CSIC. Cabildo de Gran Canaria. AP de correos 14 de tafira alta, 35017 Las Palmas de Gran Canaria, España.
magonzalezp@grancanaria.com

Yaritzta Velázquez Acosta, Ainhoa Medina Álvarez, Nereida Cabrera García y Miguel Ángel González Pérez

INTRODUCCIÓN

Los bancos de semillas son esenciales para la conservación *ex situ* de la biodiversidad genética. Estas instituciones son especialmente relevantes en el caso de las especies amenazadas. En este sentido, es primordial que se establezcan protocolos de germinación de las especies y que las condiciones de almacenamiento sean las ideales para garantizar la viabilidad de la semilla. Sin embargo, las pruebas de germinación, así como las pruebas de viabilidad (test de tetrazolio, prueba de corte, rayos X), consumen considerable tiempo, recursos y en algunos casos destruyen el material. La técnica de test de resazurina descrita hace una década para especies de Brassicaceae supone un método simple, rápido y no destructible (Min & Kang, 2011; Mohammed et al., 2019). En este trabajo se aplicó el test de resazurina en dos especies autóctonas canarias: *Parolinia aridanae* y *Periploca laevigata*.

PAROLINIA ARIDANAE es una especie endémica de La Palma, la cual se localiza en zonas bajas de la costa suroeste. Es una de las especies de *Parolinia* más escasas del archipiélago, ya que se encuentra en peligro de extinción. La floración es abundante y suelen producirse en invierno, fructificando a finales de la primavera.

