

ENSAYOS DE GERMINACIÓN EN ENDEMISMOS CANARIOS AMENAZADOS

MIGUEL ÁNGEL GONZÁLEZ PÉREZ & NEREIDA CABRERA GARCÍA

Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo"-Unidad Asociada al CSIC (Cabildo de Gran Canaria), Tafira Baja, c/ Camino de El Palmeral nº 15, 35017, Las Palmas de Gran Canaria, Gran Canaria, España
email: magonzalezp@grancanaria.com

Recibido: Septiembre 2020

Palabras claves: endemismo, especie amenazada, germinación, Islas Canarias

Key Words: endemism, threat species, germination, Canary Islands

RESUMEN

El presente trabajo recoge los ensayos de germinación llevados a cabo en 35 taxones endémicos canarios, pertenecientes a 12 familias, y con diferente grado de amenaza. En el mismo se establecen protocolos óptimos para la germinación, así como pretratamientos para la inhibición de la dormancia. La temperatura de germinación estuvo comprendida entre 15 y 24°C, y el porcentaje de germinación de los taxones ensayados osciló entre un 44% (*Crambe escoparia*) y un 100% (varios taxones). Se analizaron diferentes parámetros que miden la germinación y se estudió su relación con variables fisiológicas, ecológicas, taxonómicas, o pérdida de viabilidad debida al tiempo de almacenamiento. No se detectaron correlaciones entre la dinámica de la germinación y estas variables, pero si se detectó diferencias significativas debidas al peso de las semillas, de forma que aquellas semillas mayores presentaban en general un porcentaje mayor de germinación. La dinámica de la germinación permitió diferenciar tres grandes grupos en los que en general los taxones próximos entre si y que ocupan hábitats parecidos mostraban comportamientos similares en la germinación. Los altos porcentajes de germinación de los taxones depositados en el Banco de Germoplasma del Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo" durante largos periodos de tiempo muestran la idoneidad de las condiciones de almacenamiento de este Banco de Germoplasma.

SUMMARY

The present work shows germination tests carried out in 35 endemic Canarian taxa, belonging to 12 families, with different degrees of threat. Optimal protocols for germination are set up, as well as pretreatments of dormancy breakage. Germination temperature ranged from 15 to 24°C, and germination rates from 44% (*Crambe scoparia*) to 100% (several taxa). Different germination parameters were analyzed, and their relationship with physiological variables, ecological, taxonomic, and storage time were studied. No correlation was detected between the dynamics of seed germination and these variables, but significant differences were detected between weight of the seeds and its germination percentage. Seeds with higher weight showed higher germination rate. The dynamics of germination allowed us to differentiate three large groups where, in general, taxa that were

phylogenetically close to each other and that occupy similar habitats showed similar germination behaviors. The overall high germination rate of the taxa deposited in the Germplasm Bank of the Canarian Botanical Garden "Viera y Clavijo" for long periods of time demonstrates the suitability of the storage conditions of this Germplasm Bank.

INTRODUCCIÓN

La pérdida de biodiversidad a nivel global se ha demostrado que es más rápida de lo que se pensaba en un principio (HUMPHREYS *et al.*, 2019), siendo las regiones donde se producen mayor número de extinciones aquellas que albergan una mayor biodiversidad con climas tropicales, mediterráneos e islas. La situación en las islas oceánicas, como las Islas Canarias, es más dramática debido a la vulnerabilidad de la biota de las islas, y la endemidad de muchas especies insulares (PIMM *et al.*, 1995; HUMPHREYS *et al.*, 2019).

Las Islas Canarias representan uno de los "puntos calientes" de biodiversidad del planeta (MYERS *et al.*, 2000). Actualmente se reconocen en su Flora más de 640 endemismos, y ya se han descrito hasta cinco especies extintas: *Clethra arborea*, *Kunkeliella psilotoclada*, *Normania nava*, *Aeonium mascaense* y *Helianthemum cirae* (BAÑARES *et al.*, 2004), y 257 (aprox. 40%) tiene algún grado de amenaza (Gobierno de Canarias. Banco de Datos de Biodiversidad de Canarias).

El mantenimiento ex situ de la viabilidad de las semillas durante largos periodos de tiempo es la llave esencial para la conservación de los recursos genéticos de las plantas (FU *et al.*, 2015). En este sentido es esencial establecer las condiciones de almacenamiento adecuadas (humedad y temperatura) para minimizar la pérdida de viabilidad de las semillas durante el almacenamiento. Además, es fundamental implementar los protocolos de germinación (pretratamiento, dormancia) para cada una de las especies almacenadas en un banco de semillas para que estas germinen en el momento que se requiera con un porcentaje apropiado para ser utilizadas en planes de recuperación, etc.

La germinación es un estado altamente decisivo en el ciclo vital de las plantas, y su estudio es fundamental para la conservación de las especies (MELO *et al.*, 2004). A este respecto, uno de los mayores impedimentos para la utilización de semillas de especies silvestres es la carencia de conocimientos sobre la germinación de las mismas (RODRÍGUEZ-ARÉVALO *et al.*, 2017). Los estudios de germinación son importantes para la reintroducción de poblaciones de plantas amenazadas, y en los últimos años se ha incrementado el número de bancos de germoplasma que se han establecido para apoyar la recuperación de especies que podrían extinguirse en un futuro cercano (MYERS *et al.*, 2000).

Sin embargo, las semillas de muchas especies son incapaces de germinar, incluso cuando se encuentran en condiciones favorables. Una de las causas que impiden la germinación es que las semillas se encuentran en estado de latencia (dormancia). En esos casos, la germinación solamente ocurrirá cuando las restricciones físicas y/o fisiológicas que provocan este letargo sean superadas, lo que en la naturaleza puede llevar días, meses o años, dependiendo de la especie. Por lo tanto, la dormancia de la semilla es un importante estadio del ciclo de vida de las plantas caracterizado por la ausencia temporal de la capacidad de germinación, que permite que las especies vegetales sobrevivan a las

adversidades, principalmente a aquellas que dificulten o impidan el crecimiento vegetativo de la planta. En este caso, mientras no se den unas condiciones previas favorables a la germinación, la semilla se mantendrá latente hasta que, en su caso, pierda su capacidad de germinar (BEWLEY *et al.*, 2013).

