

Sistemas experimentales para la evaluación precoz de los recursos genéticos de *Pinus pinaster* Ait.

FRANCISCO FUENTE-MAQUEDA. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa Forestal. francisconf@serida.org
 CANDELA CUESTA MOLINER. Universidad de Oviedo. Departamento de Biología de Organismos y Sistemas. cuestacandela@uniovi.es
 LUCÍA RODRÍGUEZ PÉREZ. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa Forestal. luciar@serida.org
 JOSÉ MANUEL ÁLVAREZ. Universidad de Oviedo. Departamento de Biología de Organismos y Sistemas. alvarezmanuel@uniovi.es
 JUAN MAJADA GUIJO. Centro Tecnológico Forestal y de la Madera (CETEMAS). jmajada@cetemas.es
 RICARDO ALÍA MIRANDA. Centro de Investigación Forestal – INIA. alia@inia.csic.es
 ISABEL FEITO DÍAZ. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa Forestal. ifeito@serida.org



Interés de *Pinus pinaster* Ait.

Pinus pinaster Ait. es una especie relevante ecológica y económicamente en la península Ibérica. En el último Informe de Situación de los Bosques y del Sector Forestal en España, la producción media

anual de madera (con corteza) de *P. pinaster*, principalmente para aserrío o la industria del tablero, es de 3.600.000 m³, lo que equivale al 41 % de la madera extraída del resto de las coníferas españolas, y al 21 % de la madera total extraída (Bravo *et al.*, 2017). En los últimos años, la

actividad resinera es una gran oportunidad para la dinamización de zonas rurales y la conservación de los ecosistemas asociados a esta especie. En la segunda mitad del siglo XX, esta actividad alcanzó su máximo (55.000 t en 1961, con una superficie de pinar resinada próxima a las 270.000 ha y producción media 2,5-3,5 kg/árbol/año), seguido de un descenso paulatino hasta que en 2010 resurge, por incrementos de la demanda, principalmente del mercado chino y de la aparición de nuevos métodos de resinación, que permitían rebajar costes y aumentar la producción por árbol (Montero, 2019). A pesar de esto, la rentabilidad de la actividad es muy ajustada y vulnerable a las oscilaciones de los precios de la materia prima en el mercado internacional.

P. pinaster tiene una presencia natural importante en Asturias, en torno al 10% de la superficie arbolada asturiana. Según el 4º Inventario Forestal Nacional (AIEF, 2012), en Asturias hay 18.682 ha. El Plan Forestal elaborado por la entonces Consejería de Medio Rural y Pesca de Asturias en el año 2001, pendiente de ser revisado en el Plan de Ordenación de Recursos Forestales, marcó como objetivo duplicar la superficie de plantación de esta especie a lo largo de un horizonte temporal de 60 años (Rodríguez *et al.*, 2007). Desde 2019, se ha observado un fuerte incremento de su plantación, debido principalmente a los problemas sanitarios de *Pinus radiata*. La mayor tolerancia a enfermedades y plagas de *P. pinaster* le ha convertido en una especie refugio-alternativa para quienes desean plantar coníferas.

Madera y resina de *P. pinaster* son aprovechamientos sostenibles de los recursos forestales, que han contribuido a la conservación del medio natural y proporcionado empleo y riqueza a la población rural. Sin embargo, la dinámica actual de cambio climático puede afectar negativamente a esta especie y hace imprescindible una gestión integral, en la que se valore su potencial y los riesgos del sector, adaptando las masas forestales existentes y futuras. Estas acciones están consideradas en los planes y programas nacionales incluidos en la Estrategia

Española para la Conservación y el Uso Sostenible de los Recursos Genéticos Forestales, preservando su capacidad de evolución y garantizando su uso a las generaciones futuras. En esta estrategia, *P. pinaster* es la principal especie en el arco atlántico europeo y considerada como una especie modelo en estas acciones (MIMAM, 2006).

Recientemente, el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico ha aprobado el Real Decreto sobre conservación de los recursos genéticos forestales y de la flora silvestre (Real Decreto 159/2022), que tiene por objeto establecer las líneas básicas sobre conservación y uso sostenible de los recursos genéticos arbóreos de interés nacional y, en concreto, los instrumentos de planificación, coordinación y colaboración para su conservación tanto *in situ* (dentro) como *ex situ* (fuera) del medio natural.

