



9CFE-1610

Actas del Noveno Congreso Forestal Español
Edita: **Sociedad Española de Ciencias Forestales. 2025.**
ISBN: 978-84-941695-7-1

Organiza





Selección clonal por resistencia a la enfermedad del marchitamiento del pino en *Pinus pinaster* Ait.

MENÉNDEZ GUTIÉRREZ, M. (1), VILLAR CAAMAÑO, R. (2) y DÍAZ VÁZQUEZ, R. (1)

(1) Centro de Investigación Forestal de Lourizán. Xunta de Galicia.

(2) Fundación Arume.

Resumen

La mejora genética por resistencia a *Bursaphelenchus xylophilus*, patógeno causante de la enfermedad del marchitamiento del pino, constituye una de las principales herramientas de lucha contra esta enfermedad. En países considerablemente afectados como Japón y China, parte del manejo de la enfermedad se basa en la realización de plantaciones a partir de clones resistentes de las principales especies de pino autóctonas.

Dentro del programa de mejora genética gallego de *Pinus pinaster* Ait., y tras la inclusión en el Catálogo Nacional de Materiales de Base de 6 progenitores de familia resistentes a *B. xylophilus*, se han realizado una serie de ensayos de inoculación artificial en condiciones controladas para la evaluación y selección de nuevos genotipos resistentes. Así, entre 2019 y 2021, se evaluaron 75 clones procedentes de 3 de los progenitores catalogados como resistentes. Los ensayos se realizaron en un invernadero del Centro de Investigación Forestal de Lourizán empleando plántulas de 2 años de edad.

Los resultados muestran la existencia de variación genética clonal intrafamiliar en resistencia a *B. xylophilus*, oscilando la mortalidad de los clones entre 0 y 100%. Los clones más resistentes serán catalogados como nuevo material forestal de reproducción para su utilización por el sector forestal.

Palabras clave

Mejora genética, susceptibilidad, *Bursaphelenchus xylophilus*, clones, pino marítimo.

1. Introducción

El nematodo de la madera del pino, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Burher) Nickle, patógeno causante de la enfermedad del marchitamiento del pino, está presente en Europa desde 1999, cuando fue detectado en Portugal (MOTA et al. 1999). En España, desde 2008 se han sucedido diferentes positivos en Castilla y León, Extremadura y Galicia. En ésta última comunidad, se sitúa la zona demarcada declarada más recientemente, en diciembre de 2024 en Ourense (DOG, 2024).

Esta enfermedad produce cuantiosas pérdidas económicas, tanto por los elevados costes de control y erradicación como por la mortalidad que provoca en numerosas especies de pino. En Europa, se ha confirmado la susceptibilidad en campo de *Pinus radiata* D. Don (ZAMORA et al., 2015), *Pinus nigra* Arnold (INÁCIO et al., 2014), *Pinus sylvestris* L. (FONSECA et al., 2024), y *Pinus pinaster* Aiton (MOTA et al. 1999), siendo las masas de esta última las principalmente afectadas tanto en España como en Portugal. Esta especie, además de tener una gran importancia por proveer a una significativa industria de transformación de la madera en gran



parte del arco atlántico, es una de las especies forestales de mayor importancia en Galicia ocupando el 15,35% de la superficie forestal arbolada (IFN4) y con unas cortas anuales de 1,73 millones de m³ (PICOS, 2024). Este hecho, unido a la grave amenaza que supone la enfermedad del marchitamiento del pino con dos zonas demarcadas en la actualidad por este patógeno en Galicia (Ourense, 2024; As Neves (Pontevedra) activa desde 2010), han propiciado el inicio de una nueva línea de trabajo centrada en la resistencia a *B. xylophilus* dentro del programa de mejora genética de *P. pinaster* del Centro de Investigación Forestal en Galicia.

En 2013 se inicia esta nueva línea de trabajo, y desde entonces se han llevado a cabo diferentes ensayos de inoculación artificial en condiciones controladas con un primer objetivo de determinar la variación genética en susceptibilidad de *P. pinaster* frente a *B. xylophilus* tanto a nivel procedencia (MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ et al., 2017, TORRES-SÁNCHEZ et al., 2021) como a nivel familiar (MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ et al., 2018). Con estos trabajos, no solo se ha podido confirmar la existencia de una amplia variación genética y una heredabilidad moderadamente alta de la supervivencia a *B. xylophilus*; sino que se han podido seleccionar familias que destacan por su supervivencia al nematodo de la madera del pino. En 2020, 3 familias del programa mejora genética de *P. pinaster* se incluyeron como progenitores de familia resistentes al nematodo en el Catálogo Nacional de Materiales de Base (MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ et al., 2022). Estas familias además de ser un 25% superiores en resistencia en comparación con la media de la totalidad de las familias estudiadas, poseen un crecimiento en volumen entre un 11 y un 28 % mayor que el material de base gallego de la categoría identificada. Por tanto, estos resultados reafirman que la mejora genética podría ser una estrategia a largo plazo para el control de la enfermedad. De hecho, la mejora genética está siendo implementada por todos los países más afectados, llevando a cabo la selección de individuos en las zonas con elevada mortalidad causada por *B. xylophilus*.

