

Clonación y conservación de árboles Singulares de la Comunidad de Madrid

Mar Ruiz,
Jesús Alegre,
Cristina Celestino,
Mariano Toribio

Instituto Madrileño de
Investigación y Desarrollo
Rural Agrario y Alimentario

Los árboles Singulares son los seres vivos más viejos del planeta. Algunos llevan cientos o miles de años con los seres humanos y fueron testigos mudos de acontecimientos que marcaron el rumbo de nuestras comunidades locales e incluso países. Según el equipo del proyecto Leyendas Vivas, que trabaja en la catalogación, conservación y divulgación de los árboles más singulares de la Península Ibérica, algunos “han asistido a juramentos, pactos y rendiciones. Poca gente lo sabe y casi nadie los conoce, son los auténticos olvidados. Entre ellos hay árboles tan singulares que ya se hablaba de ellos hace 500 años... en los escritos de 1492, año del descubrimiento de América.” <http://www.leyendasvivas.com>

El interés y respeto social que despiertan estos ejemplares está creciendo en todo el mundo. Se crean nuevos catálogos, se dictan normas de manejo, de cuidado fitosanitario, de poda, etc. También es cada vez más frecuente que reciban visitantes, y por ello se establecen pautas de comportamiento para que se realice un turismo responsable y comprometido con la conservación de estos seres singulares. En la Comunidad de Madrid, el Catálogo Regional de Árboles Singulares se creó al amparo de lo dispuesto en el artículo 7.2 de la Ley 2/1991 (Ley para la Protección y Regulación de la Fauna y Flora Silvestres en la Comunidad de Madrid) y el Decreto 18/1992 (Catálogo Regional de especies amenazadas de fauna y flora silvestres), que incluyó la categoría de Árboles Singulares. Su finalidad es mantener un inventario de ejemplares de flora con características extraordinarias por su rareza, excelencia de porte, edad, tamaño, significación histórica, cultural o valor científico. Los árboles singulares de la Comunidad de Madrid son patrimonio de

todos los madrileños, y la Administración autonómica les otorga protección especial con el fin de evitar su desaparición.

En 2009, en el Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA) se inició un proyecto de clonación de árboles singulares (FP09-IA05-CLON). Es un proyecto de dos años de duración, que finalizará en 2011 y que se dedica a los olmos, los tejos y los alcornoques singulares de la Comunidad de Madrid. Se realiza con el objetivo de establecer parcelas que permitan la conservación y el estudio de estos árboles, pero también son objetivos del proyecto divulgar la utilidad y el valor de las técnicas de clonación y valorizar nuestro patrimonio vegetal.

La clonación permite obtener duplicados de combinaciones genéticas de especial interés y conservarlas. Es cierto que la longevidad, el protagonismo en el paisaje o el significado histórico que un árbol concreto tiene para una comunidad humana no hacen que sus genes adquieran un valor especial. Tampoco hay duda de que el valor genético



Tejo del arroyo Barondillo. Tiene entre 1.500 y 2.000 años y se le considera el ser vivo más viejo de la sierra de Guadarrama y de la Comunidad de Madrid

de un árbol no depende de los acontecimientos históricos que rodearon su existencia, ya que solo al azar se debe que un acontecimiento histórico importante tuviera lugar en su entorno. En casi todos los casos, los árboles singulares sobreviven solo porque una combinación poco probable de sucesos les ha permitido llegar hasta nuestros días a salvo del fuego, del hacha o de la máquina excavadora. Por todo ello, la obtención de copias clonales de árboles singulares únicamente tendría un valor sentimental, que no es despreciable, y puede responder a una demanda social, pero no necesariamente tendría valor desde el punto de vista de la conservación de material genético. Sin embargo, muchos de estos árboles han superado "la prueba del tiempo". Han sobrevivido a situaciones ambientales cambiantes, por lo que se considera que algunos de ellos podrían ser genotipos especialmente resistentes a variaciones climáticas y a plagas

y enfermedades. Un caso particular son los árboles singulares que viven en las grandes ciudades, tal vez especialmente bien adaptados a las condiciones propias del entorno urbano. Se los considera potencialmente útiles en las plantaciones urbanas, y con esta finalidad son clonados y probados. En Nueva York, en 2008, como parte de un programa de reforestación urbana se puso en marcha un proyecto de clonación de "Árboles Históricos", cuya finalidad es obtener 250 copias de 25 árboles. Está previsto plantar estas copias clonales en diferentes puntos de la Gran Manzana para determinar si realmente son genotipos con un valor especial en jardinería urbana.

