

REPOBLANDO NUESTRAS COSTAS: PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE LA FANEROGAMA MARINA *Cymodocea nodosa* (Cymodoceae)

M. Zarranz Elso^{1,2}, N. González Henríquez², P. García-Jiménez¹, R.R. Robaina¹



1. INTRODUCCIÓN



¹ Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
² Instituto Canario de Ciencias Marinas



Cymodocea nodosa (Ucria) Ascherson es una fanerógama marina que crece en fondos arenosos bien iluminados, dando lugar a las praderas submarinas (sebadales), hábitat que tiene una importante función ecológica y repercusiones económicas, por su beneficio para las poblaciones de peces. Las actividades humanas en el litoral amenazan a las comunidades de fanerógamas marinas, lo que ha llevado a la regresión de estos ecosistemas y al detrimento de la calidad de sus aguas^{1,2}. De forma natural, la especie sólo responde mediante la propagación vegetativa a estas alteraciones, ya que, estudios sobre la germinación de las semillas en *Cymodocea nodosa* muestran que, en relación con el alto número de frutos generalmente encontrados en el sedimento, sólo son detectadas un bajo número de plántulas con un rizoma desarrollado^{3,4}, y la viabilidad natural de estas nuevas plántulas es, además, baja⁵. Ante tal situación natural, el empleo de técnicas de micropropagación puede contribuir a las labores que se realizan para la restauración o reimplantación de sebadales. Habiéndose comprobado que existen limitaciones para la propagación *in vitro* a partir de fragmentos de la planta (ej. rizoma)⁶, se ha pensado en incrementar la capacidad germinativa, venciendo i) la dormancia que presenta la semilla, aclimatando en acuarios y transplantando al mar nuevas plántulas, como primera medida, y ii) la inducción de embriogénesis somática, como segunda medida estratégica que asegure la provisión permanente de nuevas plántulas.

2. MATERIAL Y METODOS.

Germinación *in vitro* mediante tratamiento hiposalino

Se recogieron semillas de un sebadal situado al sureste de la isla de Gran Canaria, las cuales se sembraron después de esterilizadas con hipoclorito en recipientes tipo Magenta TM (Sigma-Aldrich, Co Fig 2.1) con arena y agua de mar esterilizada a salinidades de 36 (control), 18, 11 y 5 psu con los nutrientes del medio de Provasoli⁷. Para cuantificar el grado de desarrollo después de la germinación se utilizó un índice semicuantitativo de 0 a V, según el estado de desarrollo de la plántula:



0



I



II



III



IV



V



2.1



2.2

Aclimatación y trasplante al mar

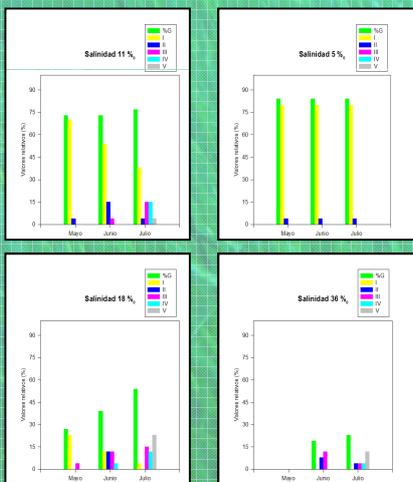
Para la aclimatación se empleó un acuario de 160m³ (Fig 2.2), con una profundidad de arena de 10 cm y flujo continuo de agua de mar. Cada 15 días se tomaron medidas de la longitud de la hoja más larga y de la más corta desde su inserción con la semilla; se contó el número de raíces y de haces foliares, y se midió la longitud de la raíz más larga. Los datos se presentan en forma de tasas de crecimiento en intervalos de tiempo de 15 días (periodos I, II y III). Tras mes y medio de aclimatación, se llevaron las plántulas al mar, y se realizó el seguimiento durante los meses siguientes (Fig 2.3). Se calculó la supervivencia en términos de pigmentación y apariencia saludable y la tasa de crecimiento en intervalos de 30 días.



2.3

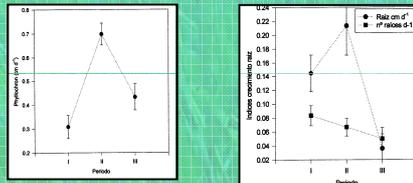
3. RESULTADOS Y DISCUSION

I) Germinación de semillas (Figuras 3.1)



Porcentaje de germinación según los diferentes tratamientos de salinidad (36%, 18%, 11% y 5%) y estado de desarrollo de las plántulas en % según el índice de crecimiento propuesto, durante los meses de mayo, junio y julio.

