

EL BANCO DE ADN DE LA FLORA CANARIA: CREACIÓN, PROGRESOS Y LÍNEAS FUTURAS DE DESARROLLO

JULI CAUJAPÉ-CASTELLS, RUTH JAÉN MOLINA Y NEREIDA CABRERA GARCÍA

Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo". Ap. de correos 14 de Tafira Alta, 35017 Las Palmas de Gran Canaria.

Recibido: Octubre 2006

Palabras clave: Banco de DNA, Flora Canaria, investigación, conservación, códigos de Barras

Keywords: DNA Bank, Canarian Flora, research, conservation, DNA barcodes

RESUMEN

El Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo" (JBCVC) fue el jefe de fila del proyecto "BIOMABANC: Bancos de Biodiversidad de la Flora Macaronésica", en el que participaron como socios la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, el Jardín Botánico de Madeira y la Universidad dos Açores. Este proyecto fue aprobado en 2004 y estuvo financiado por el programa de iniciativa comunitaria INTERREG IIIB Açores-Madeira-Canarias 2000-2006. Entre otras líneas de acción dentro de este proyecto, el JBCVC fue responsable de poner a punto un banco de ADN para poblaciones naturales de plantas vasculares de Macaronesia, con especial énfasis en la representación de los endemismos de las Islas Canarias y de taxones filogenéticamente cercanos distribuidos en localidades continentales con vínculos Florísticos con Macaronesia. En este trabajo explicamos la organización y filosofía del banco de ADN y damos unos primeros datos acerca de los progresos realizados hasta el momento y de las líneas de acción futura que estamos ya implementando.

SUMMARY

The Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo" (JBCVC) is coordinated the project "BIOMABANC: Biodiversity banks of the Macaronesian Flora", in which the University of Las Palmas de Gran Canaria, the Jardim Botânico da Madeira and the Universidade dos Açores participated as stakeholders and collaborators. This project was approved in 2004 and was funded by the program of community initiative INTERREG IIIB Açores-Madeira-Canarias 2000-2006. Among other important lines of action, the JBCVC was responsible for setting up a DNA bank of natural populations of Macaronesian plants, with a special focus in the representation of Canarian endemics and of phylogenetically related taxa that are distributed in mainland or insular regions that bear Floristic links with Macaronesia. We set forth the organisation and philosophy of our DNA bank and offer the first data describing ongoing progresss and the future lines of action that are already being implemented.

INTRODUCCIÓN

La diversidad genética es uno de los tres niveles básicos de estructuración de la biodiversidad, y la comprensión de sus patrones de variación en el espacio y en el tiempo ha representado hasta el momento el pilar maestro sobre el que se apoyan la conservación de los organismos y los intentos más exitosos para paliar su erosión genética. La diversidad genética se expresa en la naturaleza en forma de organismos, pero reside físicamente en la secuencia de la molécula de ADN. Por lo tanto, una manera directa y efectiva de conservar la biodiversidad es conservando la molécula transmisora de la información hereditaria. La creación de Bancos de ADN de poblaciones naturales de organismos Macaronésicos facilita el acceso directo a la secuencia completa del ADN de los taxones almacenados y permite el uso a corto y largo plazo de la información que esta contiene para estrategias de investigación y gestión de la biodiversidad.

La creación de un banco de ADN moderno no puede consistir solamente en organizar una infraestructura que asegure la adquisición de muestras, su almacenamiento y su eventual distribución, sino que debe contener también instrumentos de caracterización de origen y de evaluación de calidad y representatividad de las muestras respecto de las poblaciones naturales donde fueron recolectadas. Aunque estos objetivos implican una diversidad de acciones, todos ellos pueden ser abordados (y en muchos casos, guiados) usando la información que contiene la molécula de ADN.

El ADN contiene muchos tipos diferentes de información. El más conocido (y, por cierto, el menos interesante para nuestros fines) reside en los genes. Como ya casi todo el mundo sabe, los genes son secuencias de la molécula de ADN que contienen la información necesaria para que el organismo desarrolle todas sus funciones: hay genes del crecimiento, genes que nos permiten digerir los alimentos, genes que nos predisponen a ciertas enfermedades, genes que se controlan a sí mismos y genes que controlan a otros genes.

La secuencia de nucleótidos que contienen los genes es el resultado de millones de años de evolución biológica, que ha dejado en el camino a las infinitas variantes que son posibles, pero inviables o poco competitivas para la vida en la tierra, y ha seleccionado solamente a las que “funcionan” mejor. Como para cada función génica solamente existen unas pocas secuencias de nucleótidos que son funcionales, las variaciones de la secuencia de un mismo gen en diferentes organismos vivos son mínimas; si la variación fuera grande, lo más probable sería que el gen no se expresara adecuadamente y que la gran mayoría de organismos tuvieran dificultades para sobrevivir: simplemente no nacerían o vivirían durante un tiempo insuficiente para dejar descendencia.

Esta relativa constancia de las secuencias de nucleótidos en los genes garantiza la supervivencia, pero es muy poco informativa sobre las relaciones entre los organismos o sobre su historia evolutiva. El gen de la hemoglobina de un caballo es prácticamente idéntico al de un humano, a pesar de los múltiples eslabones evolutivos que separan a estas dos especies.

Pero no todo en el ADN son genes. En la inmensa longitud del material hereditario existen regiones que no son responsables de ninguna función biológica imprescindible y cuyas secuencias de nucleótidos varían mucho más que las de

los genes. Como investigadores de la evolución de la vida en la tierra, esta variabilidad es nuestra principal herramienta de trabajo, ya que de ella puede extraerse información sobre las relaciones filogenéticas entre los linajes de organismos, sobre su identidad individual o sobre su historia evolutiva.

Por el contenido informativo de la molécula de ADN, un banco de material genético de poblaciones naturales de plantas vasculares puede también concebirse como una colosal biblioteca sobre diferentes aspectos de la biodiversidad vegetal que está esperando a ser descifrada (poco a poco) por la investigación. Por este motivo, creemos que el banco de ADN del JBCVC no debe estar dedicado al simple almacenamiento ordenado de material genético, sino que ha de ser también un dinamizador de la investigación de la diversidad vegetal macaronésica a través de la información contenida en la molécula del material genético.