Es importante no confundir la conservación de combinaciones genéticas concretas, que pueden ser valiosas, con la conservación de la biodiversidad, que es algo diferente y mucho más amplio. En los últimos años se debate en el ámbito científico de forma conti-

nua sobre la necesidad de conservar la biodiversidad y sobre la urgencia de una tarea que se considera inaplazable. Esto ha generando un creciente interés en la ciudadanía, pero hay que entender que la conservación de la biodiversidad es una labor básicamente global, que debe abordarse en escalas geográficas muy amplias, en muchos casos supranacionales, y que aunque la conservación de recursos genéticos valiosos a nivel local no deja de ser interesante, siempre debe integrarse en un marco más general. Conservar la biodiversidad supone mantener la variabilidad en los genes presentes en las poblaciones naturales. Para conservar esta variabilidad la acción más importante es mantener *in situ* las poblaciones vegetales, sus genes, con sus alelos en las frecuencias que ocurren de forma natural, permitir el flujo génico (el polen nunca entendió de barreras administrativas o de fronteras) e intentar garantizar los procesos de

evolución. Esa es la base para la conservación de la biodiversidad actual. Como no siempre está garantizada la conservación *in situ* de las poblaciones naturales, una herramienta muy importante en la conservación de la biodiversidad es mantener *ex situ* colecciones de sus genes obtenidas mediante propagación sexual (bancos de semillas), y en algunos casos muy concretos resultan útiles otras técnicas de conservación que se basan en la propagación vegetativa (bancos clonales).

La propagación vegetativa permite obtener individuos "hijos" a partir de un individuo "madre", manteniendo toda la descendencia la misma información genética. Al conjunto de estos individuos genéticamente iguales se le denomina clon, y al proceso por el que se obtienen, clonación. La clonación genera uniformidad, no diversidad. Sin embargo no debe verse como algo aberrante; es una técnica de propagación que tiene gran utilidad y que, además, en contra de lo que mucha gente piensa, forma parte del sistema de propagación natural en los vegetales. Uno de los seres vivos más grandes del planeta es Pando, "El Gigante Tembloroso", un conjunto de unos 47.000 árboles de la especie *Populus tremuloides* (álaro temblón americano) que ocupan en torno a 43 hectáreas. Todos ellos tienen el mismo genotipo. Forman un clon y también uno de los organismos vivos

más longevos y con mayor singularidad de nuestro planeta. Muy posiblemente la edad de Pando sea superior a 10.000 años.

El hombre ha utilizado durante siglos las posibilidades que ofrece la clonación en la mejora genética de los vegetales. La propagación vegetativa de individuos selectos permite transmitir a la descendencia clonal todo el potencial genético del individuo inicial y obtener productos con mayor utilidad y mayor valor comercial. La olivicultura, la viticultura o la fruticultura, por ejemplo, se han desarrollado durante siglos basándose en la propagación vegetativa. Sin embargo la propagación vegetativa ha tenido poco desarrollo en el ámbito forestal, excepto en algunas especies de los géneros *Populus* (álamos y chopos), *Salix* (sauces), *Eucalyptus* (eucaliptos) y *Cryptomeria* (suji, cedro japonés). La razón principal es que en la mayoría de las especies forestales de interés económico no se ha podido llevar a cabo con éxito la propagación vegetativa. Cuando los árboles son adultos, y es necesario que lo sean para poder seleccionarlos con fiabilidad, los esquejes tomados de ellos pierden la capacidad de formar raíces, necesaria para formar nuevas plantas. Para solventar las limitaciones del estacaillado clásico en la propagación de las especies leñosas se han desarrollado nuevas técnicas de regeneración que forman parte del

amplio conjunto de la biotecnología y sirven de apoyo en actividades básicas de utilización de recursos genéticos forestales. Las técnicas de clonación se aplican fundamentalmente en la mejora genética, pero también han permitido desarrollar herramientas específicas de conservación *ex situ*, que incluyen la regeneración de genotipos selectos y la crioconservación de tejidos.