Esta clase de dormancia puede ser exógena, debida a que la cubierta (pericarpo) impide a la semilla la absorción de agua, por lo que para inactivarla se debe realizar una escarificación, abrasión o incisión del tegumento seminal, mecánica o química. También existe una clase de dormancia endógena o del embrión, debida a sustancias inhibitoras que impiden la germinación. Para desactivar este tipo de dormancia se utilizan fotoperiodos, calentamiento o enfriamiento previo, y/o sustancias químicas (KNO_3 , ácido giberélico, etc). Así mismo, se ha descrito una latencia combinada, que afecta al mismo tiempo a la cubierta seminal y al embrión (BACCHETTA *et al.*, 2008).

En general se ha descrito que el tamaño de la semilla y su tasa de germinación están relacionados con variables ecológicas (PRIMACK, 1987). Especies que viven en ambientes húmedos y sombreados suelen presentar semillas mayores que las que viven en ambientes secos y soleados (BAKER, 1972). Así mismo, una tendencia entre la germinación inmediata y la carencia de dormancia es típica en semillas grandes de ambientes tropicales (FOSTER, 1986).

Los bancos de semillas se han convertido en esenciales para la conservación de la biodiversidad de los ecosistemas naturales. La preservación de las semillas es especialmente importante para las especies amenazadas, ya que las semillas son el principal material genético utilizado para la reintroducción de especies de plantas (BROADHURST *et al.*, 2008).

El Banco de Germoplasma del Jardín Botánico Canario “Viera y Clavijo” - Unidad Asociada al CSIC ha contribuido activamente a la conservación de la biodiversidad de Canarias a lo largo de sus 35 años de historia. En el Banco hay depositadas más de 5000 accesiones pertenecientes a la flora Macaronésica, que representan el 88% de los endemismos canarios actualmente reconocidos y el 75% de los endemismos amenazados (GONZÁLEZ-PÉREZ & CABRERA-GARCÍA, 2019). Durante su historia el Banco de Germoplasma ha realizado más de 2000 pruebas de germinación en más de 400 taxones diferentes, lo que ha permitido estandarizar muchos protocolos de germinación de especies endémicas canarias (MAYA *et al.*, 1988; MAYA & PONCE, 1989; GONZÁLEZ-MARTÍN *et al.*, 1994). Sin embargo, estas pruebas de germinación, así como las llevadas por otros grupos de investigación en endemismos canarios se remontan a finales de los años 80, principios de los 90 (PITA, 1988, 1989; MATEO-SAGASTA & CERESUELA-SORIA, 1982). Además, todavía quedan muchos taxones endémicos canarios amenazados para los cuales no se ha descrito un protocolo de germinación estandarizado, o cuyo éxito germinativo es bajo.

En vista de estas carencias, los objetivos de este estudio son: i) actualizar protocolos de germinación para especies endémicas Canarias amenazadas, ii) determinar la dinámica de germinación de los taxones estudiados, iii) estudiar la correlación entre la germinación con variables fisiológicas (peso de la semilla), ecológicas (altitud) y taxonómicas (pertenencia a familia), y iv) evaluar la efectividad del protocolo y condiciones de almacenamiento del Banco de Germoplasma del Jardín Botánico Canario “Viera y Clavijo” - Unidad Asociada al CSIC (‘Banco de Germoplasma’ de aquí en adelante).

MATERIAL Y MÉTODO

Material y procedimiento inicial

Para esta investigación se han utilizado datos de ensayos de germinación realizados por los autores entre los años 2008 y 2020, en accesiones almacenadas en el Banco de Germoplasma entre seis meses y 35 años (Tabla 1). Los datos analizados recogen las condiciones de luz/oscuridad, temperaturas, pretratamientos.

Se analizaron 35 endemismos insulares canarios pertenecientes a 24 géneros de 12 familias distintas, con diferentes grados de amenaza según la IUCN (Tabla 1). Las localidades analizadas de estos endemismos se localizaban desde los 15 hasta los 2.300 msnm.

Los datos ecológicos (altitud) y fisiológicos (peso) fueron recuperados de la base de datos del Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo" - Unidad Asociada al CSIC para cada una de las accesiones objeto de estudio en el presente trabajo (Tabla 1).

Pretratamiento

El pretratamiento realizado en las semillas varió considerablemente entre los diferentes taxones estudiados (Tabla 2). Mientras algunos taxones no requirieron de un proceso de desinfección, otros necesitaron inmersiones en lejía o peróxido de hidrógeno entre 2 y 10 minutos. Así mismo, el periodo de imbibición en agua de las semillas varió desde unas pocas horas hasta 3 días, mientras que otros taxones no requirieron esta imbibición. Algunos taxones además necesitaron de una escarificación mecánica mediante un corte con bisturí de forma superficial o profundo (Tabla 2) para asegurar la hidratación del embrión y la inhibición de la dormancia.

Germinación

Las germinaciones se realizaron en agar al 1% en placas de Petri de cristal de 7 cm de diámetro, que fueron incubadas en germinadoras (SANYO MLR-351) con ciclos de luz y temperatura específicos para cada taxón analizado (Tabla 2). Se contaron diariamente las semillas en las que había emergido la radícula, considerándose que la semilla había germinado cuando la radícula alcanzó un tamaño de 1-2 mm. Las semillas germinadas fueron retiradas de las placas de Petri y repicadas en semilleros en el vivero. El porcentaje de germinación final fue registrado después de un periodo de incubación de 4 semanas.

Para cada taxón se realizaron entre 1 y 4 réplicas conteniendo entre 25 y 50 semillas, dependiendo del tamaño de las semillas y la cantidad de material disponible.