En el planteamiento y la concreción de programas de mejora forestal tampoco debe olvidarse que los bosques y plantaciones cumplen servicios ambientales de tipo recreacional, paisajístico o turístico, que deben ser integrados con las necesidades del sector. La simulación de mercados para este tipo de bienes y servicios no comercializados ayudaría a esta gestión forestal integrada. La percepción social de estos programas de mejora es, a veces, la de un deterioro de la biodiversidad. Esta percepción debe ser revertida mediante una correcta difusión (explicación) de los programas de gestión forestal basados en mejora genética, que nunca deben ser incompatibles con los de conservación de la biodiversidad (Soliño *et al.*, 2020).

Caracterización orientada a la conservación y mejora de *Pinus pinaster* Ait.

La conservación y mejora de los recursos fitogenéticos lleva implícita la necesidad de caracterizarlos, labor que puede alcanzar un grado de complejidad alto y que es necesario acotar, pero que no resulta fácil. Se debe saber de qué se parte y qué potencial tienen nuestros recursos.



Figura 1.-Colecciones de *P. pinaster* en la Finca Experimental del SERIDA en La Mata (Grado).

A: Plantas en campo.

B: Clones en contenedor.

Desde hace casi 2 décadas, el SERIDA, en colaboración con otros muchos organismos, entre los que destacamos el CIFOR/INIA, el CETEMAS y la Universidad de Oviedo, por la larga trayectoria en común, lleva realizando estudios experimentales en *P. pinaster* con el propósito de aportar una base de conocimiento científico en la caracterización fenotípica, genética y genómica funcional de materiales de interés para investigación básica, aplicada o programas operacionales de mejora en esta especie.

Selección de procedencias con fines productores de *P. pinaster*

Como punto de partida, el programa de conservación, selección y mejora de *P. pinaster* se inicia con la aportación de entradas de distintas fuentes: 1) Recogida de semillas en los mejores rodales a partir de árboles "plus" o árboles superiores. En Asturias se seleccionaron 8 rodales (Alto La Llama, Armyán, Cadavedo, Castropol, Lamuño, Puerto de Vega, Rodoiros y Sierra de Barcia) y 80 árboles "plus". 2) Familias procedentes de una colección de procedencias generada en el marco del proyecto europeo TreeSnip. Las distintas procedencias, 43 en total, abarcan toda la geografía altamente productora donde crece *P. pinaster*, cubriendo su variabilidad geoclimática. 3) Familias del programa de mejora genética de la Xunta de Galicia.

Con fines productivos, la diversidad de la población inicial seleccionada se incrementó con la incorporación de nuevas familias de regiones de procedencia marginales. En su conjunto las entradas son

procedentes de España, Francia, Marruecos, Portugal y Túnez, y forman actualmente parte de los ensayos de procedencias, familias y clones, situados en distintas regiones de España, Francia y Portugal, tanto en terreno público como privado.

El diseño de la ubicación de los ensayos de progenies de medios hermanos se realizó en base a un estudio de las condiciones de cultivo en las distintas zonas bio-geoclimáticas existentes en el noroeste de la península ibérica, estableciéndose en base a estos datos una red de parcelas permanentes en otoño de 2004, en Barcia (Valdés), Navelgas (Tineo), Ibias y Parderrubias (Orense). El objetivo a corto plazo era constituir una población de mejora, y a medio plazo, desarrollar tecnología para el fenotipado de caracteres genéticos agronómicos o tecnológicos que se pueda implementar en un programa de mejora: vigor, calidad de fustes, baja ramiosidad, forma de copa, calidad de madera, resistencia a factores abióticos, bióticos y estabilidad ambiental.

El valor de la gran diversidad genética generada en estas colecciones de material fue la principal motivación para desarrollar un programa de clonación que permitiese su uso en experimentación básica, principalmente en aspectos de genética cuantitativa de poblaciones y asociativa, ecofisiología, así como genómica y metabolómica. El programa de clonación se realizó con una estructura interfamilia "colección para estudios genéticos" o intrafamiliar "colección para estudios de sequía" dependiendo del objetivo de uso de las colecciones.



Las colecciones específicas de sequía se instalaron en Madrid, Cáceres y Grado. En Grado se instaló en la Finca Experimental que el SERIDA tiene en su centro de La Mata (43°22'31"N 6°04'18"W, 65 m) (Figura 1.A). Las colecciones clonales para estudios genéticos se instalaron en Armayán (Asturias), Pierroton (Francia) y Valongo (Portugal).