OBJETIVOS

En cuanto se refiere a contenido de muestras, el objetivo principal del Banco de ADN del JBCVC es incluir representantes de todas las poblaciones posibles (un mínimo de 3 individuos por población) de los componentes de la flora canaria. En una primera fase, estamos priorizando géneros o secciones endémicas canarias y/o macaronésicas para, en una segunda fase, abarcar especies que, aunque no son endémicas, sí pueden ser importantes para entender el origen y la evolución de la flora canaria. Asimismo, estamos incluyendo especies recolectadas por investigadores del centro en áreas geográficas que mantienen conexiones florísticas con Macaronesia (Norte de África, Península Ibérica, Irán, etc) y que probablemente suministraron diversidad biológica al archipiélago canario en el pasado.

En cuanto a nuestra filosofía de trabajo, el objetivo del Banco de ADN es contribuir al conocimiento de la diversidad vegetal Canaria a través de la propia investigación del Jardín Canario o ayudando a otras instituciones de investigación a llevar a cabo sus proyectos. Como "Banco", pensamos que una de nuestras misiones principales ha de consistir en invertir los fondos de material genético disponibles en acciones de investigación y colaboración científica. A nuestro modo de ver, esta es la estrategia óptima de crecimiento, ya que nos permite conciliar de forma natural las dos dimensiones de nuestra actividad: los muestreos que se llevan a cabo para cada uno de los proyectos de investigación con los que contribuimos a conocer un poco más la complejidad de la biodiversidad vegetal canaria enriquecen nuestras colecciones residentes y les dan un sentido científico.

METODOLOGÍA

La creación y desarrollo del Banco de ADN desde la adquisición de las muestras hasta su uso en proyectos de investigación sigue tres fases metodológicas, que comprenden la adquisición de muestras, la extracción de su ADN y la gestión del material genético residente en nuestro banco.

Adquisición de muestras

Actualmente, las muestras del Banco de ADN del JBCVC provienen de tres fuentes principales:

1. Plantas cultivadas en el Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo"

Aunque idealmente el muestreo y la recolección de las hojas es conveniente hacerlo en las poblaciones naturales de las especies elegidas, una alternativa perfectamente válida es la recolección de hojas de especímenes cultivados en los Jardines Botánicos, siempre y cuando su taxonomía esté perfectamente determinada y se conozca la procedencia u origen. La base de datos de JBCVC contiene 56 plantas nativas de Canarias, 39 endemismos de Macaronesia, 142 endemismos de Canarias y 237 endemismos insulares (11 del El Hierro, 25 del la Palma, 26 del la Gomera, 56 de Tenerife, 8 de Fuerteventura, 11 de Lanzarote y 98 de Gran Canaria) que cumplen estos criterios. Para recolectar estas plantas, el personal asociado al Banco de ADN realiza salidas periódicas de muestreo al Jardín Canario y a sus viveros.

En casos especiales en los que los especímenes no están cultivados en el JBCVC ni pueden ser muestreados fácilmente en la naturaleza, nos planteamos la posibilidad de germinar las semillas guardadas en el Banco de Semillas del JBCVC para representarlas.

2. Proyectos de investigación en curso en el JBCVC

Las numerosas iniciativas de investigación en genética molecular de poblaciones, filogenia molecular y conservación genética que dirige el laboratorio de Biodiversidad Molecular del JBCVC, así como las colaboraciones de este laboratorio con los otros departamentos del Centro, están representando una fuente muy sustancial de las muestras para el Banco de ADN. Los responsables de diferentes departamentos del Jardín Canario, son investigadores principales en proyectos financiados por instituciones nacionales e internacionales que incluyen el Ministerio Español de Educación y Ciencia, la Iniciativa Comunitaria INTERREG IIIB, el Cabildo de Gran Canaria, y la Dirección General de Universidades e Investigación del Gobierno de Canarias. Además, las colaboraciones de investigación con otras instituciones (la ULPGC, la ULL, el JB de La Orotava, los Jardines Botánicos de la AIMJB, la Universidad de Teherán, la Università degli Studi di Palermo, etc), nos dan acceso a muestras de las áreas de Macaronesia y del cuarto norte del continente Africano (incluyendo áreas continentales e insulares de la cuenca mediterránea y la región Irano-Turaniana). Estas muestras incluyen los intercambios con la Universidad de Açores y con el Jardín Botánico de Madeira, nuestros socios no Canarios en BIOMABANC. También en el contexto del proyecto BIOMABANC, el personal del Banco de ADN y del departamento de Flora Amenazada del JBCVC está efectuando salidas al campo periódicas en Gran Canaria para representar la Flora de la isla.

3. Instituciones dedicadas a la Conservación

Dentro de las numerosas instituciones con las que colaboramos, las que se hallan en las Islas Canarias son especialmente importantes en dos aspectos fundamentales para los objetivos del Banco de ADN. Primero, porque el personal

técnico de estas instituciones conoce de primera mano la problemática de la flora canaria. Y segundo, porque el personal que trabaja en estas instituciones es experto en géneros endémicos canarios y, en muchos casos, en la investigación de aspectos relacionados con su biología.

Por este motivo, hemos buscado la colaboración de los cuatro Parques Nacionales canarios (P.N de La Caldera de Taburiente, P.N. de Garajonay, P.N. de Las Cañadas del Teide y P.N de Timanfaya) y de las Unidades Insulares Medio Ambientales (U.I.M.A, dependientes de los Cabildos Insulares). Actualmente, el personal de los P.N del Teide y de Garajonay, así como de las U.I.M.A de Tenerife y la Gomera está colaborando en la recolección de material vegetal para su posterior procesamiento e incorporación al Banco de ADN del JBCVC.