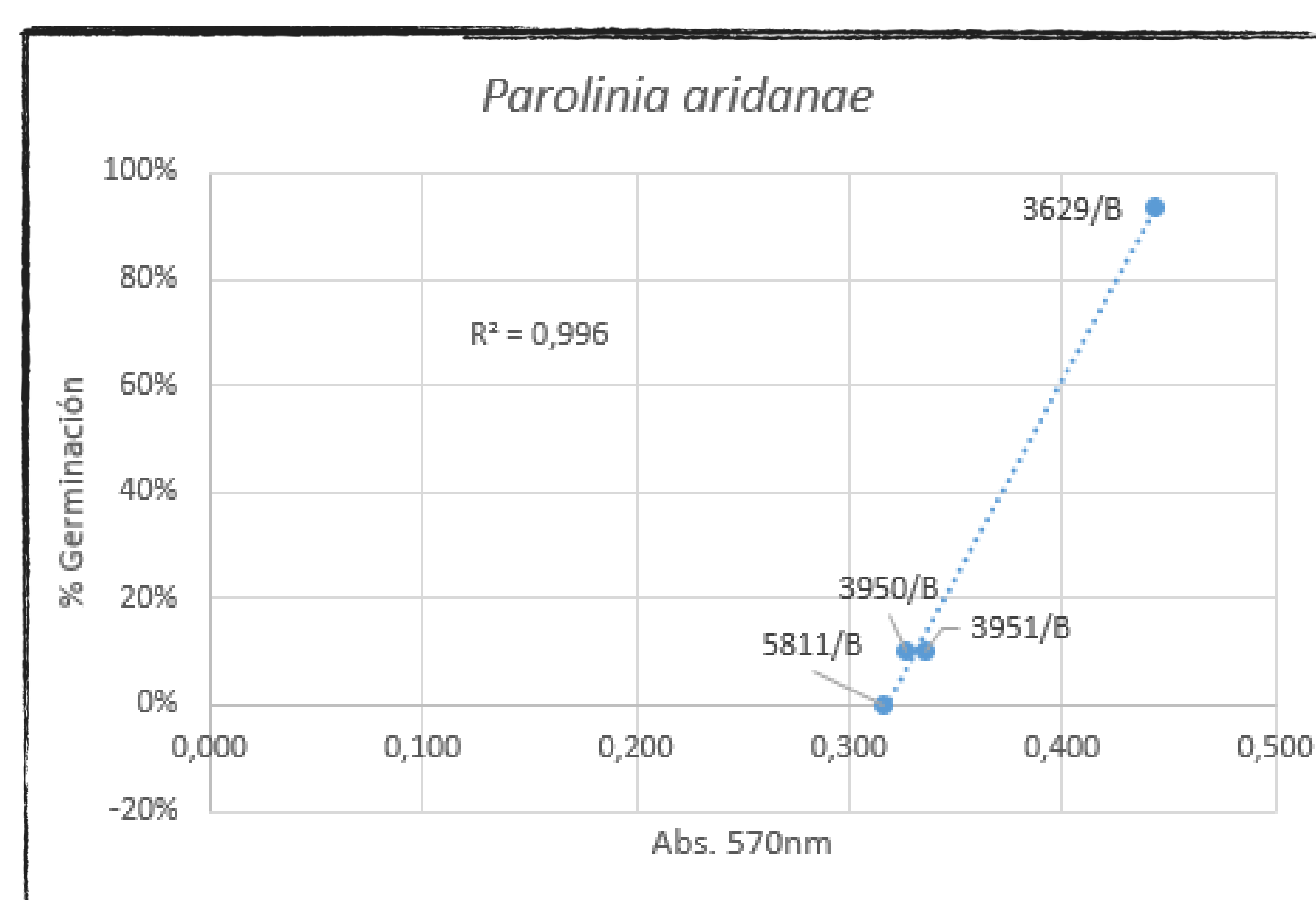


PERIPLOCA LAEVIGATA es una especie nativa que se encuentra en todas las Islas Canarias. Florece de septiembre a mayo.