Japón, el país más avanzado en mejora genética por resistencia a *B. xylophilus*, comenzó un programa nacional de mejora genética en 1978 en el suroeste del país para sus principales especies de coníferas afectadas, *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. y *Pinus thunbergii* Parl. (FUJIMOTO et al., 1989). En 1984 se habían seleccionado 92 clones resistentes de *P. densiflora* y 16 de *P. thunbergii* en este primer programa de mejora. A medida que la enfermedad se fue propagando a las partes oriental y septentrional de Japón, se iniciaron otros programas de mejora genética. Hasta marzo de 2023, los diferentes programas de mejora habían llevado a la selección de 314 clones resistentes de *P. densiflora* y 276 de *P. thunbergii*. Los clones resistentes son propagados mediante injerto para el establecimiento de huertos semilleros para el aprovisionamiento de semilla resistente, habiéndose instalado hasta 2021, 37 y 55 huertos semilleros de *P. densiflora* y *P. thunbergii*, respectivamente. Además, ya cuentan con una segunda generación producto de la realización de cruces entre clones resistentes (FFPRI).

China, por su parte, inició en 2001 un programa de mejora para su especie nativa más extendida, *Pinus massoniana* Lamb., (NOSE Y SHIRAISHI, 2008), seleccionando 1.201 plantas de 251 familias y estableciendo un huerto semillero (XU et al., 2013).

Portugal realizó una selección de 457 árboles de *P. pinaster* en la zona de mayor incidencia de la enfermedad y la evaluación de 96 de estos árboles indican la posibilidad de instalar un huerto semillero clonal con los 15 mejores árboles estudiados (CARRASQUINHO et al., 2018).

Otros de los métodos para el control de la enfermedad se centran en el manejo de



las masas o en la eliminación del insecto vector, como la eliminación de árboles sintomáticos antes de que se produzca su emergencia, el uso de trampas de feromonas para la captura masiva y la pulverizaciónfumigación aérea de insecticidas para controlar las poblaciones del vector. Sin embargo, estos métodos únicamente consiguen retrasar el avance de la enfermedad; las trampas no son eficaces en insectos inmaduros, que son los principales transmisores de nematodos a huéspedes, y la pulverizaciónfumigación es un método con implicaciones medioambientales negativas, y con un coste muy elevado derivado de su aplicación a gran escala principalmente con medios aéreos. Por otro lado, una medida eficaz contra el patógeno es la inyección de nematicidas en el tronco, pero únicamente se utiliza como método preventivo en árboles de gran valor, ya que no es aplicable a gran escala.

2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es la evaluación de la susceptibilidad frente al nematodo de la madera del pino de clones de *P. pinaster* procedentes de 3 familias del programa de mejora genética de Galicia que han sido incluidos en el Catálogo Nacional de Materiales de Base como progenitores de familia resistentes, comparándolos con un testigo comercial.

3. Metodología

En este estudio se evaluaron un total de 75 clones pertenecientes 3 familias del programa de mejora genética gallego de *P. pinaster* (21 clones de la familia F01, 26 clones de la familia F02 y 28 de la familia F03). Para la obtención del material vegetal, se establecieron campos de plantas madre con 30 individuos por familia, y se procedió a su propagación vegetativa mediante estaquillado. Las estaquillas se sumergieron durante 10 minutos en fungicida y, a continuación, en ácido indol butírico (AIB) con una concentración de 2 g/l durante 2 minutos. Las estaquillas se colocaron en cajas de poliespán con la mezcla perlita: turba (8:2) en un invernadero con un sistema de riego por aspersión aérea. Transcurridos entre 3 y 4 meses, la estaquilla enraizada se trasplantó a macetas de 2 litros para su utilización en los ensayos de inoculación.

La evaluación de los clones se realizó mediante 2 ensayos de inoculación. Estos se llevaron a cabo en condiciones controladas en un invernadero con una temperatura media de 23°C (Día: 26,3°C; Noche: 19,7°C), utilizando plántulas de 2 años procedentes de propagación vegetativa, y siguiendo un diseño de bloques completos al azar, con 7 bloques y entre 3-7 plantas por clon. Se evaluaron 70 clones en el Ensayo 1, y 22 en el Ensayo 2.