Análisis de datos

Se estimaron mediante procedimientos estadísticos con la aplicación Advanced seed germination measurement tool (KHALID, 2018) el porcentaje de germinación (%G), el tiempo medio de germinación (MGT), periodo de latencia (T_0), el tiempo del 50% de germinación final (T_{50}), y el coeficiente de velocidad de germinación (CVG) (COOLBEAR *et al.*, 1984; GAVASSI *et al.*, 2014).

Se llevó a cabo un test de correlación de Pearson y el correspondiente test de significación, así como un análisis de ANOVA entre las variables fisiológicas (peso de la semilla), ecológica (altitud), taxonómica (familia), temporal (tiempo de almacenamiento) y los diferentes índices que miden la germinación (%G, CVG, MGT, T_0 y T_{50}) utilizando el programa XLSTAT (2008.3.02).

Dinámica de la germinación

Para el estudio de la dinámica de germinación se consideraron dos parámetros: el periodo de latencia (T_0) y el tiempo transcurrido hasta la germinación del 50% (T_{50}). Ambos son un reflejo de la dinámica de la germinación, indicando el tiempo empleado en germinar, aunque T_{50} resulta más fiable porque refleja el comportamiento de un número mayor de semillas (DÍAZ-LIFANTE, 1993).

RESULTADOS

En relación al pretratamiento de las semillas podemos diferenciar dos grandes grupos en los taxones estudiados: i) taxones cuyas semillas necesitaron escarificación mecánica para poder germinar (42% de los taxones estudiados); ii) taxones cuyas semillas no necesitaron de escarificación mecánica (58%) (Tabla 2). No se detectaron diferencias significativas en cuanto al porcentaje de germinación (%G), el tiempo medio de germinación (MGT), periodo de latencia (T_0) y el tiempo del 50% de germinación final (T_{50}) entre las semillas escarificadas y las que no requirieron este tratamiento.

La **temperatura** óptima utilizada para la germinación varió entre los 15°C (*Cheirolophus santos-abreui*) y los 24°C necesarios en *Cistus grancanariae*, siendo la media de temperatura de 20°C (Tabla 2). En la mayoría de los taxones se ha requerido un **fotoperiodo** de 16 h de luz y 8 de oscuridad (60%-21 taxones). Sin embargo 11 taxones (30%) mostraron mejores porcentajes de germinación cuando se estableció un fotoperiodo que incluía entre las horas de luz el atardecer, disminuyendo la intensidad lumínica en ese periodo hasta un 50%.

El **porcentaje de germinación** en los diferentes endemismos estudiados osciló entre el 44% (*Crambe scoparia*) y el 100% en varios de los taxones analizados (Tabla 3). Los cuatro taxones con porcentajes de germinación más bajos se corresponden con especies críticamente amenazadas (*Sideritis guayedrae*, *Sideritis discolor* y *Parolinia aridanae*), a excepción de *Crambe scoparia*, que está catalogada como especie en peligro de extinción.

El coeficiente de velocidad de germinación (CVG) varió entre 3,87 %/día (*Ferula latipinna*) y 47,17 %/día (*Lotus arinagensis*). Por otro lado, el tiempo medio de germinación (MGT) fluctuó entre 2,12 días (*Lotus arinagensis*) y 25,83 días (*Ferula latipinna*), especies que también presentan los valores más bajo y más alto de T_{50} , (1,57 y 24 días respectivamente). Con respecto al periodo de latencia (T_0), tiempo transcurrido desde que se siembran las semillas hasta que germina la primera semilla, varió entre 1 día (*Lactucosonchus webbii* y *Convolvulus caput-medusae*) y 17 días (*Ferula latipinna*).

Tabla 1. Taxones endémicos canarios analizados, número de Banco, localidad, familia, categoría de amenaza (IUCN), isla donde está presente (T: Tenerife; C: Gran Canaria; G: Gomera; P: La Palma; H: El Hierro; F: Fuerteventura; L: Lanzarote). (m s.m.) altitud en metros de la accesión, (gr) peso en gramos registrado en 100 semillas, (años) tiempo de almacenamiento en el Banco de Germoplasma.

Nº BANCO	TAXON	LOCALIDAD	FAMILIA	IUCN	END	altitud (m s.m.)	peso (gr)	tiempo (años)
3584/B	<i>Ammadaucus nanocarpus</i> (E. Beltrán) P. Pérez & A. Velasco	Barranco de Esquinzo (F)	Apiaceae	EN	T, F	25	0,804	1
3600/B	<i>Ferula latipinna</i> A. Santos	Barranco de Fagundo (P)	Apiaceae	VU	P, G	120	6,86	1
4133/B	<i>Pimpinella dendrotrajium</i> Webb & Berthel.	Barranco de Los Cantos (P)	Apiaceae	VU	P, T	2040	0,246	3
4663/B	<i>Argyranthemum broussonetii</i> (Balb. ex Pers.) Humphries subsp. <i>broussonetii</i>	Las Carboneras (T)	Asteraceae	VU	T, F	660	1,682	4
4268/B	<i>Atractylis arbuscula</i> Svent. & Michaelis var. <i>schyzogynophylla</i> Svent. & Kahne	El Río (C)	Asteraceae	EN	C	60	0,134	1
4266/B	<i>Atractylis preauxiana</i> Sch. Bip.	Arinaga-Albergue (C)	Asteraceae	EN	T, C	15	0,174	1
3130/B	<i>Cheirolophus duranii</i> (Burchard) Holub	Barranco del Bolón (H)	Asteraceae	CR	H	300	0,374	2
4319/B	<i>Cheirolophus faicisectus</i> Svent. ex Montelongo & Moraleda	Güi-Güi-Degollada de Agua Sabina (C)	Asteraceae	EN	C	480	0,657	3
3615/B	<i>Cheirolophus santos-abreu</i> A. Santos	Barranco de La Madera (P)	Asteraceae	CR	P	700	0,451	5
2440/B	<i>Gonospermum oshanahanii</i> (Marrero Rodr., Febles & Suárez) Febles	Guayedra (C)	Asteraceae	CR	C	600	0,019	16
4114/B	<i>Lactucosonchus webbii</i> (Sch. Bip.) Svent.	Barranco de Izcagua (P)	Asteraceae	VU	P	1195	0,033	3
4162/B	<i>Pulicaria burchardii</i> Hutch. subsp. <i>burchardii</i>	La Pared, Jandía (F)	Asteraceae	EN	F	80	0,008	1
4140/B	<i>Sonchus bornmuelleri</i> Pitt.	Don Pedro (P)	Asteraceae	VU	P	160	0,032	4
3645/B	<i>Echium bethencourtii</i> A. Santos	Barranco de Fagundo (P)	Boraginaceae	VU	P	100	0,258	3
3619/B	<i>Echium gentianoides</i> Webb ex Coincy	Barranco de Hoyo Verde (P)	Boraginaceae	VU	P	2232	0,266	3
3621/B	<i>Echium wildpretii</i> Pears. ex Hook. f. subsp. <i>trichosiphon</i> (Ceb. & Ortuño) Bramwell	Pinos Gachos (P)	Boraginaceae	EN	P	1960	1,044	3
4627/B	<i>Crabwe scoparia</i> Svent.	Mesa Junquillo (C)	Brassicaceae	EN	C	666	0,146	2
3629/B	<i>Parolinia aridanae</i> A. Santos	Charco Verde (P)	Brassicaceae	CR	P	105	0,028	1
4562/B	<i>Cistus grancanariae</i> Marrero-Rodr., Almeida & C. Ríos	Pagador (C)	Cistaceae	VU	C	255	0,082	5