Los Jardines Botánicos de la Asociación Ibero-Macaronésica (AIMJB) son centros con los que el Banco de ADN del JBCVC también ha establecido colaboraciones. De los 22 Jardines Botánicos de la AIMJB, ya están colaborando con nosotros cuatro de la Península Ibérica (JB de Córdoba, JB de La Cortijuela y Hoya de Pedraza, JB de Gibraltar) y el JB de Sóller de Baleares. Todos ellos están situados en áreas geográficas donde se distribuyen parientes próximos a los taxones canarios.

Otros centros internacionales de la conservación que representan una fuente de muestras sustancial para el banco de ADN son centros del Sur del Mediterráneo que es donde se cree se encuentra el origen de la flora canaria. Se han establecido contactos con Centros en Egipto (Plant Biodiversity Education and Conservation), en Irán (Universidad de Tehrán), en Sudáfrica (National Biodiversity Institute) y en Londres (Royal Botanic Gardens, Kew). Debido a los vínculos existentes entre nuestra flora y la flora del Norte de África estamos haciendo contactos para captar algún colaborador adecuado en diferentes países de dicha zona (especialmente Marruecos y Mauritania).

Todas las instituciones que colaboran con el muestreo reciben el material necesario para llevarlo a cabo, un certificado de colaboración y unas indicaciones de la metodología del muestreo para la posterior extracción del ADN. Cuando el Manual del Banco de ADN del JBCVC (CAUJAPÉ CASTELLS, JAÉN MOLINA Y CABRERA GARCÍA, en prep.) esté editado, recibirán también una copia.

Procesamiento de muestras

Las muestras de hoja son recolectadas según las instrucciones que aparecen en CAUJAPÉ CASTELLS, JAÉN MOLINA Y CABRERA GARCÍA (en prep.), utilizándose bolsas de plástico, con cierre hermético, que contienen gel de sílice para conservar las hojas en condiciones óptimas antes de la extracción de su ADN (CHASE y HILLS, 1991). Puesto que el proceso de obtención del ADN es más dificultoso en las muestras que no se secan totalmente después de 24 horas (MARK CHASE, comunicación personal), las plantas suculentas solamente se han muestreado cuando estamos seguros de que la extracción de su ADN se puede realizar el día siguiente al de la recolección. Las hojas grandes se trocean antes de introducirlas en las bolsas para acelerar la desecación de la muestra.

Siempre que la cantidad de muestra lo permite, el aislamiento del ADN se realiza con el método de extracción CTAB 2X a gran escala, aunque en algunos casos (es decir, en muestras de plantas para las que solo disponemos de unas pocas hojas pequeñas), sólo ha sido posible hacer micropreparaciones. Las

plantas que pertenecen a géneros que pueden ocasionar dificultades durante la extracción del ADN son procesadas usando CTAB 4X o un kit comercial para maximizar el rendimiento de la extracción. La concentración y la calidad de todo el ADN depositado se estima usando un biofotómetro y un gel de agarosa, respectivamente. Aunque actualmente no podemos realizar la limpieza del ADN con cloruro de cesio, esperamos poder emprenderla a corto plazo.

Todas las muestras residentes en el Banco de ADN son incluidas en una base de datos. El registro para su almacenamiento se realiza a partir de un código arbitrario, siguiendo la secuencia numérica. Actualmente estamos desarrollando otro código asociado al linaje de cada planta muestreada (que será análogo al código ISBN de los libros, pero referido a los taxones que integran la flora Canaria) para propósitos más generales. La implementación de este último código aún está en desarrollo (porque requiere un trabajo de investigación y consenso entre diversos investigadores) y será el más útil para la recuperación y coordinación de muestras residentes en múltiples bases de datos referidas a diversos aspectos de la Flora Canaria (banco de semillas, banco de marcadores morfológico reproductivos, banco de saberes tradicionales, herbario, etc...).

Gestión de muestras

Más que una instalación dedicada al aislamiento, almacenamiento y eventual distribución de material genético de diversas procedencias geográficas, concebimos nuestro banco de ADN como un instrumento para contribuir a crear en Canarias las condiciones que fomenten proyectos de investigación multidisciplinarios sobre el origen, la diversificación y la conservación de la biodiversidad de la flora de Macaronesia. Atendiendo a esta filosofía, hemos propiciado interacciones más intensas entre nuestra institución y las instituciones colaboradoras con el banco de ADN, de forma que se consoliden participaciones conjuntas en iniciativas internacionales para la creación de una red de Bancos de ADN y para la investigación y la conservación científica, de nuestra herencia natural común, a través de la información contenida en la molécula de ADN. Esta filosofía de trabajo crea una retroalimentación de muestras en nuestro banco, puesto que el establecimiento de colaboraciones internacionales y el desarrollo de proyectos de investigación exigen la recolección de nuevos especímenes para la extracción de su material genético que enriquecen las colecciones del banco.

De acuerdo con el Convenio sobre la Diversidad Biológica, las muestras de ADN de las plantas distribuidas en enclaves no canarios residirán en nuestras instalaciones solamente en fideicomiso, de modo que su uso o distribución no podrá ser autorizado sin el conocimiento y el consentimiento previo de su región de origen. También, en caso que las instituciones colaboradoras de estas regiones consideraran la creación de un banco de ADN, el Jardín Botánico Canario se compromete formalmente (mediante acuerdo firmado) a enviar todas las muestras de esa área almacenadas hasta entonces, a excepción de un duplicado que guardaríamos por razones de seguridad.

Cuando las muestras de ADN son solicitadas desde otras instituciones, las alícuotas se limpian con columnas comerciales y se envían, con el único e importante condicionante de que deben ser empleadas exclusivamente en proyectos de investigación. Todos los envíos realizados desde el Jardín Canario han ido acompañados de un documento en el que se acepta el compromiso a

hacer un uso responsable y sin ánimo de lucro de las muestras. Cuando el envío se realiza a centros internacionales, se incluye en el paquete de envío un certificado fitosanitario para evitar problemas de aduana. En este documento se indica la ausencia de productos tóxicos en las muestras y por tanto su completa inocuidad.