La inoculación en cada uno de los ensayos fue llevada a cabo con una suspensión 4.000 nematodos/ml, utilizando la cepa SpPO1 aislada en el positivo detectado en 2010 en As Neves (Pontevedra), cuya virulencia ha sido demostrada (MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ et al., 2021). La cría de nematodo se realizó en un cultivo de *Botrytis cinerea* no esporulada con medio PDA y mantenido en oscuridad a 25°C.

El procedimiento de inoculación consistió en la realización de un corte longitudinal sobre el tallo exponiendo el córtex. La herida se rodea con una gasa, se realiza un embudo con Parafilm® y se pipetea 300 µl de inóculo; por último, se cierra el embudo para evitar la desecación. Las plantas control se inocularon con agua destilada siguiendo el mismo procedimiento.

En cada uno de los ensayos se midieron diferentes caracteres morfológicos justo antes de la inoculación: altura (H, cm), número de ramas principales (NR) y diámetro en el cuello de la raíz (D, mm). Los síntomas (W) se evaluaron en todos los ensayos dos veces por semana desde la aparición de los primeros síntomas hasta que se observó que no había progresión de estos. Se siguió una escala del 1 al 7 en función del porcentaje de acículas que presentaban decoloración o marchitamiento (1 – sin síntomas externos; 7 – todas las acículas marrones y marchitas, MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ et al., 2017a). A partir de los datos de W se estableció la supervivencia (S) como una variable binaria: 0 – muerta (estadios del 0 al 5), 1 – viva (estadios 6 y 7). Para los individuos muertos al finalizar el ensayo, se estimaron 3 variables de evolución de la enfermedad: inicio (IW) y fin de los síntomas (FW), establecidos en días transcurridos tras la inoculación, y la duración de los síntomas (DW), como la diferencia entre las dos variables.

Al finalizar los ensayos, 127 días tras la inoculación (DAI) para el Ensayo 1 y 109 DAI para el Ensayo 2, se llevaron a cabo conteos de nematodos en tallo y también en las raíces en el Ensayo 1. En este ensayo se realizaron un total de 265 conteos de plantas inoculadas de 53 clones, mientras que en el Ensayo 2 se realizaron de un total de 115 plantas inoculadas de 23 clones. Para llevar a cabo los conteos, primeramente, se procedió al procesado de las muestras en segmentos de aproximadamente 0,3 cm para su extracción mediante el método modificado del embudo de Baermann y posteriormente se cuantificó el número de nematodos mediante un estereomicroscopio (Olympus Co., Ltd., Tokio, Japón). La densidad de nematodos se expresó en número de nematodos por gramo de peso seco.

Los análisis estadísticos de los datos se realizaron con R (vers. 4.2.2, R Core Team, 2022). Para cada variable se realizaron las transformaciones necesarias para cumplir la normalidad y homocedasticidad. Todos las variables se analizaron mediante modelos lineales mixtos con la función lmer() del paquete lme4, excepto la supervivencia que se analizó con un modelo lineal generalizado mixto de tipo binomial, con la función glmer(family=binomial(logit)), incluyendo la familia como factor fijo, y el clon anidado a la familia y el bloque como factor aleatorio.

El test no paramétrico de Kruskal-Wallis fue utilizado para analizar las diferencias entre clones y familias en la densidad de nematodos. La prueba U de Mann-Whitney se llevó a cabo para comparar las diferencias entre clones cuando fueron significativas.

Mediante el test de correlación de Spearman se evaluaron las correlaciones de datos fenotípicos entre todas las variables estudiadas.

4. Resultados

Los caracteres morfológicos evaluados previamente a la inoculación, D, H y NR mostraron diferencias significativas entre clones en los dos ensayos; sin embargo, entre familias se encontraron diferencias significativas para H en los dos ensayos y D en el Ensayo 1 (Tabla 1).

Tabla 1. Resultado de los análisis de modelos mixtos de los Ensayos 1 y 2 de clones de P. pinaster para caracteres morfológicos (D, H, NR), síntomas (W) supervivencia (S) y variables de la evolución de la enfermedad (IW, FW, EW). Valores significativos ($p \leq 0.05$).

Variable	Media ± SD	Familia	Clon (Familia)				
df	F	P > F	χ^2	LRT	σ^2	$p > \chi^2$	
Ensayo 1							
D	2,69	13,00	<0.001	27,46	0,0006	<0.001	
H	2,68	12,20	<0.001	208,92	24,260	<0.001	
NR	2,58	1,62	0,206	11,72	0,2915	<0.001	
W	3,33	86,63	<0.001	19,83	0,0264	<0.001	
S	3,33	14,69	<0.001	13,81	0,7320	<0.001	
IW	2,59	3,21	0,047	0,05	0,0004	0,830	
FW	2,16	0,98	0,377	--	--	--	
DW	2,40	0,01	0,991	1,81	4,2610	0,178	
Ensayo 2							
D	6.31 ± 1.53	3,18	2,85	0,066	3,85	0,0052	0,050
H	47.92 ± 11.63	3,20	3,72	0,028	20,18	0,0141	<0.001
NR	2.63 ± 2.53	3,18	0,34	0,797	9,88	0,0846	0,002
W	2.55 ± 2.85	3,19	2,51	0,090	23,44	0,2334	<0.001
S	0.61 ± 0.49	3,19	6,70	0,082	12,75	1,6409	<0.001
IW	35.00 ± 12.10	3,15	0,08	0,972	4,39	0,2936	0,036
FW	47.10 ± 13.10	3,11	0,13	0,941	0,34	0,0066	0,559
DW	12.10 ± 6.20	3,14	0,11	0,955	4,94	0,1208	0,026