Tabla 1. (Continuación)

Nº BANCO	TAXON	LOCALIDAD	FAMILIA	IUCN	END	altitud (m s.m.)	peso (gr)	tiempo (años)
3118/B	<i>Helianthemum inaguae</i> Marrero Rodr., González Martín & González Artilles	Ex hort. JBCVC (BGB 9 289A/023) (C)	Cistaceae	CR	C	250	0,072	9
4284/B	<i>Convolvulus caput-medusae</i> Lowe	Tuffia (C)	Convolvulaceae	EN	C,F	36	0,629	1
4807/B	<i>Argyrobium armindae</i> Marrero Rodr.	Montaña Amagro (C)	Fabaceae	CR	C	180	0,746	2
4287/B	<i>Lotus arinagensis</i> Bramwell	Arinaga-Faro (C)	Fabaceae	CR	C	20	0,122	1
4682/B	<i>Lotus mascaensis</i> Burchard	Mesa de Masca (T)	Fabaceae	VU	T	1200	0,135	1
4842/B	<i>Telina rosmarinifolia</i> Webb & Berthel. subsp. <i>rosmarinifolia</i>	Inagua (C)	Fabaceae	VU	C	750	0,823	1
4806/B	<i>Sideritis amagroi</i> Marrero Rodr. & B. Navarro	Montaña Amagro (C)	Lamiaceae	CR	C	450	0,221	2
3134/B	<i>Sideritis discolor</i> Webb ex Bolle	Osoño (C)	Lamiaceae	CR	C	665	0,099	2
3637/B	<i>Sideritis eriocephala</i> Marrero Rodr. ex Negrin & P. Pérez	Las Cañadas del Teide (T)	Lamiaceae	VU	T	2300	0,148	1
4750/B	<i>Sideritis guayedrae</i> Marrero-Rodr.	Andén de Los Tomillos (C)	Lamiaceae	CR	C	660	0,102	2
5273/B	<i>Isoplexis chalcantha</i> Svent. & OShanahan	Los Tilos (C)	Plantaginaceae	CR	C	800	0,011	0
3111/B	<i>Limonium benmageci</i> Marrero Rodr.	Andén de Las Arenas (C)	Plumbaginaceae	CR	C	250	0,256	2
3113/B	<i>Limonium preauxii</i> (Webb & Berthel.) Kuntze	Amurga (C)	Plumbaginaceae	EN	C	500	0,12	17
2887/B	<i>Dendriopoterium menendezii</i> Svent var. <i>menendezii</i>	Fagajesto (C)	Rosaceae	VU	C,F	1110	0,168	2
2521/B	<i>Dendriopoterium pulidoi</i> Svent. ex Bramwell	Presa del Parralillo (C)	Rosaceae	VU	C	350	0,538	8
184/B	<i>Solanum lidii</i> Sunding	Temisas (C)	Solanaceae	CR	C	718	0,684	36

Tabla 2. Condiciones de germinación y pretratamientos de las especies endémicas ensayadas. EM: escarificación mecánica; EMP: escarificación mecánica profunda; GA₃: ácido giberélico. T, temperatura; Luz/Osc, luz/oscuridad; Desinf, desinfección; Imbib., Imbibición; Pret, pretratamiento; Lej, leja; min, minutos; h, horas.