Multiplicación clonal de *P. pinaster*

Se establecieron técnicas de reproducción vegetativa bajo condiciones controladas (Figura 1.B). La minipropagación (miniesquejes de 3–5 cm de longitud), en la que se evaluó la capacidad de enraizamiento en función de distintos factores, mostró que el uso de material juvenil, la temperatura de 25 °C y la aplicación del ácido indolbutírico eran factores favorables para un buen enraizamiento, permitiendo implementar el sistema a gran escala (Majada *et al.*, 2011).

La optimización de la nutrición nitrogenada y control de la estacionalidad de las plantas madre estableció que el tratamiento con mayor contenido de nitrógeno (543,58 mg/L) influyó significativamente en el posterior proceso de enraizamiento, afectando positivamente a la longitud, el área y el volumen de las raíces. La primavera fue la estación más favorable para enraizar los miniesquejes de este tratamiento nitrogenado (Martínez-Alonso *et al.*, 2012).

Actualmente el envejecimiento de la planta madre dificulta los esquejados anuales, por lo que recientemente se ha iniciado un proceso de rejuvenecimiento mediante propagación por injerto utilizando como púa la yema apical o los braquistos más juveniles. Los resultados de este sistema de propagación, aún pendientes de valoración, indican que la metodología podría ser válida, aunque muy laboriosa.

Bioensayos para la caracterización de *P. pinaster* frente a sequía

La capacidad de adaptación de las especies forestales a su entorno es una de las claves para su conservación y aprovechamiento y, por ello, con el objetivo de

investigar los mecanismos implicados en la adaptación a la sequía, se realizó una aproximación integral evaluando desde la ecofisiología hasta las bases moleculares, aprovechando la disponibilidad del material vegetal seleccionado en zonas contrastantes. Por otro lado, tratando de delimitar las diferentes estrategias que estos recursos fitogenéticos pueden desarrollar ante una situación estresante, se desarrollaron ensayos destinados a inducir respuestas rápidas, como puede ser el cierre estomático, o adaptación paulatina, como puede ocurrir a través de cambios morfológicos o ajuste osmótico.

La inducción del estrés hídrico puede llevarse a cabo a través de un menor suministro del recurso o a través de mecanismos que lo hagan inaccesible, como con agentes osmóticos que atrapan el agua, permitiendo que la limitación se produzca puntualmente y a la carta, pudiendo evaluarse en estos ensayos respuestas rápidas o lentas, según interés.

– Uso de agentes osmóticos

Se diseñó un sistema experimental combinando el cultivo hidropónico con un agente osmótico, el polietilenglicol de alto peso molecular (PEG 8000), que se seleccionó por su ausencia de fitotoxicidad y por no ser absorbido o asimilado por la planta, lo que permite garantizar que las respuestas observadas se deban sólo a la baja disponibilidad hídrica (Figura 2). En las plantas previamente adaptadas al cultivo en condiciones hidropónicas, los cambios morfológicos observados se relacionaron fundamentalmente con ajustes en la transpiración y conductancia estomática. Estos ensayos no permiten evaluar adaptaciones al estrés mediadas por respuestas del sistema radical, ya que, durante el periodo de aclimatación a hidroponía, la conformación de la raíz cambia, difiriendo en tamaño y forma de la que se desarrolla en cultivo sobre sustrato. Este sistema de ensayo se utilizó para un cribado de genotipos de 10 procedencias, 5 familias/procedencia y 3 copias(clon)/familia. Los resultados obtenidos mostraron una gran variabilidad, tanto entre procedencias como entre familias de cada procedencia, e incluso, entre clones de una misma familia. El tiempo al cuál se habían muerto el 50 % (T50)



Figura 2.-Cultivo hidropónico con PEG de plántulas de *P. pinaster*.

de las plantas/procedencia osciló entre 61 y 109 días del estrés hídrico inducido al disminuir el potencial osmótico de la solución nutritiva hasta -1 MPa. El ajuste osmótico fue importante, al igual que el contenido en agua de las plantas, en la supervivencia observada entre procedencias (Gaspar *et al.*, 2013).