Las muestras se envían en alícuotas de 100 µl dentro de tubos de rosca con una etiqueta en la que se incluyen los siguientes datos:

- a) Nombre del taxón.
- b) Código del vial asignado en el Banco de ADN.
- c) Logo del Banco de ADN.

Junto con las muestras se adjunta una hoja con la información relacionada a la recolección y datos de cuantificación y purificación del ADN.

Aparte del uso del material almacenado en el banco de ADN para los proyectos de investigación que contribuyen a una comprensión mejor de la diversidad florística de Canarias y de Macaronesia, en estos primeros momentos de funcionamiento del Banco de ADN del JBCVC se le ha dado prioridad a la Iniciativa del Consorcio del Código de Barras de La Vida (CBOL), que fue establecida para estimular la creación de una base de datos con secuencias bien identificadas que sirva como una librería universal para la comparación de especies a nivel mundial.

Este Consorcio internacional está constituido hasta el momento por 46 instituciones de las que el Jardín Canario, a través del Laboratorio de Biodiversidad Molecular, es por el momento el único representante español. En la reunión del CBOL celebrada en Londres en Febrero de 2004, se eligieron dos regiones para iniciar las investigaciones de códigos de barras de plantas: *psbA-trnH* (ADNcp) e *ITS* (ADNn).

RESULTADOS

Primeras cifras del Banco de ADN

Aproximadamente un total de 21 instituciones están ya colaborando activamente con el Banco, ya sea en calidad de socios del proyecto BIOMABANC, en el asesoramiento logístico o en la recogida de muestras para extracción del ADN. En la Tabla 1 mostramos los nombres de dichas instituciones y de las personas al frente de las mismas, así como el tipo de colaboración que mantienen con el Banco de ADN. Existen también personas que a título particular están colaborando en la recogida de muestras.

Para recabar la colaboración de las instituciones que no participan como socios en BIOMABANC, se remitieron 33 cartas por correo ordinario, además de establecer contactos telefónicos y vía correo electrónico.

A las siete instituciones que aceptaron colaborar, se les ha remitido todo el material necesario para llevar a cabo la recolección y conservación de las muestras. Esto ha supuesto el sellado y etiquetado de un total de 1.400 bolsas de muestreo y el envío de más de 5Kg de gel de sílice secante y de 1 Kg de gel indicador de humedad.

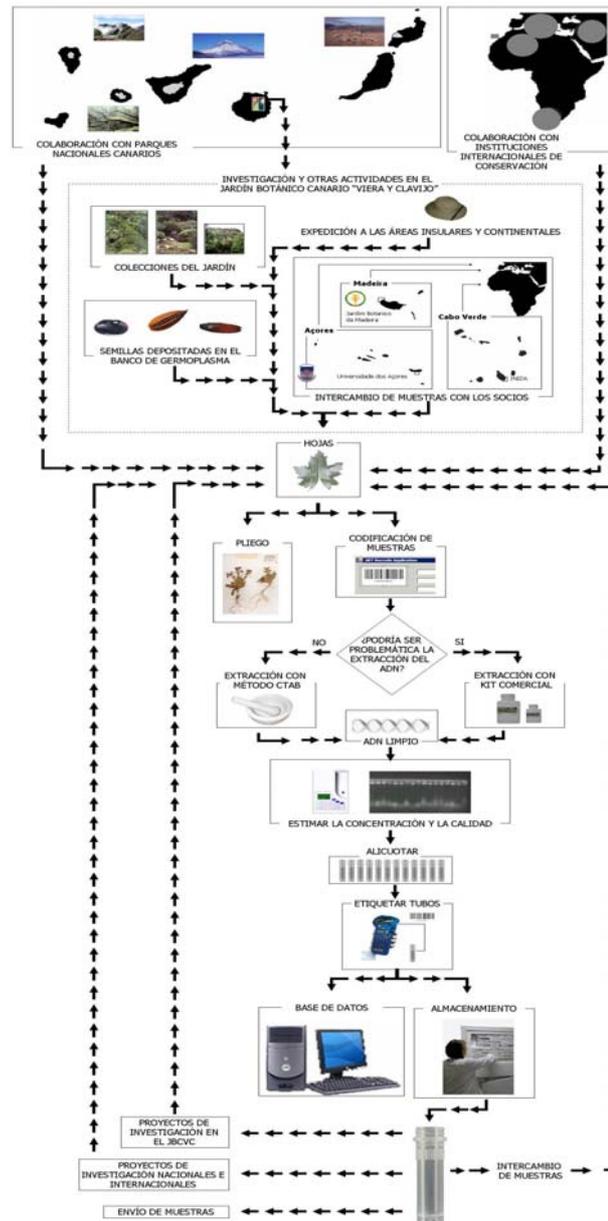


Figura 1. Diagrama de flujos que representa las fases de obtención, procesamiento y gestión de muestras del Banco de ADN de la Flora Canaria, residente en el Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo". La utilización de las muestras en proyectos de investigación que reviertan en un mejor conocimiento de la Flora Canaria crea una retroalimentación que enriquece el Banco de ADN con nuevas muestras, amplía las colaboraciones del Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo" con otros centros nacionales e internacionales y abre la posibilidad de nuevos proyectos.