El equipo de "Biotecnología Vegetal–Cultivo de Tejidos" del IMIDRA desarrolla protocolos de propagación vegetativa de especies forestales usando fundamentalmente técnicas de cultivo *in vitro*. El protocolo más avanzado hasta el momento es el que permite clonar alcornoques selectos por medio de la inducción de embriogénesis somática en hojas. Mediante esta vía de regeneración clonal, los árboles centenarios "vuelven a nacer". También se ha logrado inducir embriogénesis somática en hojas de robles adultos y recientemente se ha presentado la primera tesis doctoral realizada en España sobre embriogénesis somática en coníferas. En la actualidad se desarrollan protocolos de embriogénesis para el pino piñonero, el pino negral y la encina. En el marco de diferentes proyectos de investigación se han establecido parcelas de evaluación, conservación y demostración con material clonal de tejos y alcornoques. Estas parcelas están ubicadas en la finca "El

Para clonar los tejos singulares se ha empleado la técnica del estacaillado tradicional (enraizamiento de esquejes)



Encín” (Alcalá de Henares), en el Vivero de El Escorial y en el IES Escuela de Villaviciosa de Odón.

LOS TEJOS

El tejo (*Taxus baccata* L.) se encuentra en franca regresión. Los pequeños bosquetes y manchas que forma esta especie son cada vez menores y están cada vez más aislados. En algunas zonas donde existió una tejeda, solo queda un nombre local, un topónimo que atestigua que allí crecieron los tejos. Nombres como Sierra Tejeda, Arroyo de los Tejos o Barranco del Teix son frecuentes en la geografía española, en lugares donde ya no es posible encontrar ni un solo ejemplar de este árbol. Otro ejemplo de la situación que atraviesa la especie lo tenemos en el municipio madrileño de Patones. Se sabe que en esta localidad hubo tejos en un pasado reciente, y existe un texto que así lo atestigua. Sin embargo, tras un exhaustivo trabajo de campo realizado por miembros de ARBA (Asociación para la Recuperación del Bosque Autóctono), hoy se puede afirmar que el tejo se ha extinguido completamente en los alrededores de Patones. En muchos otros lugares se conservan solamente unos pocos individuos aislados y su desaparición total únicamente ha sido evitada por la gran longevidad de una especie que se encuentra en muchas regiones al borde de su desaparición.

Para abordar la clonación de los tejos singulares hemos empleado la técnica del estaquillado tradicional (enraizamiento de esquejes). En general, se considera que las estaquillas de tejo enraízan con dificultad, que su enraizamiento mejora cuando se realiza en otoño-invierno y también mediante la aplicación de ácido indolbutírico en concentraciones elevadas. La mayor parte de la información publicada sobre estaquillado del tejo se ha obtenido en variedades ornamentales de *Taxus cuspidata* o en híbridos de *Taxus x media*, es decir, en material clonal, y por tanto, de características uniformes. Cuando se trabaja con poblaciones naturales de tejo los resultados son más heterogéneos, ya que dependen de cada genotipo, pero en cualquier caso se necesitan períodos de enraizamiento prolongados de entre 4 y 11 meses. Es una técnica que ya habíamos utilizado antes con esta especie y sabemos que,

Tabla 1. Tejos singulares de la Comunidad de Madrid

Especie	Denominación del árbol	Término municipal
<i>Taxus baccata</i>	Tejo de El Chaparral I	Montejo de la Sierra
<i>Taxus baccata</i>	Tejo de El Chaparral II	Montejo de la Sierra
<i>Taxus baccata</i>	Tejo del Real Jardín Botánico	Madrid
<i>Taxus baccata</i>	Tejo del Campo del Moro, I	Madrid
<i>Taxus baccata</i>	Tejo del Campo del Moro II	Madrid
<i>Taxus baccata</i>	Tejo del Sestil del Maillo	Canencia
<i>Taxus baccata</i>	Tejo de la Senda	Canencia
<i>Taxus baccata</i>	Tejo del Arroyo de Barondillo	Rascafría
<i>Taxus baccata</i>	Tejo de la Roca	Rascafría
<i>Taxus baccata</i>	Tejo del Arroyo del Chivato	Manzanares el Real
<i>Taxus baccata</i>	Tejo del Arroyo de los Hoyos	Manzanares el Real
<i>Taxus baccata</i>	Tejo del Hueco de las Hoces	Manzanares el Real