– Limitación del aporte hídrico

Estos ensayos se adecuan al estudio de respuesta de adaptación lenta, ya que el recorte en el aporte hídrico es paulatino. La disponibilidad hídrica se puede evaluar de diferentes formas, pero quizá, el sistema más sencillo es el uso de sondas para evaluar el volumen de agua efectivamente disponible, como las sondas de reflectometría de dominio de tiempo (TDR, Time-Domain Reflectometry), que permiten realizar el registro en continuo (Figura 3). Los ensayos realizados con procedencias contrastantes mostraron mayor variabilidad en las respuestas para las procedencias atlánticas que en las mediterráneas (Baizán, 2012), lo que pone de manifiesto la existencia

de una gran plasticidad en este carácter, aunque resulta complejo manejar en estos sistemas experimentales el aporte hídrico, dadas las grandes diferencias de consumo entre materiales vegetales tan contrastantes.

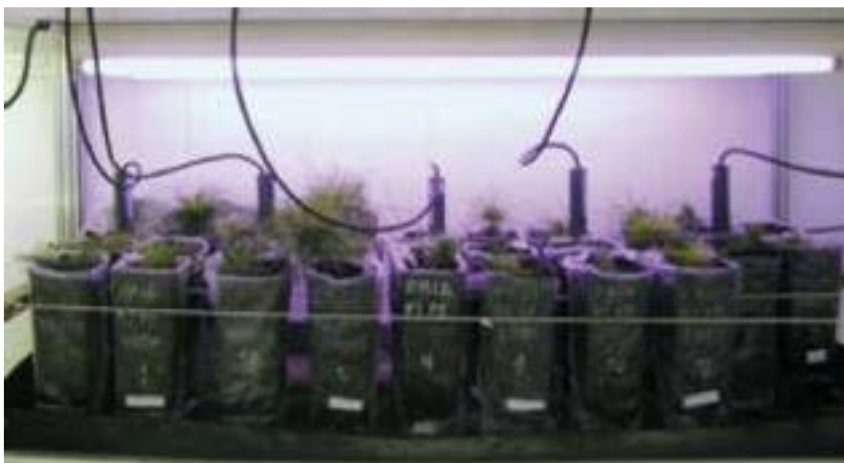
En cuanto al establecimiento de marcadores fisiológicos que permitan la detección precoz de genotipos de interés, los estudios realizados con la procedencia Oria muestra una estrategia hídrica conservativa, ajustando el consumo de agua, con un ajuste osmótico activo, lo que le permite mantener un contenido de agua alto en los tejidos y un control hormonal basado en el ácido abscísico (ABA) (Baizán *et al.*, 2011).

Bioensayo para la determinación de la interacción sequía-frío en *P. pinaster*

El “Síndrome General de Adaptación” (GAS, General Adaptation Syndrome) implica respuestas fisiológicas similares generadas ante estímulos estresantes diferentes, que permiten a la planta manifestar resistencia a más de un factor estresante (corresistencia; Prasad, 1996). Este mecanismo inherente de resistencia al estrés múltiple es muy ventajoso, ya que las plantas en la naturaleza se enfrentan normalmente a varios factores estresantes y el acondicionamiento a un factor puede incrementar la tolerancia a ese u otro agente. Así, cuando una planta se somete a estrés hídrico, antes de un período de heladas, este déficit de agua disminuye los daños producidos por las bajas temperaturas (Maldonado *et al.*, 1997). En respuesta al estrés hídrico, los niveles de azúcares y otros solutos como la prolina, se incrementan y reducen el agua libre en los tejidos al actuar como osmóti-



Figura 3.-Ensayo de *P. pinaster* en sustrato con control hídrico por sondas TDR.



cos y por ende la formación de hielo extracelular, que provoca la deshidratación de las células, cuando las temperaturas son muy bajas.

El diseño experimental para valorar la asociación de este coestrés constó de 2 partes:

– **Endurecimiento por estrés hídrico**

Utilizando el sistema y la información generada en los ensayos de estrés hídrico para cultivo en sustrato, se acondicionó la mitad de un lote de plantas mediante déficit hídrico gradual hasta su tolerancia máxima, 20% de capacidad de campo, dejando la otra mitad al 95%.

– **Evaluación de la tolerancia a frío**

La tolerancia a frío se valoró mediante el método de liberación de electrolitos, evaluando el índice de daño y la temperatura letal media de congelación. Ambas variables se estiman en función del momento en el que la baja temperatura provoca daños en las células que desencadenen la liberación de electrolitos. Por otro lado, a través de la técnica de calorimetría de barrido diferencial (DSC, Differential Scanning Calorimetry) se estimó la cantidad de agua que permanecía libre en los tejidos.

