

Pruebas de viabilidad en semillas y otros órganos

Elizabeth Arnález Serrano
Harlyn Ordóñez Cruz

La sal de tetrazol es un indicador de oxidación-reducción y ha sido establecido para el desarrollo del color rojo no difuso, en el tejido, es el resultado de la reducción del reactivo por la acción enzimática, mide la actividad de las deshidrogenasas. La prueba de tetrazol es una prueba para la actividad particular de sistemas enzimáticos. (Clemensson, 1994; Delouche *et al.*; 1971; Joslin & Henderson, 1984).

La reacción con tetrazol ocurre dentro de las células y el pigmento no es difuso; existe una delineación entre el tejido que respira (viable) y el que no respira (no viable), el primero adquiere un color rojo, mientras que el segundo mantiene su color natural. La velocidad de reacción se ve afectada por pH, temperatura, presión atmosférica y concentración (Delouche *et al.*; 1971).

La prueba con tetrazolium también se usa principalmente para probar la viabilidad en semillas, pero también se puede usar en polen, raíces y tallos. En polen es un método rápido y fácil de correlacionar con la viabilidad de este; sin embargo, el polen de diferentes especies no es igualmente sensible a las pruebas con TTC. Granos de polen disecados pueden dar falsos resultados positivos (Dafni, 1992).

En raíces se usa para estudiar la vitalidad de las raíces finas desde dos puntos de vista: en relación con el envejecimiento y como un indicador de estrés ambiental en el caso de exceso de nitrógeno. El uso de TTC en el crecimiento de raíces finas a diferentes niveles de nitrógeno, indica un posible aumento en la actividad de la deshidrogenasa con el aumento en nitrógeno (Clemensson, 1994).

El objetivo de la práctica es conocer la técnica de tinción con tetrazol, la cual se basa en la actividad de enzimas respiratorias para diagnosticar la viabilidad de las semillas de diferentes plantas, así como para determinar la presencia de tejidos vivos en otros órganos de las plantas.

Las semillas se pueden seccionar con una navajilla antes de la tinción. Las soluciones de TTC deben prepararse con agua destilada, no se debe preparar más solución de la necesaria para dos semanas. Aunque la solución es muy estable, frecuentemente se contamina en los períodos largos de almacenamiento. Cuando no se use la solución debe guardarse en refrigeración y en oscuridad. La exposición a la luz intensa origina la reducción del reactivo y el desarrollo de color rojo en la solución.

Es necesario acondicionar las semillas antes de la tinción, generalmente dejándolas en imbibición determinado tiempo, según la especie y las características de la cubierta seminal, ya que esto no solo facilita el corte, sino que da un color más limpio y claro; en caso necesario las semillas pueden disecarse en seco (Delouche *et al.*; 1971), o extraer los embriones directamente.

Para los ensayos con semillas, estas se colocaron en remojo por unas 24 horas, en caso de semillas con cubierta seminal dura; se escarificaron y, posteriormente se colocaron en una solución de cloruro de 2,3, 5 trifenil tetrazol (TTC, tetrazol), al 1 %, por más de 4 horas a 30 °C y protegidas de la luz, con papel aluminio.

Se tomó una muestra de tallo y una de raíz (ambos de plántulas), se hizo cortes longitudinales de los dos órganos y se colocaron inmediatamente en la solución de tetrazol al 1% (Clemensson, 1994; Klotz & DeWolfw, 1965).

Se colocó anteras en 1% de TTC con una solución de sacarosa al 20%. Para observar la viabilidad, se cuenta solamente los granos de polen coloreados de rojo, principalmente en el área central, debido a que la coloración tiende a disminuir en los márgenes (Dafni, 1992).

Después de 24 horas de estar los diferentes órganos o estructuras de la planta en TTC, a temperatura ambiente y bajo

oscuridad (se envolvieron los frascos en papel aluminio), se sacaron y se determinó el porcentaje de viabilidad.

Para determinar el porcentaje de viabilidad y tejido vivo, se deben emplear patrones diferentes, según la especie y sus características morfológicas.

Bibliografía

- Clemensson, A. 1994. Triphenyltetrazolium chloride as an indicator of fine-root vitality and environmental stress in coniferous forest stands: Applications and imitations. *Plant and soil* 159: 297-300.
- Dafni, A. 1992. *Pollination Ecology-A practical approach*. Oxford University Press, USA. 250 pp.
- Delouche, J.; Still, W.; Raspet, M. & Lienhard, M. 1971. Prueba de viabilidad de la semilla con tetrazol. Centro Regional de Ayuda Técnica. Agencia para el Desarrollo Internacional (AID). México. 71 pp.
- Joslin, J. & S. Henderson. 1984. The determination of percentages of living tissue in Woody fine root samples using triphenyltetrazolium chloride. *Forest Science* 30(4): 965-970.
- Klotz, L. & T. DeWolfe. 1965. Tetrazolium an indicator of extent of infection in *Phytophthora* root rot of citrus. *Plant diseases reporter* 49(5): 423-424.
- Moore, R.P. (ed.) 1985. *Handbook on tetrazolium testing*. The International Seed Testing Association (ISTA). Switzerland. 99 pp.