TAXON	T (°C)	Luz/Osc (horas)	Desinf	Imbib (agua)	Pret
<i>Ammodaucus nanocarpus</i>	20/18/17	17(11+6)/7	Lej (1%), 3 min	24 h	-
<i>Ferula latipinna</i>	20/18/17	17(11+6)/7	Lej (1%), 3 min	24 h	
<i>Pimpinella dendrotragium</i>	22/19/16	16/8	Lej (1%), 2 min	48 h	
<i>Argyranthemum broussonetii</i> subsp. <i>broussonetii</i>	16	16(11+5)/8	Lej (2%), 10 min	48 h	EMP+GA ₃ (900ppm)
<i>Atractylis arbuscula</i> var. <i>schyzogynophylla</i>	20/18/17	17(11+6)/7	Lej (1%), 3 min	18 h	-
<i>Atractylis preauxiana</i>	20/18/17	17(11+6)/7	Lej (1%), 3 min	24 h	-
<i>Cheirolophus duranii</i>	20	16/8	Lej (1%), 3 min	-	-
<i>Cheirolophus falcisectus</i>	22/19/16	16/8	Lej (1%), 3 min	48 h	EM
<i>Cheirolophus santos-abreui</i>	15	16/8	Lej (1%), 10 min	48 h	EM
<i>Gonospermum oshanahanii</i>	22/17	16/8	-	-	-
<i>Lactucosonchus webbii</i>	22/19/16	16/8	Lej (1%), 3 min	48 h	
<i>Pulicaria burchardii</i> subsp. <i>burchardii</i>	20/18/17	17(11+6)/7	Lej (1%), 3 min	24 h	EM
<i>Sonchus bornmuelleri</i>	22/19/16	16/8	-		
<i>Echium bethencourtii</i>	22/19/16	10/06/2008	H ₂ O ₂ , 2 min	48 h	-
<i>Echium gentianoides</i>	20/18/17	17(11+6)/7	Lej (1%), 3 min	48 h	EM
<i>Echium wildpretii</i> subsp. <i>trichosiphon</i>	22/19/16	16/8	Lej (1%), 3 min	48 h	
<i>Crambe scoparia</i>	17/22	16/8	-	24 h	EMP
<i>Parolinia aridanae</i>	20/18/17	17(11+6)/7	Lej (1%), 3 min	18 h	
<i>Cistus grancanariae</i>	24/19	16/8	Lej (1%), 3 min		EM
<i>Helianthemum inaguae</i>	22/19/16	10/06/2008	Lej (1%), 2 min	24 h	EM
<i>Convolvulus caput-medusae</i>	20/18/17	17(11+6)/7	-	-	-
<i>Argyrobium armindae</i>	17	16/8	H ₂ O ₂ , 2 min	72 h	-
<i>Lotus arinagensis</i>	20/18/17	17(11+6)/7	Lej (1%), 3 min	24 h	EM
<i>Lotus mascaensis</i>	22/17	16/8	-	24 h	EM
<i>Teline rosmarinifolia</i> subsp. <i>rosmarinifolia</i>	18/20	16/8	-	48 h	EM
<i>Sideritis amagroii</i>	22/17	16/8	H ₂ O ₂ , 2 min	24 h	
<i>Sideritis discolor</i>	20	16/8	Lej (1%), 1 min		
<i>Sideritis eriocephala</i>	20/18/17	17(11+6)/7	Lej (1%), 3 min	24 h	EM
<i>Sideritis guayedrae</i>	18/20	16/8	-	24 h	EM
<i>Isoplexis chalcantha</i>	17	16/8	-	3 h	
<i>Limonium benmageci</i>	20	16/8	Lej (1%), 3 min	-	
<i>Limonium preauxii</i>	20/18	16/8	-	48 h	
<i>Dendriopoterium menendezii</i> var. <i>menendezii</i>	22/19	16/8	-	-	-
<i>Dendriopoterium pulidoi</i>	20/18/17	17(11+6)/7	Lej (1%), 3 min	24 h	EM
<i>Solanum lidii</i>	17	16/8	Lej (1%), 10 min	48 h	EMP+GA ₃ (350ppm)

Tabla 3. Porcentaje de germinación (%G), coeficiente de velocidad de germinación (CVG), tiempo medio de germinación (MGT), periodo de latencia (T₀) y T₅₀ de las especies endémicas ensayadas

Nº BANCO	TAXON	%G	CVG (%/día)	MGT (día)	T ₀ (día)	T ₅₀ (día)
3584/B	<i>Ammodaucus nanocarpus</i>	64%	8,247	12,13	5	9,67
3600/B	<i>Ferula latipinna</i>	60%	3,871	25,83	17	24
4133/B	<i>Pimpinella dendrotragium</i>	100%	6,831	14,64	8	16,25
4663/B	<i>Argyranthemum broussonetii</i> subsp. <i>broussonetii</i>	90%	10,465	9,56	6	7,5
4268/B	<i>Atractylis arbuscula</i> var. <i>schyzogynophylla</i>	60%	6,198	16,13	11	17,32
4266/B	<i>Atractylis preauxiana</i>	60%	18,293	5,47	2	3,36
3130/B	<i>Cheirolophus duranii</i>	70%	12,963	7,71	4	4,5
4319/B	<i>Cheirolophus falcisectus</i>	100%	10,823	9,24	5	7,52
3615/B	<i>Cheirolophus santos-abreui</i>	95%	8,941	11,18	6	7,72
2440/B	<i>Gonospermum oshanahanii</i>	84%	6,604	15,14	13	14,36
4114/B	<i>Lactucosonchus webbii</i>	80%	9,39	10,65	1	7,63
4162/B	<i>Pulicaria burchardii</i> subsp. <i>burchardii</i>	68%	12,977	7,71	4	4,13
4140/B	<i>Sonchus bommuelleri</i>	80%	10,458	9,56	4	7,9
3645/B	<i>Echium bethencourtii</i>	80%	16,529	6,05	5	4,67
3619/B	<i>Echium gentianoides</i>	100%	9,506	10,52	2	9,13
3621/B	<i>Echium wildpretii</i> ssp. <i>trichosiphon</i>	100%	8,961	11,16	8	9,63
4627/B	<i>Crambe scoparia</i>	44%	17,46	5,73	3	5,45
3629/B	<i>Parolinia aridanae</i>	50%	18,571	5,38	4	5,11
4562/B	<i>Cistus grancanariae</i>	82%	22,881	4,37	3	3,85
3118/B	<i>Helianthemum inaguae</i>	99%	25,191	3,97	2	2,85
4284/B	<i>Convolvulus caput-medusae</i>	88%	43,137	2,32	1	1,71
4807/B	<i>Argyrolobium armindae</i>	95%	21,281	4,7	3	3,86
4287/B	<i>Lotus arinagensis</i>	100%	47,17	2,12	2	1,57
4682/B	<i>Lotus mascaensis</i>	70%	13,566	7,37	5	5,93
4842/B	<i>Teline rosmarinifolia</i> subsp. <i>rosmarinifolia</i>	100%	7,74	12,92	5	11,5
4806/B	<i>Sideritis amagroii</i>	70%	7,575	15,01	6	12,8
3134/B	<i>Sideritis discolor</i>	52%	7,879	12,69	10	11,63
3637/B	<i>Sideritis eriocephala</i>	84%	6,213	16,1	5	16,25
4750/B	<i>Sideritis guayedrae</i>	47%	9,592	10,43	7	7,79
5273/B	<i>Isoplexis chalcantha</i>	93%	10,817	9,24	7	8,12
3111/B	<i>Limonium benmageci</i>	100%	18,519	5,4	2	4,12
3113/B	<i>Limonium preauxii</i>	81%	26,531	3,77	3	2,6
2887/B	<i>Dendriopoterium menendezii</i> var. <i>menendezii</i>	64%	7,143	14	8	11,71
2521/B	<i>Dendriopoterium pulidoi</i>	76%	6,209	16,11	8	14,25
184/B	<i>Solanum lidii</i>	87%	9,605	10,41	6	8,54