Se puede incrementar la tolerancia al frío de planta clonal juvenil de *P. pinaster* limitando el contenido hídrico de los tejidos. El ajuste osmótico es importante en la crioprotección, dada la correlación encontrada entre los indicadores osmóticos y la tolerancia al frío. La técnica de DSC se mostró como rápida y fiable para determinar el estado hídrico de los tejidos vegetales.

Bioensayo para determinar la influencia de la oscilación térmica día-noche en el desarrollo de *P. pinaster*

La temperatura no solo influye en cuanto a su valor absoluto, sino que también actúa de diferente manera en función de la diferencia térmica día-noche (DIF). La oscilación térmica produce alteraciones en la floración, lo que podría llegar a afectar, en casos muy extremos, al mantenimiento de la especie a través de su reproducción. Se sabe que un DIF po-

sitivo en plantas de día largo promueve mayor elongación de tallos, al asociarse a mayores contenidos en giberelinas (Ohtaka *et al.*, 2020). En *P. pinaster*, se sabe que las giberelinas estimulan el desarrollo de los tallos y el crecimiento continuo, con menor policiclismo en plántulas juveniles (MacDonald & Little, 2006). El policiclismo se debe a que las yemas apicales formadas en la primavera no detienen su crecimiento y forman nuevos verticilos de verano, dando lugar a una mayor ramificación. Por esto, se planteó un ensayo en el que, combinando ambos factores, aplicación de giberelinas y ausencia de termoperiodo, se pudiese valorar el fenotipo de estas plantas, además de analizar cómo se modifican los perfiles hormonales entre los que se encuentran esta familia de compuestos tan importantes, las giberelinas.

El ensayo se realizó con plantas de 2 años en contenedor, seleccionadas para que mostrasen un grado de desarrollo similar y exponiéndolas a 2 regímenes térmicos: oscilación térmica (T_{Osc}^a) 25 °C (“día”) / 15 °C (“noche”) y temperatura constante (T_{Cte}^a) de 25 °C. El resto de condiciones ambientales, luz y humedad, se mantuvo por igual en los dos tratamientos. Para complementar el estudio, se aplicaron exógenamente 2 compuestos: paclobutrazol, como inhibidor de giberelinas, y GA₃, como giberelina de uso más frecuente. Los resultados mostraron que ambos factores afectan a la expresión de caracteres que se relacionan con la conformación del árbol adulto, como pueden ser la velocidad de crecimiento, el cambio de ontogenia y el policiclismo. Los análisis de los perfiles hormonales constatan la importancia de las giberelinas, que no actúan solas, existiendo balances o interacciones hormonales asociadas a las distintas respuestas, que, en términos fisiológicos, se conoce como “cross-talk hormonal”.

Bioensayo para determinar la influencia del fotoperiodo en el desarrollo de *P. pinaster*

La conformación del árbol se relaciona directamente con la calidad de su madera. La selección de caracteres en adultos que mejoren esta conformación está

→
Figura 4.-Estados ontogénicos.



dentro de la actuación llevada a cabo para el establecimiento de la colección de recursos fitogenéticos de *P. pinaster*. No obstante, en la descendencia de esas madres destacadas habrá gran variabilidad de forma, por lo que son factores importantes a reevaluar. Esperar que los individuos lleguen a adultos para testarlos supone un retraso en la obtención de información, además de invalidar la potencial multiplicación vegetativa de los mismos.

La luz es el factor ambiental más determinante en el desarrollo vegetal, por su doble acción como recurso energético (fotosíntesis) y su efecto sobre el desarrollo (fotomorfogénesis). El fotoperiodo, duración del periodo de luz, es una variable que influye en aspectos tan importantes como el crecimiento vegetativo y reproductivo. Nguyen *et al.* (1995) demostraron que en *P. pinaster* la luz es capaz de desencadenar respuestas diferenciales en genotipos que presentan diferente predisposición a desarrollar crecimientos policíclicos.

El efecto del fotoperiodo se ha constatado en condiciones de cultivo controladas (luz, humedad y temperatura) cultivando plántulas de pino, con diferente desarrollo ontogénico (Figura 4), en fotoperiodo largo, 16 h de luz, y luz continua, como condición inductiva del carácter policiclismo. La realización de estos ensayos permitió constatar los perfiles hormonales asociados a las diferentes ontogénias y la influencia del fotoperiodo en la cronosecuencia a nivel fenotípico, abriendo la posibilidad de evaluar el carácter

policiclismo (Nguyen *et al.*, 1995) asociándolo a una caracterización hormonal (Delatorre *et al.*, 2018) o molecular.