II) Fase de Aclimatación (Figuras 3.2)



Desarrollo foliar
Phyllochron (mediasz) de la hoja más larga en los tres periodos de crecimiento de la aclimatación.

Desarrollo radicular
+ Tasa de crecimiento de la raíz (mediasz) ■ Tasa de emisión de raíces (mediasz)

III) Trasplante al mar (Tabla 3.3)

	plántulas	Supervivencia	Phyllochron (cm ² d ⁻¹)
Sept.	20	100%	-
Oct.	17	85%	-0.62±0.02
Nov.	17	85%	-0.06±0.01

Nº de plántulas y % de supervivencia de las plántulas trasplantadas y tasa de crecimiento o phyllochron (cm²d⁻¹ de la hoja larga)

CULTIVOS *IN VITRO* DE EXPLANTOS DE SEMILLA

	N	ASÉPTICOS	ELONGACION (mm)	REGENER. DE HOJA (%)	"Browning" (%)
HIPOCOTILO	200	-	0.96	10	45.5
EMBRION	37	-	0.11	2.7	70
HIPOCOTILO + EMBRION	23	-	1.03	0	4
COTILEDON	89	-	0.88	2	60

Cultivo de explantos de semilla de distinta procedencia y tamaño. Medio PES (Provasoli, 1968), fotoperíodo 18:6, 20 ± 2°C and 30 μmol photons m⁻² s⁻¹.



4. CONCLUSIONES

I) Germinación de semillas (Figs 3.1)

En conjunto, se obtuvieron un 59,2% de germinaciones teniendo en cuenta todos los tratamientos. De forma general, fueron los tratamientos de baja salinidad los que aparentemente rompieron la dormancia de la semilla (70-80% a 5 y 11 psu, respectivamente). Sin embargo los tratamientos de menor salinidad no favorecen el posterior desarrollo de las plántulas ya que muy pocas llegan a los mayores estadios de desarrollo. De esta forma, el mejor tratamiento para inducir la germinación y posterior propagación es el de 18 psu, ya que todas las semillas germinadas con este tratamiento (54%) crecen bien y llegan pronto al estado V de desarrollo.

II) Fase de Aclimatación (Figs 3.2)

Respecto a la aclimatación las plántulas crecieron durante un mes y medio en los acuarios, observándose un período "expansivo" durante la segunda quincena, con tasas de crecimiento máximas durante el Periodo II de hasta 0,70cm²d⁻¹ en las hojas y 0,21cm²d⁻¹ en las raíces, que permite el trasplante a partir de los 30 días de iniciar la aclimatación. Curiosamente, los tratamientos de salinidad que tanto afectaron a la germinación de las semillas y al desarrollo de la plántula en los primeros estadios de crecimiento, no arrastran estos efectos a la fase de aclimatación.

III) Trasplante al mar (Tabla 3.3)

Todas las plántulas que llegaron a la fase de aclimatación pudieron llevarse al mar, donde permanecieron tres meses. Si aparentemente la supervivencia fue elevada en los meses siguientes al trasplante (85%), las tasas de crecimiento negativas observadas revelaron que la viabilidad de estas plántulas está limitada por la acción de herbívoros.

Perspectivas

Siguiendo estas técnicas, nuestro laboratorio provee actualmente con 300 a 400 plántulas trimestrales que están siendo destinadas a la repoblación de sebadales de Canarias. Esperamos aumentar el rendimiento con la embriogénesis somática inducida *in vitro* a partir de explantos de hipocotilo, cuando se venzan los problemas de asépsia y ennegrecimiento de los explantos.

5. REFERENCIAS

- (1) Dennison W.C., Orth R.J., Moore K.A., Stevenson J.C., Carter V., Kollar S., Bergstrom P.W., and Batluk R.A. (1993). *BioScience* 43(2): 86-94. (2) Marbá N, Duarte C, Cebrián J, Gallegos M E, Olesen B and Sand-Jensen K. (1996). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 137:203-213 (3) Duarte C.M. (1995). *Ophelia* 41: 87-112 (4) Reyes J., Sansón M., Alfonso-Carrillo J. (1995 a). *Aquat. Bot.* 50: 171-180 (5) Reyes J., Sansón M., Alfonso-Carrillo J. (1995 b). *Bot. Mat.* 38: 457-465. (6) García-Jiménez, P., Navarro, E., Santana, C., Luque, A., Robaina R.R. (2006). *Aquat. Bot.* 84: 79-84 (7) Provasoli, L. (1968) In *Cultures and Collection of Algae*, (Watanabe, A. & Hattori, A., editors.), 63-67. Japanese Society of Plant Physiologists, Tokyo.

Agradecimientos: Gobierno de Canarias, beca predoctoral a MZE y Plan de Restauración de Sebadales (NGH, investigadora principal)