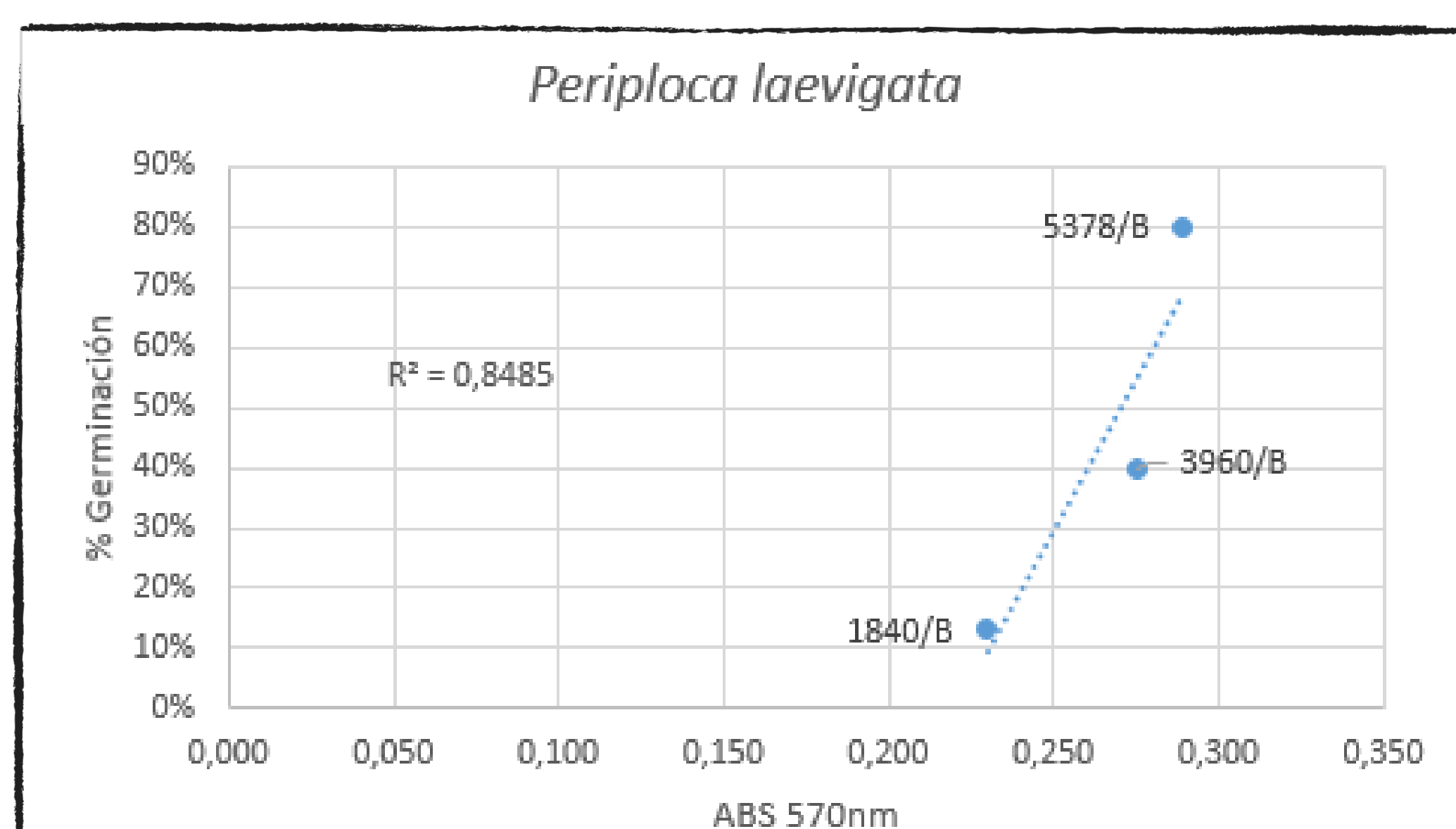


RESULTADOS

En los resultados obtenidos para la *P. aridanae*, el porcentaje de germinación varió de 0% (5811/B) a 93% (3629/B). La absorbancia media (570nm) registrada después de 4 horas a 35°C fue de 0.443 (3629/B), 0.336 (3950/B), 0.327 (3951/B) y 0.316 (5811/B).

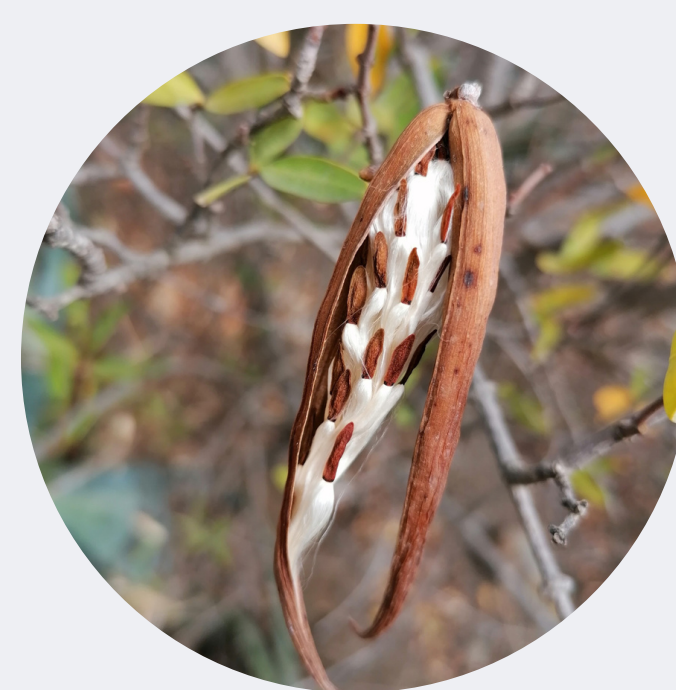


En los resultados obtenidos para la *P. laevigata*, el porcentaje de germinación varió de 3% (3961/B) a 80% (5378/B). La absorbancia media (570nm) registrada después de 4 horas a 35°C fue de 0.289 (5378/B), 0.275 (3960/B) y 0.230 (1840/B).