PERSONAS DE CONTACTO	INSTITUCIÓN	COLABORACIÓN
Mark Chase, Edith Kapinos	Royal Botanic Gardens, Kew	Asesoramiento
Luis Silva, Mónica Moura, Maria Joao Bornes Teixeira Pereira	Universidade dos Açores	Socios
Roberto Jardim, Francisco Fernandes, Jose Carvalho	Jardín Botánico de Madeira	Socios
Pedro Sosa, Miguel Angel González Biólogos y técnicos del Jardín Botánico "Viera y Clavijo"	Departamento de Biología, ULPGC Cabildo de Gran Canaria	Socios Recolección
Joan Pedrola-Monfort, Alberto del Hoyo	Jardí Botànic Marimurtra	Recolección
José Luis Martín Esquivel	Gobierno de Canarias	Recolección
Ángel Fernández	Parque Nacional de Garajonay	Recolección
Manuel Durbán Villalonga	Parque Nacional del Teide	Recolección
Ángel Palomares	P.N de La Caldera de Taburiente	En negociación
Aurelio Centellas Bodas	Parque Nacional de Timanfaya	En negociación
Javier Seija Bayon	U.I.M.A de la Gomera.	Recolección
Cristóbal Rodríguez Piñero	U.I.M.A de Tenerife	Recolección
Miguel Ángel Morcuende	U.I.M.A. de la Palma	En negociación
Luis Pascual	U.I.M.A de Lanzarote	En negociación
Carlos Alba	U.I.M.A de Fuerteventura.	En negociación
Javier Armas	U.I.M.A del Hierro	En negociación
Stephan Scholz	Biólogo Autónomo (Fuerteventura)	Recolección
Rafael Serafín Almeida	Biólogo	Recolección
Arnoldo Santos, Alfredo Reyes	Jardín Aclimatación de la Orotava	Recolección
Núria Membrives	Jardín Botánico de Barcelona	Recolección
Jose María Irurita Fernández	Jardín Botánico de La Cortijuela	Recolección
Josep Lluís Gradaille, Magdalena Vicens	Jardín Botánico de Sóller	Recolección
Esteban Hernández Bermejo	Jardín Botánico de Córdoba	Recolección
John Cortés, Brian Lamb	Jardín Botánico de Gibraltar	Recolección

Tabla 1: Socios y Colaboradores del Banco de ADN del JBCVC hasta la fecha.

Además, realizamos un viaje a las islas de Tenerife y de La Gomera donde se presentó el proyecto BIOMABANC y la filosofía del Banco de ADN a los responsables de los Parques Nacionales y las Unidades Medioambientales de estas dos islas y se les agradeció a sus responsables su colaboración.

Asimismo, organizamos salidas al campo con periodicidad bisemanal para representar en el banco de ADN poblaciones de endemismos vegetales de la isla de Gran Canaria, para lo cual contamos con el apoyo de todo el personal investigador del Jardín Botánico Canario especializado en la conservación de la Flora Canaria.

Como consecuencia de todas estas actividades, actualmente el Banco de ADN del JBCVC cuenta con un total de 3.674 muestras (Tabla 2) correspondientes a 85 familias distintas que abarcan un total de 198 géneros, entre los que se encuentran algunos tan emblemáticos e importantes en la flora canaria como son *Dracaena*, *Phoenix*, *Argyranthemum*, *Sideritis*, *Sonchus*, *Echium* o *Crambe*. El conjunto de estos géneros representa alrededor de 470 especies que se distribuyen en 552 localidades distintas. En breve se va a elaborar un listado detallado de las muestras residentes en el Banco de ADN que estará a disposición de cualquier investigador interesado para eventuales peticiones de material.

GÉNERO	Nº SP	Nº POB	DISTRIBUCIÓN
<i>Adenocarpus</i>	1	1	IC
<i>Adiantum</i>	1	1	CV
<i>Aeonium</i>	5	10	IC, CV
<i>Ageratina</i>	1	1	IC
<i>Aichryson</i>	1	1	IC
<i>Aizoon</i>	1	1	IC
<i>Allagopappus</i>	2	4	IC
<i>Anagyris</i>	1	32	IC
<i>Androcymbium</i>	30	61	SA, IC, PI, NA, ME
<i>Andryala</i>	2	3	IC,MD
<i>Anthyllis</i>	1	3	MD
<i>Apollonias</i>	1	4	IC,MD
<i>Argyranthemum</i>	11	16	IC, MD
<i>Arisarum</i>	1	2	IC
<i>Armeria</i>	1	1	MD
<i>Artemisia</i>	4	13	IC, CV
<i>Arundo</i>	1	2	IC
<i>Asparagus</i>	13	28	IC, NA, MD, CV
<i>Asphodelus</i>	1	1	IC
<i>Asplenium</i>	2	4	MD,IC
<i>Asteriscus</i>	3	2	IC
<i>Astydamia</i>	1	1	IC
<i>Atractylis</i>	2	20	IC
<i>Atriplex</i>	1	2	IC
<i>Autonoe (Scilla)</i>	1	1	IC
<i>Babcockia</i>	1	4	IC
<i>Barlia</i>	1	5	IC
<i>Bencomia</i>	2	2	IC
<i>Bituminaria</i>	1	7	IC
<i>Blechnum</i>	1	2	IC,MD
<i>Bosea</i>	1	3	IC
<i>Brachypodium</i>	1	1	MD
<i>Bryonia</i>	1	1	IC
<i>Bupleurum</i>	3	10	IC, NA,MD
<i>Bystropogon</i>	2	6	IC,MD
<i>Cakile</i>	1	1	IC
<i>Campanula</i>	2	15	CV
<i>Camptoloma</i>	1	1	IC
<i>Campylanthus</i>	2	18	IC,CV
<i>Carduus</i>	2	2	IC,MD
<i>Carex</i>	1	1	IC
<i>Carlina</i>	3	10	IC,MD
<i>Cedronella</i>	1	6	IC,MD
<i>Celsia</i>	1	1	NA
<i>Centaurium</i>	1	1	CV
<i>Cerastium</i>	1	1	IC
<i>Ceropegia</i>	1	1	IC
<i>Chamaecytisus</i>	1	8	IC
<i>Cheirolophus</i>	4	3	IC

Tabla 2: Datos básicos sobre los géneros, Nº de Especies y de Poblaciones registrados actualmente en el Banco de ADN del JBCVC así como su distribución geográfica. IC: Islas Canarias; SA: Sudáfrica; NA: Norte de África; PI: Península Iberica; MD: Madeira; CV: Cabo Verde; ME: Mediterráneo

Tabla 2 (continuación)