En el Ensayo 1, la mortalidad de los clones evaluados osciló entre el 0 y el 100%, destacando los clones de la familia F03 con una supervivencia media del 74%, significativamente mayor que los clones de las otras dos familias que mostraron alrededor de un 50% (datos no mostrados), mientras que el testigo HSC26001 tuvo una mortalidad del 100%. También se observaron diferencias significativas a nivel clonal tanto en supervivencia como en síntomas (Tabla 1). En la Figura 1, que muestra tanto los BLUPs por clon como los BLUEs de cada familia, se puede observar que parte de los clones de la familia F03 son superiores en supervivencia al resto de las familias.

En este ensayo, entre las variables de desarrollo de la enfermedad, únicamente se encontraron diferencias significativas entre familias para inicio de los síntomas.

Las primeras muertes tuvieron lugar 29 DAI, concentrándose la mayor parte de las muertes entre esta fecha y los 50 DAI, con una duración media de la enfermedad de 15 días.

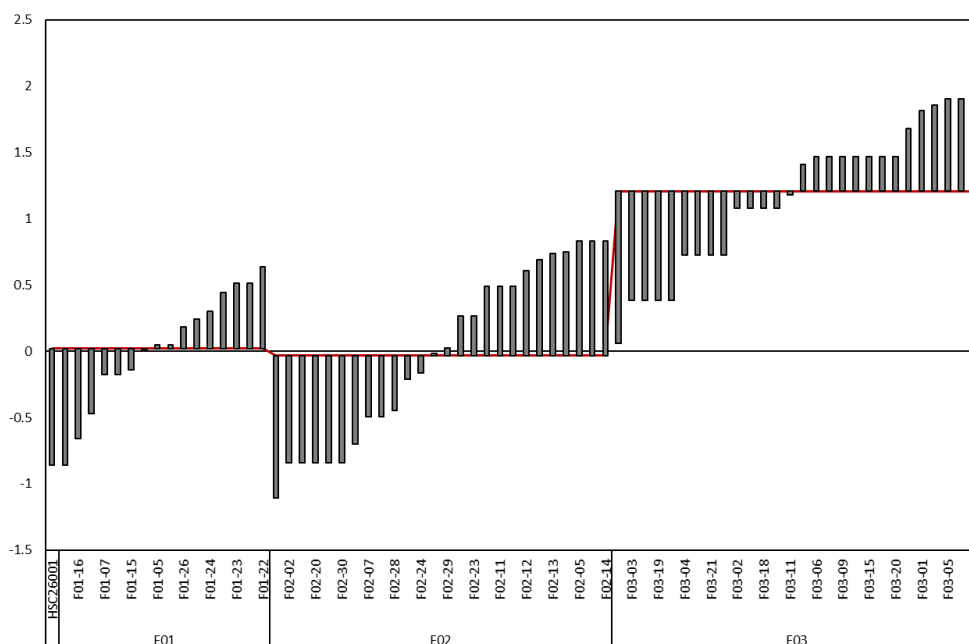


Figura 1. BLUPs de la supervivencia en el Ensayo 1 de clones de *P. pinaster*. La línea roja muestra los BLUPs de cada familia.

En el Ensayo 2, la mortalidad de los clones osciló entre el 0 y el 85%, y, al igual que en el anterior ensayo, los clones con una mayor supervivencia pertenecen a la familia F03 con un 90,48%, aunque en este ensayo la representación de clones de esta familia fue muy baja. En este ensayo, la supervivencia del testigo HSC26001 fue menor que la del resto de familias con un 14,29% de supervivencia. No obstante, las diferencias entre familias en supervivencia y síntomas no llegan a ser significativas, aunque sí lo son las diferencias entre clones para estas variables (Tabla 1). Del mismo modo que en el ensayo anterior, se puede observar en el gráfico de BLUPs, la superioridad de los clones de la familia F03 en supervivencia. Las variables de evolución de la enfermedad también son muy similares a las observadas en el Ensayo 1, el inicio de la enfermedad se produjo tan solo un día más tarde, 34 DAI; mientras que la duración media fue de 12 días, 3 días menos que en el Ensayo 1; y el fin se produjo 49 DAI. Las diferencias significativas para estas variables se han encontrado entre clones para el inicio y la duración de los síntomas. (Tabla 1).