Bioensayo para la evaluación del control/dominancia apical en *P. pinaster*

El conocimiento de las bases genéticas y fisiológicas de aquellos caracteres relacionados con el crecimiento y la ramificación, que definirán la calidad de la madera, es una prioridad para establecer parámetros que permitan la selección precoz de genotipos para futuras plantaciones de mejor calidad de la madera. Para lo cual, es determinante conocer el patrón de desarrollo del meristemo primario apical y órganos laterales, así como los procesos secundarios de xilogénesis. Lo habitual es asumir que los mecanismos fisiológicos y los genes implicados en estos procesos en coníferas son homólogos a los descritos en angiospermas. Sin embargo, las particularidades morfológicas, fisiológicas y genéticas de las coníferas y, en concreto del género *Pinus*, desaconsejan la extrapolación completa de los datos disponibles. De ahí, la necesidad de este tipo de estudios específicos en *P. pinaster*. Para el estudio de este control/dominancia apical se han llevado a cabo 2 ensayos:

– Aplicación exógena de compuestos relacionados con el desarrollo vegetal

El control que el ápice ejerce sobre el desarrollo de los verticilos, dominancia o control apical, se basa en complejas interacciones hormonales. Las auxinas se mantienen como los efectores primarios, y en plantas modelo como *Arabidopsis* o



guisante, se proponen 3 hipótesis para explicar el modo de acción, estando 2 de ellas más consolidadas: transporte/canalización de auxinas y acción directa a través de mensajero secundario, estrigolactonas (Brewer *et al.*, 2015). Estas hipótesis no son excluyentes, pero es interesante conocer su peso relativo en la ramificación de *P. pinaster*, ya que serviría como base para establecer marcadores precoces en la selección de genotipos de interés. La 3ª hipótesis, tampoco excluyente, prioriza los azúcares como señales, además de como reservas energéticas.

Para los ensayos se utilizaron plantas de 2 años con ontogenia tipo adulto (3, Figura 4) seleccionando siempre plantas en las que sólo hubiera 2 yemas verticales, además de la apical, que se escindió para conseguir así una misma situación de partida en las 2 yemas verticales (Figura 5.A). La aplicación exógena de reguladores se basó en aquellos que bibliográficamente están relacionados con la dominancia apical: ácido N-(1-naftil)ftalámico (inhibidor del transporte de auxinas), estrigolactona sintética GR24, TIS108 (inhibidor de estrigolactonas) y giberelina GA₃. Los resultados parecen indicar que las estrigolactonas pueden actuar directamente (Cuesta *et al.*, 2021), si bien aún no se ha podido modelizar el proceso de dominancia/control apical en pino, pues no están evaluados todos los datos a nivel fenotípico y molecular.

– **Anillado**

A partir de la evolución en campo de los diferentes genotipos de la colección se constata una gran variabilidad en el

modelo de crecimiento. El control/dominancia apical en el verticilo de invierno suele ser muy moderado con un control bajo de la yema líder sobre el crecimiento de las ramas verticales. En situaciones tales como daño o ruptura de la yema principal, una de las laterales deja de estar sometida a este control, creciendo y desarrollando madera de compresión que le permite maximizar la verticalidad y establecer dominancia. La teoría de la canalización de auxinas es la que habitualmente se mantiene para explicar esta modificación, pero el transporte de fotoasimilados también es relevante. De manera experimental se puede manipular ambos factores realizando anillamientos por encima o por debajo de un verticilo concreto, deteniendo así el flujo floemático, y, por tanto, el flujo de auxinas, y de nutrientes (Wilson & Gartner, 2002).

En junio, tras el inicio del crecimiento de primavera, se llevaron a cabo anillamientos en pinos de 5 años. El anillado se realizó eliminando la corteza (1 cm de ancho) y cubriendo la zona intervenida con lámina Parafilm, para limitar la recuperación de la formación del floema (Figura 5.B). Tras 3 años de seguimiento, algunos de los resultados mostraron que tanto el verticilo sobre el que se hizo la actuación, como el desarrollado en ese verano tras el anillado, se ven afectados por igual con los dos tipos de anillado, inhibiéndose el desarrollo con respecto al eje principal, lo que *a priori* parece contrario a la hipótesis de la canalización. No obstante, queda por evaluar los datos finales que apuntan a que la intervención superior afecta a un factor determinante como es la verticali-

↓
Figura 5.-Ensayos de aplicación exógena de compuestos (A) y anillamiento (B) para la evaluación del control/dominancia apical.



dad, que por el contrario constataría esa hipótesis.