MATERIAL Y MÉTODOS

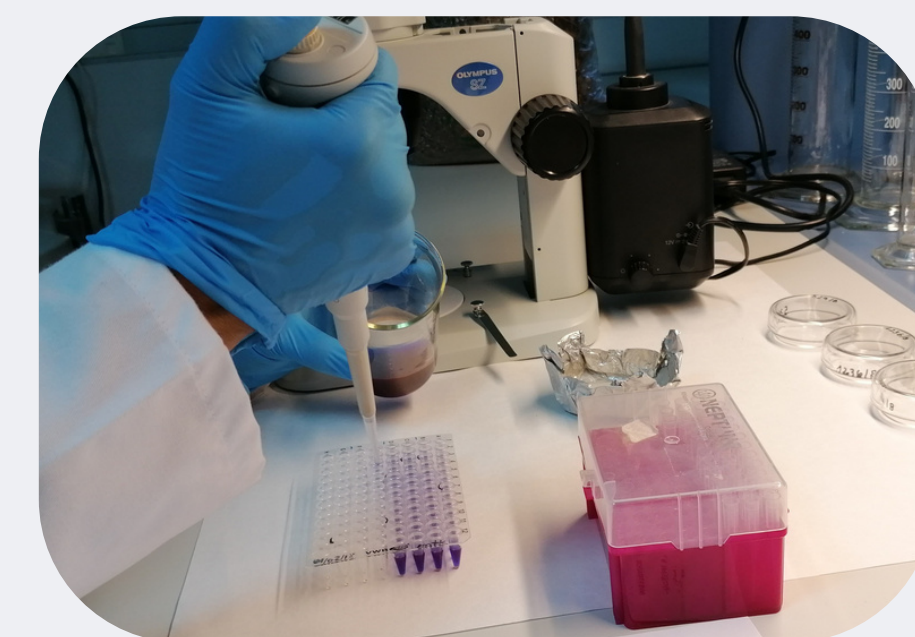
Se seleccionaron cuatro accesiones de *P. aridanae* con diferente historial de almacenamiento en el Banco de Semillas del Jardín Botánico Viera y Clavijo (JBCVC); una accesión de 2011 siguiendo el protocolo (3629/B); una almacenada desde 1996 en el banco (3950/B); otra muestra de 1996 (3951/B) y otra accesión de 1999 (5811/B).



Para el análisis de viabilidad de la *P. laevigata* se recurrió a material almacenado en el JBVC procedente de diferentes localidades de poblaciones naturales que han sido recolectadas en 1995 (3660/B), 1999 (1840/B) y 2015 (5378/B).

TEST DE VIABILIDAD

Las diferentes accesiones ensayadas, se colocaron individualmente en una placa de PCR de 96 pocillos que contenían 150 µL de reactivo resazurina en cada pocillo. La placa se incubó a 35°C durante 4 horas. El color visual y la absorbancia fueron evaluados en 570nm con un espectrofotómetro (Heales, MB-580, Shenzhen Huisong Technology Development Co.,Ltd).



GERMINACIÓN

Parolinia aridanae

Las semillas fueron sometidas a un pretratamiento con lejía al 1% y germinadas en agar al 1%. Las réplicas fueron incubadas a 22°C bajo fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad. El porcentaje de germinación final fue registrado después de un periodo de incubación de 4 semanas, dichos porcentajes fueron del 93% (3629/B), 10% (3950/B), 10% (3951/B) y 0% (5811/B).



Periploca laevigata



Se realizó una prueba de germinación con 3 réplicas de 20 semillas por accesión, que fueron pretratadas con lejía al 1% y sumergidas en agua durante 24 horas, siendo sembradas en agar al 1% en placas de Petri. Las semillas se incubaron a 22°C bajo un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad. Los porcentajes finales de germinación registrados después de 30 días fueron del 80% (5378/B), 40% (3960/B) y 13% (1840/B).

CONCLUSIONES

Concluimos que estos análisis han demostrado la fiabilidad del test de viabilidad de resazurina mostrando una alta correlación entre el porcentaje de germinación y la absorbancia 570nm ($R=0,996$, $R=0,8485$). Esta es una evidencia de la efectividad de la prueba de resazurina en una especie autóctona de canarias. Los resultados obtenidos animan a ensayar este test en otras especies como una herramienta efectiva para el monitoreo de las colecciones de semillas de los Bancos de Germoplasma.

Las condiciones de muestreo y almacenamiento siguiendo el protocolo del Banco de Semillas (JBCVC) mostraron un alto potencial para producir plántulas a partir de semillas almacenadas durante largos periodos, lo cual es esencial para crear una colección *ex situ* que contribuye a la conservación de la biodiversidad. El test de resazurina puede ser un método efectivo para determinar la viabilidad de las semillas, pero este debe ser estandarizado para cada uno de los taxones objeto de estudio.

REFERENCIAS

- Min, T.G. & Kang, W.S. 2011. A Simple, Quick and Nondestructive Method for Brassicaceae Seed Viability Measurement with Single Seed Base Using Resazurin. Horticult Environ Biotechnol. 52 (3): 240-245.
- Mohammed, S., Bhattacharya, S. & Mummenhoff, K. 2019. Dead or Alive : Simple, Nondestructive, and Predictive Monitoring of Seedbanks. Trends Plant Sci. 24 (8): 783-784.