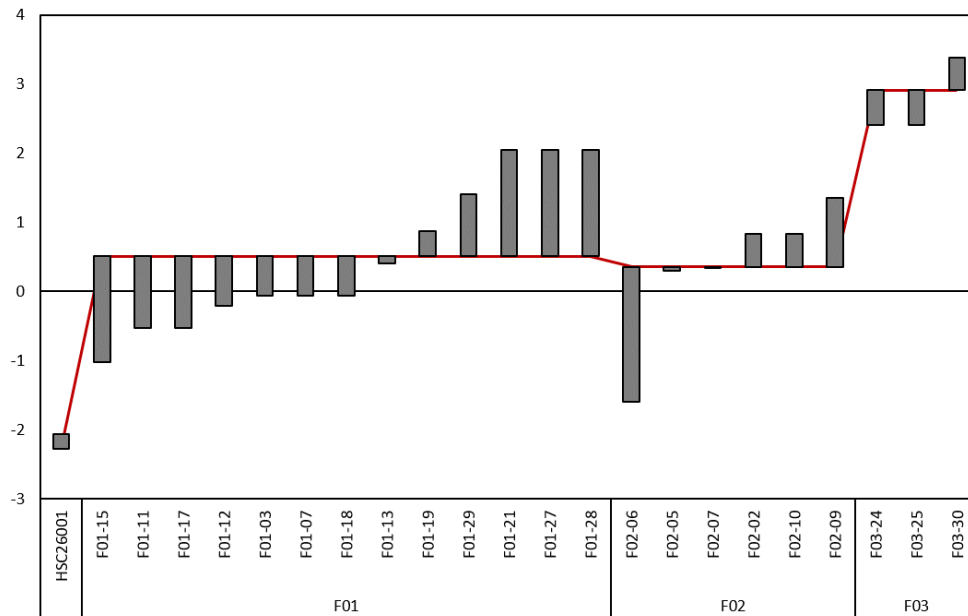


Figura 2. BLUPs de la supervivencia en el Ensayo 2 de clones de *P. pinaster*. La línea roja muestra los BLUES de cada familia.

En el Ensayo 1 no se han observado diferencias significativas ni entre familias ni entre clones dentro de familias en la densidad de nematodos, ni en raíz ni en tallo. La mediana del número de nematodos por clon varió entre 0 y 1.123,72. Sin embargo, en el Ensayo 2 se encontraron diferencias significativas en el número de nematodos en tallo, tanto entre familias ($\chi^2 = 16,33$ $p < 0,001$) como entre clones ($\chi^2 = 53,87$ $p < 0,001$). La mediana del número de nematodos por clon osciló entre 0 y 240,58 nematodos por planta.

En el Ensayo 1 no es destacable ninguna de las correlaciones obtenidas entre las variables estudiadas. En el Ensayo 2, las variables morfológicas medidas antes de la inoculación, altura, diámetro y número de ramas se correlacionaron positivamente con la supervivencia y negativamente con los síntomas. Además, el número de nematodos correlacionó fuertemente con la supervivencia y los síntomas (Tabla 2).

Tabla 2. Correlaciones de Spearman en el Ensayo 2 entre las variables morfológicas (H, D, NR), supervivencia (S), daños (W), de evolución de la enfermedad (IW, FW, DW) y densidad de nematodos en tallo (NEM).

H	D	NR	W	S	IW	FW	DW
				HI			
				D			
				NR			
				W			
				S			
				IW			
				FW			
				DW			
				NEM			

5. Discusión

Los resultados de este trabajo demuestran que incluso entre distintos clones estudiados de una misma familia de *P. pinaster* hay una gran variación en supervivencia a *B. xylophilus*, destacando los clones pertenecientes a la familia F03 con una mayor supervivencia media. Esto reafirma la mejora genética como una estrategia de control frente a la enfermedad del marchitamiento del pino.

Tras los resultados obtenidos en *P. pinaster* a nivel familiar en los estudios anteriores (MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ et al., 2018) que dieron lugar a la catalogación de progenitores de familia en la categoría de material cualificado con un 78% de supervivencia (MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ et al., 2022), el presente trabajo ha tratado de dar un paso más determinando aquellos clones con menor susceptibilidad dentro de las familias que han sido catalogadas como material de base cualificado resistente al nematodo, procurando avanzar en la búsqueda de individuos todavía más resistentes. Se ha encontrado una gran variación en supervivencia a *B. xylophilus* entre los clones de las familias estudiadas, destacando dentro de la familia más resistente, dos clones los cuales han mostrado una supervivencia del 100% en los dos ensayos. Esto indica que sí es posible incrementar la mejora en supervivencia con respecto al material catalogado. No obstante, estos resultados deben interpretarse con precaución, ya que en la familia que ha mostrado una mayor supervivencia media, F03, el número de clones evaluado en el Ensayo 2 ha sido poco numeroso. De hecho, se están llevando a cabo y analizando nuevos ensayos para confirmar tanto la superioridad de esta familia como de los clones que han presentado una mayor supervivencia.