Los resultados obtenidos permiten avanzar en el establecimiento de los mecanismos que determinan la respuesta de ramificación, siendo los primeros pasos para establecer potenciales marcadores que actúan en la cadena de sucesos que conducen a un determinado modelo de desarrollo, entendiéndose éste como conformaciones más o menos ramificadas. La trascendencia del papel de las hormonas y los reguladores de crecimiento en el desarrollo vegetal es incuestionable, pero su evaluación es muy compleja, en especial si consideramos que el material de estudio es una conífera, con gran distancia evolutiva con los modelos habituales desarrollados en angiospermas. Por esto, el avance en el conocimiento del papel de 2 grupos de compuestos tan importantes en el desarrollo vegetal, giberelinas y estrigolactonas, pero que no constituyen los compuestos diana de la mayoría de los estudios de ramificación, como sí lo son las citoquininas y las auxinas, supone avanzar hacia la implementación de estos como potenciales marcadores para la selección precoz de pinos de calidad mejorada.

Agradecimientos

Los trabajos descritos fueron posibles gracias a la financiación recibida del Programa Marco Europeo FP5 [proyecto QLK3-CT2002-01973 (TREESNIPS)], el Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA) del Ministerio de Ciencia e Innovación de España y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) [proyectos: AGL2006-03242-FOR (HIDROFOR), RTA2007-00084-00-00, PSS-310000-2008-3 (ADAPTA/EVALÚA), RTA 2010-00120-C02-00 (CLONAPIN), RTA2013-00048-C03-02 y RTA2017-00063-C04-04] y la Consejería de Medio Rural y Cohesión Territorial del Principado de Asturias. Por la envergadura de estos proyectos, generalizamos el agradecimiento a todas aquellas personas que han participado en ellos, destacando a Ângelo K. Dantas, Mónica Meijón, Tania Velasco, Carolina Delatorre, Celia Martínez, Silvia Baizán, Juan Carlos Hernández y Antonio Fernández. También agradecemos la cesión de material vegetal al Vivero Forestal de La Mata (Empresa Pública Sociedad de Servicios del Principado de Asturias).

Referencias bibliográficas

- AIEF (Área de Inventario y Estadísticas Forestales) (2012). Cuarto Inventario Forestal Nacional: Principado de Asturias. Ed. Dirección General de Desarrollo Rural y Política Forestal del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (España). 58 pp.
- BAIZÁN, S. (2012). Endurecimiento en plantas juveniles de *Pinus pinaster* Aiton para incrementar la tolerancia al frío. Trabajo Fin de Grado (Ingeniería Forestal y del Medio Natural), Universidad de Oviedo.
- BAIZÁN, S.; FEITO, I.; MAJADA, J. & MARTÍNEZ, C. (2011). Relationship of ABA and proline in stages of drought response in *Pinus pinaster* of Oria provenance. In: 12th European Ecological Federation Congress, Ávila, 25-29 septiembre.
- BRAVO, F.; GUIJARRO, M.; CÁMARA, A.; DÍAZ BALTE- RÍO, A.; FERNÁNDEZ, P.; PAJARES, J. A.; PEMÁN, J. & RUIZ PEINADO, R. (2017). La situación de los bosques y el sector forestal en España – ISFE 2017. Ed. Sociedad Española de Ciencias Forestales. 276 pp.
- BREWER, P. B.; DUN, E. A.; GUI, R.; MASON, M. G. & BEVERIDGE, C. A. (2015). Strigolactone inhibition of branching independent of polar auxin transport. *Plant physiology*, 168 (4): 1820-1829. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00014>
- CUESTA, C.; ÁLVAREZ, J. M.; FERNÁNDEZ, A.; FUENTE-MAQUEDA, F.; ORDÁS, R. J. & FEITO, I. (2021). *Pinus* architecture and branching network. *Biología de Plantas 2021, XXIV Reunión de la Sociedad Española de Biología de Plantas, XVII Congreso hispano-luso de Biología de Plantas, Vigo, 7-9 julio*.
- DELATORRE, C.; ÁLVAREZ, J.; MEIJÓN, M.; ORDÁS, R.; FEITO, I. & CUESTA, C. (2018). Plant ramification in *Pinus pinaster*: environmental role and physiological bases. XV Simposio sobre Metabolismo y Modo de Acción de Fitohormonas, Valencia, 13-14 diciembre.
- GASPAR, M. J.; VELASCO, T.; FEITO, I.; ALÍA, R. & MAJADA, J. (2013). Genetic variation of drought tolerance in *Pinus pinaster* at three hierarchical levels: A comparison of induced osmotic stress and field testing. *PLOS One*, 8 (11): e79094. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079094>
- MACDONALD, J. E. & LITTLE, C. H. A. (2006). Foliar application of GA₃ during terminal long-shoot bud development stimulates shoot apical meristem activity in *Pinus sylvestris* seedlings. *Tree Physiology*, 26 (10): 1271-1276. <https://doi.org/10.1093/treephys/26.10.1271>