GÉNERO	Nº SP	Nº POB	DISTRIBUCIÓN
<i>Christella</i>	1	2	MD,CV
<i>Chrysoprenanthes</i>	1	2	IC
<i>Cistus</i>	7	13	IC, NA
<i>Clethra</i>	1	2	MD
<i>Convolvulus</i>	7	14	IC, MD
<i>Conyza</i>	3	13	IC,CV
<i>Coronilla</i>	1	1	IC
<i>Crambe</i>	7	16	IC,
<i>Crotalaria</i>	1	1	CV
<i>Davallia</i>	1	4	IC,CV
<i>Dendriopoterium</i>	2	5	IC
<i>Descurainia</i>	6	9	IC
<i>Dicheranthus</i>	1	1	IC
<i>Diplazium</i>	1	1	MD
<i>Diploxaxis</i>	1	18	CV
<i>Dittrichia</i>	1	2	IC
<i>Dracaena</i>	4	57	CV,NA,IC,MD,GR,PI
<i>Drusa</i>	1	1	IC
<i>Dryopteris</i>	1	3	IC,MD
<i>Echium</i>	25	69	IC, CV, MD,PI
<i>Erica</i>	3	11	IC,MD
<i>Erigeron</i>	1	1	IC
<i>Erysimum</i>	3	8	IC,CV,MD
<i>Euphorbia</i>	5	14	PI,CV,MD
<i>Fagonia</i>	1	1	IC
<i>Ferula</i>	2	3	IC
<i>Festuca</i>	1	2	IC
<i>Foeniculum</i>	1	1	IC
<i>Forsskaolea</i>	1	6	CV
<i>Frankenia</i>	1	4	CV
<i>Galium</i>	1	1	MD
<i>Genista</i>	1	1	MD
<i>Geranium</i>	3	3	IC,MD
<i>Globularia</i>	2	12	IC,CV,MD
<i>Gonospermum</i>	2	2	IC
<i>Greenovia</i>	1	1	IC
<i>Heberdenia</i>	1	8	IC,MD
<i>Helianthemum</i>	6	14	IC,CV
<i>Helichrysum</i>	1	4	MD
<i>Heliotropium</i>	1	2	IC
<i>Hypericum</i>	3	13	IC,MD
<i>Ilex</i>	2	16	IC,MD
<i>Isoplexis</i>	1	3	IC
<i>Jasminum</i>	1	2	IC
<i>Juniperus</i>	2	3	IC,NA
<i>Kickxia</i>	2	14	IC,CV
<i>Kleinia</i>	1	3	IC
<i>Kunkeliella</i>	1	2	IC
<i>Launaea</i>	5	17	IC,CV
<i>Laurus</i>	2	6	IC, NA,MD
<i>Lavandula</i>	6	35	IC,CV
<i>Lavatera</i>	1	3	IC
<i>Limonium</i>	10	22	IC, NA,CV
<i>Lobularia</i>	2	9	IC,CV
<i>Lotus</i>	17	39	IC, NA,CV
<i>Luzula</i>	1	1	IC
<i>Lycium</i>	1	2	IC

Tabla 2 (continuación)

GÉNERO	Nº SP	Nº POB	DISTRIBUCIÓN
<i>Marcetella</i>	2	2	IC,MD
<i>Maytenus</i>	2	5	IC,MD
<i>Melanoselinum</i>	1	1	MD
<i>Micromeria</i>	7	24	IC,CV,MD
<i>Minuartia</i>	1	1	IC
<i>Monanthes</i>	1	1	IC
<i>Musschia</i>	2	2	MD
<i>Myrica</i>	2	3	IC,MD
<i>Neochamaelea</i>	1	3	IC
<i>Nepeta</i>	1	2	IC
<i>Notholaena</i>	1	1	CV
<i>Ocotea</i>	1	2	MD
<i>Odontites</i>	1	1	IC
<i>Olea</i>	3	7	IC,NA,MD
<i>Ononis</i>	2	2	IC
<i>Osyris</i>	1	2	NA
<i>Pancratium</i>	1	3	IC
<i>Papaver</i>	1	2	CV
<i>Parietalis</i>	1	1	CV
<i>Parietaria</i>	1	1	MD
<i>Parolinia</i>	1	1	IC
<i>Paronychia</i>	2	11	IC,CV
<i>Patellifolia</i>	1	1	IC
<i>Pericallis</i>	6	10	IC,MD
<i>Periploca</i>	2	11	IC,CV,NA
<i>Persea</i>	1	3	IC,MD
<i>Phagnalon</i>	3	11	IC,CV,MD
<i>Phillyrea</i>	1	3	IC
<i>Phoenix</i>	1	1	IC
<i>Phyllis</i>	1	7	IC,MD
<i>Picconia</i>	1	2	IC,MD
<i>Pimpinella</i>	1	1	IC
<i>Pinus</i>	1	4	IC
<i>Pistacia</i>	2	3	IC, NA
<i>Plantago</i>	3	8	IC,MD
<i>Plocama</i>	1	2	IC
<i>Polycarpaea</i>	4	15	IC,CV
<i>Polypodium</i>	1	1	IC
<i>Polystichum</i>	1	1	MD
<i>Psilotum</i>	1	1	CV
<i>Pteridium</i>	1	1	IC
<i>Pteris</i>	2	6	IC,CV,MD
<i>Pterocephalus</i>	1	2	IC
<i>Ranunculus</i>	1	1	IC
<i>Reseda</i>	1	1	IC
<i>Rhamnus</i>	3	6	MD,NA
<i>Rhus</i>	1	2	NA
<i>Rosa</i>	2	4	IC,MD
<i>Rubia</i>	2	5	IC,MD
<i>Rubus</i>	3	23	IC,MD,NA
<i>Rumex</i>	3	7	IC,MD
<i>Ruscus</i>	1	2	MD
<i>Ruta</i>	2	2	IC
<i>Salix</i>	1	3	MD
<i>Salvia</i>	3	13	IC,CV
<i>Sambucus</i>	2	2	IC,MD
<i>Saxifraga</i>	1	2	MD

Tabla 2 (continuación)