A la hora de seleccionar por resistencia, hay que ser cautos y, al igual que se hizo con el material ya catalogado, no hacerlo en perjuicio del crecimiento en volumen o cualquier otro carácter que pueda ser de gran interés para la industria. En el caso del crecimiento, si bien en este estudio la relación entre supervivencia y altura es positiva, otros experimentos de inoculación en condiciones de



invernadero con plántulas de *P. pinaster* han mostrado correlaciones significativas negativas a nivel genético y fenotípico entre la supervivencia y la altura y diámetro (MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ et al. 2018; TORRES-SÁNCHEZ et al. 2023). Estos estudios respaldan la teoría de compensación de crecimiento-defensa que indica que la asignación de recursos defensivos en las plantas ocurre a expensas del crecimiento y rendimiento de las plantas (HUOT et al., 2014). Por otro lado, GAO et al. (2021) encontraron una variación significativa en crecimiento entre los clones de *P. massoniana* seleccionados como resistentes al nematodo, indicando la posibilidad de mejorar por crecimiento en volumen dentro de un programa de mejora por resistencia a *B. xylophilus*. En el mismo sentido, CARRASQUINHO et al. (2018) indicaron una relación positiva, si bien solo a nivel fenotípico, en familias de *P. pinaster*. Otros estudios, como los realizados por YAMANOE (2009) no hallaron ninguna relación a nivel genético entre el crecimiento y la susceptibilidad al nematodo.

Es importante resaltar también la relación positiva encontrada entre el número de ramas y la supervivencia, que podría corroborar que un sistema intrincado de canales resiníferos en las intersecciones de las ramas hace que la migración de nematodos sea más dificultosa (KURODA, 2004; KAWAGUCHI Y ICHIHARA, 2010), siendo este uno de los factores claves junto con la multiplicación para el desarrollo de la enfermedad.

Del mismo modo que ya mostraron otros estudios (OKU et al., 1989; MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ et al. 2017b; 2018; TORRES-SANCHEZ et al., 2023) existe una relación altamente significativa entre la densidad de nematodo y la sintomatología y supervivencia. De hecho, la proliferación de nematodos es uno de los factores fundamentales para el desarrollo de la enfermedad, y plantas que inhiben este desarrollo con algún tipo de mecanismo defensivo son las que presentan menor susceptibilidad (MORI et al, 2008; SON y MOON, 2013). Se considera, incluso, que podría haber un límite en la cantidad de nematodos que la planta es capaz de tolerar y si se sobrepasa ese límite, los daños causados por la enfermedad se vuelven irreversibles (MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ et al., 2017b).

A pesar de obtener unos resultados muy positivos, hay que tratarlos con cautela, pues, además de ser necesario el análisis de datos de nuevos ensayos para la confirmación de los presentados en este trabajo, estos resultados son de ensayos realizados en invernadero en condiciones controladas con plántula, los cuales pueden diferir de los que se obtendrían en la naturaleza, con condiciones ambientales en constante cambio y árboles adultos. Sin embargo, las restricciones impuestas por la UE impiden la realización de estos ensayos en campo, al tratarse de un organismo de cuarentena que no está extendido por todo el país. De todas formas, en los países asiáticos con programas de mejora genética frente al nematodo más avanzados, se ha comprobado que clones seleccionados de manera temprana mantienen su condición de resistentes tras su plantación en campo (Matsunaga, comunicación personal). Además, BARROWS-BROADDUS Y DWINELL (1984) destacaron la existencia de una alta correlación entre los resultados de ensayos de inoculación artificial con *Fusarium moliniforme* var. *Subglutinans* Wr. y Reink. en *Pinus virginiana* Mill. y los obtenidos en condiciones naturales en un huerto semillero clonal. Asimismo, ISIK et al. (2008) mostraron que familias de *Pinus taeda* L. que resultaron resistentes tras la inoculación artificial de *Cronartium quercuum* (Berk.) Miyabe ex Shirai también lo fueron en campo.