- MAJADA, J.; MARTÍNEZ, C.; VELASCO-CONDE, T.; FEITO, I.; ARANDA, I. & ALÍA, R. (2011). Mini-cuttings: an effective technique for the propagation of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.). *New Forest*, 41 (3): 399-412. <https://doi.org/10.1007/s11056-010-9232-x>
- MALDONADO, C. A.; ZUÑIGA, G. E.; CORCUERA, L. J. & ALBERDI, M. (1997). Effect of water stress on frost resistance of oat leaves. *Environmental and experimental botany*, 38 (2): 99-107. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(96\)01045-3](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(96)01045-3)
- MARTÍNEZ-ALONSO, C.; KIDELMAN, A.; FEITO, I.; VELASCO, T.; ALÍA, R.; GASPAS, M. J. & MAJADA, J. (2012). Optimization of seasonality and mother plant nutrition for vegetative propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forest*, 43: 651-663. <https://doi.org/10.1007/s11056-012-9333-9>
- MIMAM (Ministerio de Medio Ambiente de España) (2006). Estrategia de conservación y uso sostenible de los recursos genéticos forestales. Ed. Dirección General para la Biodiversidad. 81 pp.
- MONTERO, G. (2019). *Pinus pinaster* Ait. *Foresta*, 73: 6-7.
- NGUYEN, A.; DORMLING, I. & KREMER, A. (1995). Characterization of *Pinus pinaster* seedling growth in different photo- and thermoperiods in a phytotron as a basis for early selection. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 10 (1-4): 129-139. <https://doi.org/10.1080/02827589509382876>
- OHTAKA, K.; YOSHIDA, A.; KAKEI, Y.; FUKUI, K.; KOJIMA, M.; TAKEBAYASHI, Y.; YANO, K.; IMANISHI, S. & SAKAKIBARA, H. (2020). Difference between day and night temperatures affects stem elongation in tomato (*Solanum lycopersicum*) seedlings via regulation of gibberellin and auxin synthesis. *Frontiers in Plant Science*, 11: 577235. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.577235>
- PRASAD, M. N. V. (1996). *Plant Ecophysiology*. Ed. Willey, Nueva York, EE. UU. 552 pp.
- Real Decreto 159/2022, de 1 de marzo, sobre conservación de los recursos genéticos forestales y de la flora silvestre. *Boletín Oficial del Estado*, 59, 10/03/2022: 28311-28336. <https://www.boe.es/eli/es/rd/2022/03/01/159>
- RODRÍGUEZ, R.; MAJADA, J.; BENITO, J. L. & BRAÑA, M. (2007). *Selvicultura del pino pinaster (Pinus pinaster) Manual básico Cuidados culturales del pino pinaster en Asturias para producir madera de calidad*. Consejería de Medio Ambiente y Desarrollo Rural del Principado de Asturias. 32 pp.
- SOLIÑO, M.; ALÍA, R. & AGÚNDEZ, D. (2020). Citizens' preferences for research programs on forest genetic resources: A case applied to *Pinus pinaster* Ait. in Spain. *Forest Policy and Economics*, 118: 102255. <https://doi.org/10.1016/j.forpol.2020.102255>
- WILSON, B. F. & GARTNER, B. L. (2002). Effects of phloem girdling in conifers on apical control of branches, growth allocation and air in wood. *Tree Physiology*, 2 (5): 347-353. <https://doi.org/10.1093/treephys/22.5.347> ■



←
Floración de *Pinus pinaster* Ait.