GÉNERO	Nº SP	Nº POB	DISTRIBUCIÓN
<i>Schizogyne</i>	1	2	IC
<i>Scrophularia</i>	1	5	MD
<i>Sedum</i>	1	2	MD
<i>Semele</i>	1	1	MD
<i>Senecio</i>	3	3	IC
<i>Sibthorpia</i>	1	2	MD
<i>Sideritis</i>	14	13	IC,MD,PI
<i>Sideroxylon</i>	3	4	IC,CV,MD
<i>Silene</i>	5	6	IC,MD
<i>Sinapidendron</i>	2	4	MD
<i>Smilax</i>	2	4	IC, NA
<i>Solanum</i>	2	5	IC
<i>Sonchus</i>	7	13	IC,CV,MD
<i>Stemmacantha</i>	1	3	IC
<i>Tamarix</i>	1	2	IC,CV
<i>Tamus</i>	1	1	IC
<i>Tanacetum</i>	1	1	IC
<i>Teline</i>	10	15	IC,CV,MD,NA
<i>Tetraena</i>	2	3	IC,CV
<i>Teucrium</i>	2	2	IC,MD
<i>Thymus</i>	1	1	MD
<i>Todaroa</i>	1	1	IC
<i>Tolpis</i>	3	16	IC,CV,MD
<i>Tornabenea</i>	1	15	CV
<i>Umbilicus</i>	1	1	IC
<i>Vaccinium</i>	1	3	MD
<i>Verbascum</i>	2	11	CV
<i>Viburnum</i>	1	6	IC,NA
<i>Vicia</i>	1	2	MD
<i>Viola</i>	4	6	IC,MD
<i>Visnea</i>	1	1	IC
<i>Wahlenbergia</i>	1	1	CV
<i>Withania</i>	3	6	IC,CV,NA
<i>Woodwardia</i>	1	2	MD
<i>Ziziphus</i>	1	1	CV

De cada uno de los taxones para los que se extrae ADN se están realizando 5 alicuotas de 100 µl ("stock" de distribución), 1 alicuota de 100 µl (depósito permanente del banco) y al menos 3 alicuotas de aproximadamente 1ml, que forman parte del stock que irá reemplazando las alicuotas que sean enviadas desde el stock de distribución.

Esto supone un total de 3ml de ADN por muestra y 9 alicuotas almacenadas en el Banco por cada muestra (actualmente disponemos de 9.264 alicuotas). Para alcanzar ese número de muestras, se han realizado un total de 1.964 extracciones de ADN.

En el breve período de tiempo desde el que el Banco de ADN se ha puesto en marcha, se han solicitado muestras desde siete instituciones diferentes (el Jardín Botánico de Kew, la Universidade dos Açores, la ULPGC, la Universidad de Zaragoza, la Universidad de British Columbia, La Universidad de Colorado State y la Universidad de Barcelona), enviándose un total de 56 alicuotas de 20 especies distintas.

El Banco de ADN para la Flora Canaria se presentó en el II Congreso de

Biología de la Conservación de Plantas en el Jardín Botánico del Atlántico durante los días 21-23 de Septiembre de 2005 (CABRERA *et al.* 2005), al que asistieron representantes de Universidades y de todas las instituciones de investigación españolas relacionadas con la conservación vegetal.

Actividades pendientes de ejecución

Los ultracongeladores de -80°C donde se preservarán las muestras, y los nuevos laboratorios de extracción y amplificación del ADN, adaptados al mucho mayor volumen de trabajo que implican los objetivos del Banco, se van a ubicar en el lugar donde se encuentra actualmente el Banco de Semillas del JBCVC. Las obras de acondicionamiento y mejora de dicha instalación se prevee que comenzarán en breve. Esta situación del Banco tiene la ventaja añadida de que está junto al Herbario del JBCVC, lugar donde se guardarán los pliegos testigo correspondientes a cada una de las muestras incorporadas al Banco.

PRESENTES Y FUTURAS APLICACIONES

Estamos preparando un manual del Banco de ADN (CAUJAPÉ CASTELLS, JAÉN MOLINA Y CABRERA GARCÍA, en prep.) que contiene todos los detalles técnicos necesarios para la recolección de hojas, la extracción de su material genético y su almacenamiento, así como nuestras estrategias de obtención y gestión de muestras. Pretendemos con ello que este manual constituya también una guía básica para instituciones dedicadas a la conservación biológica que estén interesadas en desarrollar un banco de ADN de la diversidad vegetal de sus regiones geográficas.

En el futuro se creará una base de datos pública con las muestras contenidas en nuestro banco de ADN y que estará disponible a través de la web del JBCVC, de forma que se facilitará el acceso a un mayor número de investigadores y permitirá la divulgación de información relativa al Banco de ADN de la Flora Canaria.

Además, seguimos fomentando proyectos de investigación para invertir nuestros fondos de ADN en acciones que conduzcan a la mejora del conocimiento del origen, diversificación y conservación de la flora canaria mediante el uso de la información molecular. Esperamos que el conocimiento que generemos a través de la investigación nos permita alcanzar, entre otros hitos, cierto poder de predicción respecto de los cambios que están perjudicando a la diversidad biológica de Macaronesia. En este sentido, desarrollamos dos líneas de interés básico para la investigación y la gestión de la biodiversidad: (i) la caracterización taxonómica de las especies mediante los denominados "códigos de barras de la vida", basados en la secuenciación de regiones informativas del ADN; y (ii) la aplicación de técnicas moleculares de genética de poblaciones (microsatélites, AFLPs, RAPDs) y filogenia (secuenciación de ADN) para investigar problemas que afectan al origen, diversificación y conservación de diversos linajes de plantas Macaronésicas.