Las predicciones de avance de la enfermedad del marchitamiento del pino



parecen confirmarse (DE LA FUENTE et al. 2018; DE LA FUENTE y SAURA, 2021) como se pone de manifiesto con el último positivo confirmado en Ourense que ha dado lugar a una nueva zona demarcada, y los nuevos positivos que continúan sucediéndose dentro de otras zonas demarcas españolas. Esta enfermedad está lejos de ser controlada, por lo que hay una urgente necesidad de implementar medidas complementarias a las que ya se están llevando a cabo; acciones como la plantación de pinos resistentes ya catalogados y el desarrollo nuevos materiales resistentes podría ser de gran relevancia para evitar el avance de la enfermedad, así como para el sector forestal.

6. Conclusiones

La enfermedad del marchitamiento del pino representa un riesgo que puede suponer unas devastadoras consecuencias para una importante parte de las masas de pino en España y Europa. Para mitigar estas posibles consecuencias, la mejora genética se configura como una herramienta efectiva de lucha contra esta enfermedad, junto con la gestión silvícola de las masas.

Con este trabajo, se ha tratado de avanzar en la línea de mejora genética por resistencia al nematodo de la madera del pino intentando seleccionar individuos con una mayor resistencia que los progenitores de familia seleccionados hasta el momento. Los resultados han mostrado una gran variación significativa a nivel clonal en supervivencia a *B. xylophilus*, destacando la familia F03 con dos clones (F03-24, F03-25) que no presentaron mortalidad en ninguno de los dos ensayos. En las familias F01 y F02, destaca un clon en cada una de ellas (F01-27, F02-10) con una baja mortalidad en los dos ensayos.

Se analizarán nuevos ensayos de inoculación con material clonal para confirmar estos resultados, y proceder a su inclusión en el Catálogo Nacional de Materiales de Base para su transferencia al sector forestal con el objetivo final de realizar plantaciones con este material.

7. Agradecimientos

Agradecemos a Ricardo Ferradás, Maribel Juncal, Francis Ignacio y Margarita Alonso, personal del CIF Lourizán, su apoyo en los trabajos de vivero y laboratorio. Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación a través de los proyectos NEMOPLAN (RTA2017-00012-C02-01), INDITEX y el Plan de Mejora e Innovación Forestal de Galicia (2010-2020).

8. Bibliografía

BARROWS-BROADDUS, J.; DWINELL, L.D.; 1984. Variation in susceptibility to the pitch canker fungus among half-sib and full-sib families of Virginia Pine. *Phytopathol* 74: 438-444.

CARRASQUINHO, I.; LISBOA, A.; INÁCIO, M.L.; GONÇALVES, E.; 2018. Genetic variation in susceptibility to pine wilt disease of maritime pine (*Pinus pinaster* Aiton) half-sib families. *Ann For Sci* 75:85.

DE LA FUENTE, B.; SAURA, S.; BECK, P.S.A.; 2018. Predicting the spread of an invasive tree pest: the pine wood nematode in southern Europe. *J Appl Ecol* 55:2374–2385.

DE LA FUENTE, B.; SAURA, S.; 2021. Long-term projections of the natural expansion



of the pine wood nematode in the Iberian Peninsula. *Forests* 12:849.

DOG, 2024. Resolución de 21 de noviembre de 2024, de la Dirección General de Ganadería, Agricultura e Industrias Agroalimentarias, por la que se declara en el territorio de la Comunidad Autónoma de Galicia la presencia de cuatro nuevos positivos del organismo de cuarentena *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle et al. (nematodo de la madera del pino) y se establecen las medidas para su erradicación. Diario Oficial de Galicia (España), No. 236, 09/12/2024

FFPRI, Forest Tree Breeding Centre, Japan. Tree breeding Research. <https://www.ffpri.affrc.go.jp/ftbc/en/documents/overview.pdf>

FONSECA, L.; SILVA, H.; CARDOSO, J. M. S.; ESTEVES, I.; MALEITA, C.; LOPES, S.; & ABRANTES, I.; 2024. *Bursaphelenchus xylophilus* in *Pinus sylvestris*—The First Report in Europe. *Forests* 15:1556.

FUJIMOTO, Y.; TODA, T.; NISHIMURA, K.; YAMANE, H.; FUYUNO, S.; 1989. Breeding project on resistance to the pine-wood nematode an outline of the research and the achievement of the project for ten year. *Bull For Tree Breed Inst* 7:1–84.

GAO, J.; XU, L.; YE, J.; 2021. Growth and genetic diversity analysis of clones screened by phenotypical resistant to pine wilt disease in *Pinus massoniana* J *Nanjing For Univ* 45: 109-118.

HUOT, B.; YAO, J.; MONTGOMERY, B.L.; HE, S.Y.; 2014. Growth-defense tradeoffs in plants: a balancing act to optimize fitness. *Mol Plant* 7:1267-128.

INÁCIO, M.L.; NÓBREGA, F.; VIEIRA, P.; BONIFÁCIO, I.; NAVES, P.; SOUSA, E.; MOTA, M.; 2014. First detection of *Bursaphelenchus xylophilus* associated with *Pinus nigra* in Portugal and in Europe. *Plant pathol* 45:235-238.