El tiempo necesario para alcanzar el 50% de la germinación junto con la dinámica de la germinación nos permitió diferenciar tres grupos de taxones. Un primer grupo con germinación rápida y concentrada en pocos días, con óptimos porcentajes de germinación (mayores del 80%), con valores de T_{50} en general inferiores a 4 días, y coeficientes de velocidad de germinación (CVG) elevados (Figura 1). Un segundo grupo que presentó en general una germinación más escalonada, con porcentajes de germinación considerables, valores de T_{50} comprendidos entre 4 y 10 días, y valores de CVG moderados (Figura 2). Y un tercer grupo que engloba a aquellos taxones con valores de T_{50} superiores a 10 días, un coeficiente de velocidad de germinación bajo, y con una germinación mucho más escalonada y retrasada en el tiempo.

No se detectó ninguna correlación significativa entre los parámetros de germinación (%G, MGT, GS, T_0 y T_{50}) y la variable fisiológica (peso semilla), ecológica (altitud) o taxonómica (adscripción a familia). Así mismo tampoco se observó una relación entre la germinación y el tiempo de almacenamiento de las diferentes accesiones. Sin embargo, si se revelaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los porcentajes de germinación (%G) de las semillas con pesos mayores de 2 mg (87%) y las semillas con pesos menores de 2 mg (73%), de forma que las semillas con mayores pesos presentaron mayor porcentaje de germinación.

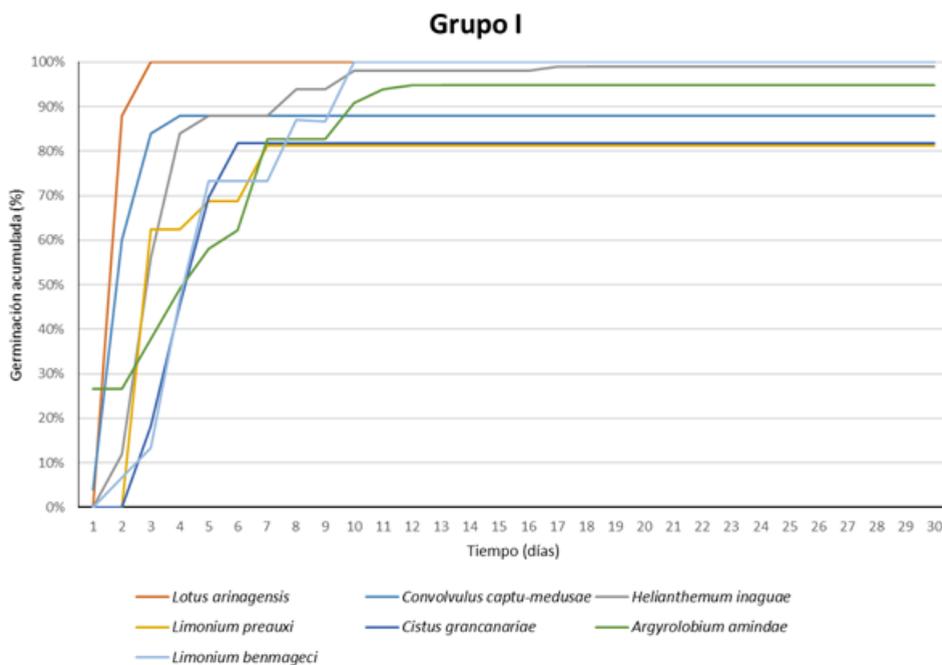


Figura 1. Curvas de germinación acumulada de endemismos canarios analizados asignados al grupo I con germinación rápida y concentrada en pocos días, con valores de T_{50} en general inferiores a 4 días