Las secuencias seleccionadas para investigar e implementar un código de barras molecular para la Flora Canaria están siendo investigadas en todos los

proyectos de filogenia molecular en curso en nuestros laboratorios. Además, se ha obtenido un proyecto del Ministerio de Medio Ambiente para desarrollar estas investigaciones con elementos de la flora del PN de GARAJONAY (en colaboración con investigadores del Jardín de Aclimatación de La Orotava, de la Universidad de La Laguna y de la Universidad de Murcia) y se ha presentado al área de Medio Ambiente del Cabildo de Gran Canaria un proyecto para llevar a cabo la investigación del código de barras de la Flora de la Reserva de la Biosfera de Gran Canaria (CAUJAPÉ-CASTELLS *et al*, 2005). Estas iniciativas se conciben como un primer paso hacia el desarrollo de un código de barras molecular de la Flora Canaria, que contaría con la colaboración de todas las personas e instituciones que han hecho aportaciones al conocimiento de esta parte de la diversidad biológica del archipiélago.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de todas las instituciones de conservación que han prestado hasta ahora su experiencia y su esfuerzo para el muestreo de endemismos de otras islas Canarias: el área de Medio Ambiente de los Cabildos de Tenerife y La Gomera; los Parques Nacionales de Las Cañadas del Teide, Garajonay, Caldera de Taburiente y Timanfaya, y los jardines botánicos de la Asociación Ibero-Macaronésica de Jardines Botánicos, especialmente al de La Cortijuela y Hoya de Pedraza (Granada), Jardín Botánico de Córdoba, Jardí Botànic de Barcelona, Jardí Botànic Marimurtra (Blanes) y Jardí Botànic de Sòller (Mallorca), que fueron los primeros en ofrecernos su ayuda en el muestreo de taxones de regiones geográficas que poseen vínculos florísticos con Macaronesia. Agradecemos también a los responsables del proyecto Atlántico (biota-genes) en la Consejería de Medio Ambiente y Ordenación Territorial del Gobierno de Canarias la confianza en el equipo del Laboratorio de Biodiversidad Molecular del JBCVC para llevar a cabo la caracterización molecular de la diferenciación genética entre poblaciones de algunos táxones vegetales endémicos de Canarias. Mark Chase, Vincent Savolainen y Edith Kapinos, del Banco de ADN del Jodrell Laboratory en el Royal Botanic Gardens, Kew (Londres) merecen un reconocimiento especial por su amable acogida y por sus valiosas indicaciones, así como Mike Fay, Lola Lledó y Robyn Cowan (del Jodrell laboratory), por su interacción con nuestro grupo. Agradecemos a todo el personal científico y técnico del Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo" su apoyo y colaboración en la obtención de muestras para el Banco de ADN, y a Pedro Sosa Henríquez y Miguel Ángel González Pérez (de la ULPGC) sus importantes aportaciones como socios en el proyecto BIOMABANC y a través del depósito de muestras de ADN procedentes de (o destinadas a) investigaciones con endemismos canarios. Asimismo, damos las gracias a Alfredo Reyes Betancort (del Jardín de Aclimatación de la Orotava), a Stephan Scholz (biólogo autónomo de Fuerteventura) y a Rafael Serafín Almeida (colaborador del JBCVC en varias investigaciones) por su ayuda en los muestreos de este y otros proyectos que se están desarrollando en el JBCVC. Miriam Calero y Tania Perera nos ayudaron en las extracciones del ADN y en el etiquetado de los tubos en el marco de un

convenio de formación en centros de trabajo con el Instituto de Enseñanza Superior Las Palmas. Pau Corral pasó parte del verano de 2005 desarrollando en nuestro banco de DNA un proyecto mediante un convenio de prácticas firmado entre el Laboratorio de Biodiversidad Molecular del JBCVC y la Universitat de Barcelona. Agradecemos también a los socios de nuestra institución en BIOMABANC (la ULPGC, el Jardim Botánico da Madeira y la Universidade dos Açores), a los investigadores/as del Jardín Botánico Canario que participan en BIOMABANC dirigiendo la creación del Banco de Micromarcadores morfológico-reproductivos (Julia Pérez de Paz y Rosa Febles Hernández) y del Banco de Saberes tradicionales (Eugenio Reyes) sus aportaciones, sin las que la red de Bancos de Biodiversidad de la Flora Macaronésica no podría ser hoy una realidad incipiente. El Banco de ADN de la Flora Canaria es una de las líneas de acción del proyecto "BIOMABANC: Bancos de Biodiversidad de la Flora Macaronésica", y está financiado por el Programa de Iniciativa Comunitaria INTERREG IIIB Açores-Madeira-Canarias y por el Cabildo de Gran Canaria, aportando el 85% y el 15%, respectivamente.

REFERENCIAS

- CAUJAPÉ-CASTELLS, J., JAÉN MOLINA, R., CABRERA-GARCÍA, N. (en prep.) Manual del Banco de ADN del Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo".
- CAUJAPÉ-CASTELLS, J., JAÉN MOLINA, R., NARANJO SUÁREZ J., MARRERO RODRÍGUEZ, A. (2005). Proyecto sobre el desarrollo de un código de barras molecular para la Flora de la Reserva de la Biosfera de Gran Canaria (inédito).
- CHASE, M. W., HILLS, H. H. (1991) Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. *Taxon* 40: 215-220.
- CABRERA GARCÍA, N., JAÉN MOLINA, R., CAUJAPÉ-CASTELLS, J. (2005) Creación de un Banco de ADN para la Flora Canaria. Resúmenes del II Congreso de Biología de La Conservación de Plantas (21-23 de Septiembre de 2005, Jardín Botánico Alántico, Gijón), pp 181.
- PROYECTO "BIOMABANC: BANCOS DE LA BIODIVERSIDAD DE LA FLORA MACARONESIA" (Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo", Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Jardim Botánico de Madeira y Universidade dos Açores). Programa de la iniciativa europea INTERREG IIIB Açores-Madeira-Canarias 2000-2006.
- KRESS, W.J., WURDACK, K.J., ZIMMER, E.A., WEIGHT, L.A. & JANZEN, D.H (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 102 (23): 8369-8374.
- MUMMENHOFF, K., FRANZE, A. & KOCH, M. (1997). Molecular phylogenetics of *Thlaspi* s. l. (Brassicaceae) based on chloroplast DNA restriction site variation and sequences of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA. *Can. J. Bot.* 75: 469-482.