ISIK, F.; AMERSON, H.V.; WHETTEN, R.W.; GARCIA, S.A.; LI, B.; MCKEAND, S.E.; 2008. Resistance of *Pinus taeda* families under artificial inoculations with diverse fusiform rust pathogen populations and comparison with field trials. *Can J for Res* 38:2687–2696.

KAWAGUCHI, E.; ICHIHARA, Y.; 2010 Inhibition of *Bursaphelenchus xylophilus* migration at the nodes of *Pinus thunbergii*. *J Jpn For Soc.* 92: 1–7.

KURODA, K.; 2004 Inhibiting factors of symptom development in several Japanese red pine (*Pinus densiflora*) families selected as resistant to pine wilt. *J For Res* 9: 217–224.

MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ, M.; ALONSO, M.; JIMENEZ, E.; TOVAL, G.; MANSILLA, P.; ABELLEIRA, A.; ABELLEIRA-SANMARTIN, A.; DIAZ, R.; 2017a. Interspecific variation of constitutive chemical compounds in *Pinus* spp. xylem and susceptibility to pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Eur J Plant Pathol* 150:939–953.

MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ M.; ALONSO M.; TOVAL G.; DÍAZ R.; 2017b. Variation in pinewood nematode susceptibility among *Pinus pinaster* Ait. provenances from the Iberian Peninsula and France. *Ann For Sci* 74:76.

MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ M.; ALONSO M.; TOVAL G.; DÍAZ R.; 2018. Testing of selected *Pinus pinaster* half-sib families for tolerance to pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *For Ann Int J For Res* 91:38–48.

MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ, M.; VILLAR, L.; DÍAZ, R.; 2021. Virulence of seven pathogenic *Bursaphelenchus xylophilus* isolates in *Pinus pinaster* and *Pinus radiata* seedlings and its relation with multiplication. *Forest Pathol* 51:1–11.



MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ, M.; PRADA OJEA, E.; DÍAZ VÁZQUEZ, R.; 2022. Catalogación de progenitores de familia de *Pinus pinaster* tolerantes a la enfermedad del marchitamiento del pino causada por *Bursaphelenchus xylophilus*. 8º Congreso Forestal Español 1–7.

MORI, Y.; MIYAHARA, F.; TSUTSUMI, Y.; KONDO, R.; 2008. Relationship between resistance to pine wilt disease and the migration or proliferation of pine wood nematodes. *Eur J Plant Pathol* 122:529–538.

MOTA, M.M.; BRAASCH, H.; BRAVO, M.A.; PENAS, A.C.; BURGERMEISTER, W.; METGE, K.; SOUSA, E.; 1999. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. *Nematol* 1:727–734.

NOSE, M.; SHIRAIISHI, S.; 2008. Breeding for Resistance to Pine Wilt Disease. In: ZHAO, B.G., FUTAI K.; SUTHERLAND J.R.; TAKEUCHI Y. (eds) Pine Wilt Disease. Springer, Japan, pp 334-350.

PICOS, J. 2024. A CADEA FORESTAL- MADEIRA DE GALICIA 2023-2024*. Axencia Galega da Industria Forestal. Consellería do Medio Rural. Universidade de Vigo. 70 p.

Son, J. A.; & Moon, Y.; 2013. Migrations and multiplications of *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus* in *Pinus thunbergii* in relation to their pathogenicity. *Plant Pathol J* 29: 116–122

TORRES-SÁNCHEZ, E.; MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ, M.; VILLAR, L.; DIAZ, R.; 2023. The effects of provenance, climate, and chemical defense on the resistance of *Pinus pinaster* Aiton to *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner and Buhner). *Ann For Sci* 80:33.

XU L.Y.; ZHANG J.; GAO J.B; HAO Y.P.; CHEN X.L.; JIANG C.W.; 2013. Research progress on resistance breeding to pinewood nematodiasis in Anhui province. *Anhui Forestry Sci. Technol.* 39:10.

YAMANOBÉ, T.; 2009. Relationships between morphological traits and resistance to pine wood nematode in two Japanese pines. *Eur J Plant Pathol* 124:543–552.

ZAMORA, P.; RODRÍGUEZ, V.; RENEDO, F.; SANZ, A.V.; DOMÍNGUEZ, J.C.; PÉREZ-ESCOLAR, G.; MIRANDA, J.; ÁLVAREZ, B.; GONZÁLEZ-CASAS, A.; MAYOR, E.; DUEÑAS, M.; MIRAVALLES, A.; NAVAS, A.; ROBERTSON, L.; MARTÍN, A.B.; 2015. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* causing pine wilt disease on *Pinus radiata* in Spain. *Plant Dis* 99:1449-1449.