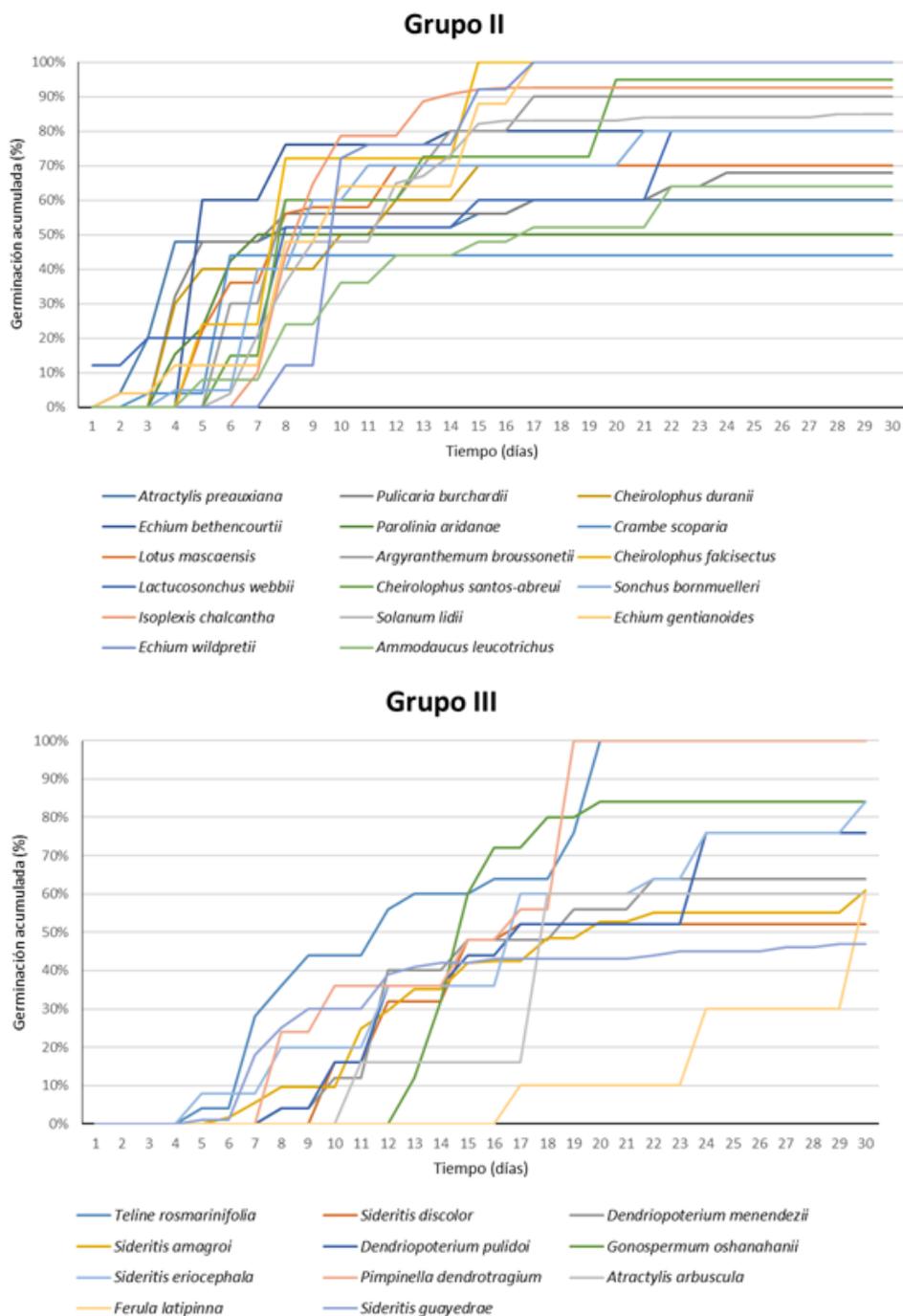


Figura 2. Curvas de germinación acumulada en los grupos inferidos II y III de endemismos canarios analizados. Grupo II con valores de T_{50} entre 4 y 10 días; grupo III con valores de T_{50} superiores a 10 días.

DISCUSION

Una de las principales funciones de los bancos de germoplasma además de conservar el material en condiciones adecuadas para postergar su viabilidad en el tiempo es disponer de protocolos de germinación óptimos para que las semillas germinen con un porcentaje de germinación adecuado en el menor tiempo posible. Estos protocolos de germinación no solo deben reflejar las condiciones de luz y temperatura necesaria para la germinación de las semillas, sino también aquellos pretratamientos precisos para inhibir la posible dormancia de las semillas. En este sentido, los protocolos de germinación y pretratamientos descritos en este trabajo han mostrado un alto grado de eficacia obteniéndose porcentajes de germinación del 80% de media. Así, los protocolos de germinación aquí establecidos, son susceptibles de utilizarse en planes de recuperación de especies amenazadas para implementar las tasas de germinación de los diferentes endemismos estudiados.

En relación con la dinámica de germinación se pudieron agrupar los endemismos estudiados en tres grupos, en función de los valores de los parámetros de germinación analizados. En general se observó que aquellos taxones de un mismo género, próximos entre sí o que ocupaban un mismo hábitat mostraron una dinámica de germinación similar (ej. *Sideritis*, *Echium*, *Limonium*, *Dendriopoterium*, *Cheirolophus*) concentrándose en un mismo grupo (Figura 1 y 2). Este resultado está de acuerdo con PRIMARCK (1987) en cuanto a que la variación en el tiempo de germinación, fisiología, tamaño de las semillas y morfología de las plantas permite a cada especie especializarse en unos requerimientos de germinación que van encaminados a la adaptación de una especie a un ambiente determinado.

Aunque no se reveló ninguna correlación entre los parámetros de germinación estimados y las variables fisiológicas, ecológicas, taxonómicas, o el tiempo de almacenamiento, sí se detectaron diferencias significativas en el porcentaje de germinación entre semillas en relación al peso. De forma que aquellas semillas con un peso superior a 2 mgr presentaron un porcentaje de germinación superior (87%) que las semillas inferiores a ese peso (73%). El tamaño de las semillas puede variar en un rango de 10 órdenes de magnitud entre especies, pero dentro de las especies el peso de las semillas es uno de los componentes menos plásticos (HARPER *et al.*, 1970). El tamaño de la semilla está en relación con el comportamiento de la germinación y el ciclo biológico de la especie (SILVERTOWN, 1981).

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran las condiciones de idoneidad de almacenamiento de semillas del Banco de Germoplasma del Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo" - Unidad Asociada al CSIC, puesto que no se detecta una tendencia a la pérdida de viabilidad con el tiempo de almacenamiento. Así, accesiones almacenadas durante 17 ó 35 años (3113/B, *Limonium preauxi* y 184/B, *Solanum lidii*, respectivamente), siguen mostrando porcentajes de germinación superiores al 80% (Tabla 3). Estos resultados coinciden con otras publicaciones en especies canarias que muestran la idoneidad de las condiciones

de almacenamiento del Banco de Germoplasma (GONZÁLEZ-PÉREZ *et al.* 2021); GONZÁLEZ-PÉREZ & GARCÍA-CABRERA, 2021).

AGRADECIMIENTOS

Los autores manifiestan su agradecimiento a Alicia Roca, coordinadora del Banco de Germoplasma del Jardín Botánico “Viera y Clavijo” desde 1990 hasta 2018.

REFERENCIAS

- BACCHETTA, G., A. BUENO-SÁNCHEZ, G. FENU, B. JIMÉNEZ-ALFARO, E. MATTANA, B. PIOTTO & M. VIREVAIRE eds. 2008.- *Conservación ex situ de plantas silvestres*. Principado de Asturias/La Caixa.
- BAKER, H., g. 1972. Seed weight in relation to environmental conditions in California. *Ecology*, 53: 997-1010.
- BAÑARES Á., G. BLANCA, J. GÜEMES, J.C. MORENO & S. ORTIZ (eds.) 2004.- *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vasculosa Amenazada de España*. Dirección General de Conservación de la Naturaleza. Madrid.
- BEWLEY, J.D., K. BRADFORD, H. HILHORST & H. NONOGAKI, 2013.- *Seeds. Physiology of Development, Germination and Dormancy*. Third edition. Springer. New York.
- BROADHURST, L.M., A. LOWE, D.J. COATES, S.A. CUNNINGHAM, M. MCDONALD, P.A. VESK & C. YATES, 2008.- Seed supply for broadscale restoration: maximizing evolutionary potential. *Evolutionary Applications*, 1, 587-597.
- COOLBEAR, P., A. FRANCIS & D. GRIERSON, 1984.- The effect of low temperature pre-sowing treatment on the germination performance and membrane integrity of artificially aged tomato seeds. *Journal of Experimental Botany* 35: 1609-1617.
- DÍAZ-LIFANTE, Z. 1993.- Observaciones sobre el comportamiento en la germinación de las semillas de *Asphodelus* L. (Asphodelaceae). *Lagascalia* 17 (2): 329-352.
- FOSTER, S., A. 1986. On the adaptive value of large seeds for tropical moist forest tree: A review and synthesis. *Botanical Review*, 52: 260-99
- FU, Y.B., Z. AHMED & A. DEIDERICHSEN, 2015.- Towards a better monitoring of seed ageing under *ex situ* seed conservation. *Conservation Physiology*, 3, 26.
- GAVASSI, M.A., G.C FERNANDES, C.C. MONTEIRO, L.E.P PERES. & R.F. CARVALHO, 2014.- Seed germination in tomato: A focus on interaction between phytochromes and gibberellins or abscisic acid. *American Journal of Plant Sciences* 5: 2163-2169
- GOBIERNO DE CANARIAS. Banco de Datos de Biodiversidad de Canarias (<http://www.biodiversidadcanarias.es/biota>) [Agosto, 2020].
- GONZÁLEZ-MARTÍN M., M.A. CABRERA-PÉREZ & F.J. GONZÁLEZ-ARTELES, 1994.- Germination of Canarian species of *Globularia* L. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* Vol. 9(1): 29-34.
- GONZÁLEZ-PÉREZ M.A. & N. GARCÍA-CABRERA, 2019.- Banco de semillas del Jardín Botánico Canario “Viera y Clavijo”- UACSIC: 35 años conservando la biodiversidad de Canarias. *Botánica Macaronésica* 30: 167-178.
- GONZÁLEZ-PÉREZ M.A. & N. GARCÍA-CABRERA 2021.- Ensayo de germinación e implementación del test de Rezasurin como prueba de viabilidad en el endemismo amenazado de Gran Canaria *Solanum lidii* (Solanaceae). *Botánica Macaronésica* 31: 55-66.
- GONZÁLEZ-PÉREZ M.A., N. GARCÍA-CABRERA & I. CAYON- FERNÁNDEZ 2021.- High seeds viability recorded in an endangered endemic species, *Isoplexis isabelliana* (Webb & Berthel.) Masf. (Scrophulariaceae), after more than 30 years of storage in the Seed Bank. *Mediterranean Botany*.
- HARPER J.L., P.H. LOVELL & K.G. MOORE, 1970.- The Shapes and Sizes of Seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1: 327-356.
- HUMPHREYS, A.H., R. GOVAERTS, S.Z. FICINSKI, E.N. LUGHADHA & M.S. VORONTSOVA, 2019.- Global datasets shows geography and life form predict modern plant extinction and rediscovery. *Nature Ecology & Evolution*, 3, 1043-1047.
- KHALID, F. 2018.- *Advanced seed germination measurement tool*. AGRON Info Tech | Blogger (<https://agronexcel.blogspot.com/2018/06/this-tutorial-is-about-advanced-seed.html>).

- MATEO-SAGASTA A.L. & J.L. CERESUELA, 1982.- Germinación de especies endémicas españolas. *An. INIA, Serv. Forestal*,6: 17-41
- MAYA, P. & M. PONCE, 1989.- Algunos datos sobre la interacción entre la luz y temperatura en la germinación de algunas especies de Asteraceae de Canarias. *Botánica Macaronésica* 17: 15-26
- MAYA, P., A. MONZON & M. PONCE, 1988.- Datos sobre la germinación de especies endémicas canarias. *Botánica Macaronésica* 16: 67-79.
- MELO, F.P.L., A.V. AGUIAR-NETO, E.A. SIMABUKURO & M. TABARELLI, 2004.- Recrutamento e estabelecimento de plântulas. In A.G. Ferreira and F. Borghetti (eds.), *Germinação: do Básico ao Aplicado*. pp. 237-249, Artmed, Porto Alegre.
- MYERS, N., R.A. MITTERMEIER, G.A.B. FONSECA & J. KENT, 2000.- Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*. 403: 853-858.
- PIMM, S.L., G.J. RUSSELL, J.L. GITTLEMAN & T.M. BROOKS, 1995.- The future of biodiversity. *Science*, 269: 347-350.
- PITA, J.M. 1988.- Germinación en especies endémicas de las Islas Canarias. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.*3 (1): 39-43
- PITA, J.M. 1989.- Requerimientos de luz para la germinación de algunas especies macaronésicas. *Botánica Macaronésica* 17: 37- 46
- PRITCHARD H.W. 1987.- (completar)
- RODRÍGUEZ-ARÉVALO, I., E. MATTANA, L. GARCÍA, U. LIU, R. LIRA, P. DÁVILA, A. HUDSON, H.W. PRITCHARD & T. ULIAN, 2017.- Conserving seeds of useful wild plants in Mexico: main issues and recommendations. *Genet Resour Crop Evol*, 64:1141–1190
- SILVERTOWN, J.W. 1981.- Seed size, life span and germination date as coadapted features of plant life history. *Amer. Naturalist* 118: 860-864.