Los brotes de olmo establecidos in vitro proliferan y forman nuevos tallos a partir de meristemoídes que se generan en su parte basal

aunque las tasas de enraizamiento son muy variables, se puede lograr el enraizamiento de estaquillas de tejo prácticamente en cualquier individuo. En los genotipos con poca capacidad de enraizamiento las respuestas mejoran tomando estaquillas procedentes de brotes epicórmicos durante la estación más favorable. Esto hace que el estaquillado sea una técnica adecuada para obtener copias clonales de árboles de esta especie y nos ha permitido clonar los doce tejos singu-

lares de nuestra comunidad autónoma (Tabla 1), incluyendo el Tejo del Arroyo Barondillo (o Valhondillo), que tiene una edad comprendida entre los 1.500 y los 2.000 años y que está considerado como el ser vivo más viejo de la sierra de Guadarrama y de la Comunidad de Madrid.

Desde el punto de vista de la conservación de la biodiversidad, los tejos son un caso bastante particular. En las especies forestales de polinización anemófila, la variabilidad genética den-



Olmo de Nuevo Baztán. Uno de los escasos olmos de gran tamaño que permanecen vivos en la Comunidad de Madrid. (Imagen cedida por Carlos Alfonsín, Ayto. de Nuevo Baztán)

LOS OLMOS

En España hay dos especies de olmo consideradas tradicionalmente como autóctonas: el olmo común (*Ulmus minor* Miller *sensu latissimo*) y el olmo de montaña (*Ulmus glabra* Huds.). En los últimos años los análisis moleculares han puesto de manifiesto el carácter espontáneo de otra especie de olmo, el olmo blanco (*Ulmus laevis* Pall.), que cuenta en la Comunidad de Madrid con una representación muy singular en la olmeda de Valdelatas. En dos momentos puntuales del siglo pasado entraron en España los hongos *Ophiostoma ulmi* y *Ophiostoma novo-ulmi*, causantes de una enfermedad muy agresiva, la grafiosis, que bloquea los vasos conductores de los olmos, impide la circulación de la savia y provoca que los árboles terminen secándose. Los hongos causantes de la grafiosis son transportados por pequeños insectos voladores (escolítidos) que se alimentan de las ramas jóvenes de los olmos y acaban contagiando la enfermedad. Es un problema que ha ocasionado la desaparición de gran parte de los olmos adultos en Europa. Por ello son muy escasos los ejemplares de gran tamaño que permanecen vivos en la Comunidad de Madrid. En el catálogo de Árboles Singulares de 1995 se incluyeron once olmos de características excepcionales, de los cuales diez permanecían vivos cuando iniciamos nuestro programa de clonación (Tabla 2).

Los olmos pueden propagarse vegetativamente mediante estaquillado, y suele recomendarse el uso de esquejes tomados de brotes jóvenes. Sin embargo, la propagación vegetativa por medio de estaquillado presenta algunas limitaciones. Como sucede con otras especies vegetales, el mayor o menor éxito del estaquillado depende de diversos factores, entre ellos, las características genéticas de cada individuo y la época del año en que se realice la recogida del material. La propagación mediante estaquillado queda restringida a épocas muy concretas del año, y es muy poco eficiente para individuos que tengan un genotipo poco favorable para la formación de raíces adventicias. Por tal motivo, el estaquillado es adecuado en programas de clonación cuando solo es necesario obtener un número muy limitado de copias de cada individuo, como en el anterior caso del tejo, pero

Tabla 2. Olmos singulares de la Comunidad de Madrid

Especie	Denominación del árbol	Término municipal
<i>Ulmus laevis</i>	Olmo de Los Llanillos	San Lorenzo de El Escorial
<i>Ulmus minor</i>	Olmo del Camino de la Estación	Aranjuez
<i>Ulmus minor</i>	Olmo del Milagro	Cubas de la Sagra
<i>Ulmus minor</i>	Olmo del Ayuntamiento	Guadarrama
<i>Ulmus minor</i>	Olmo de Somontes I	Madrid
<i>Ulmus minor</i>	Olmo de Somontes II	Madrid
<i>Ulmus minor</i>	Olmo El Pantalones	Madrid
<i>Ulmus minor</i>	Olmo de Nuevo Baztán	Nuevo Baztán
<i>Ulmus minor</i>	Olmo de San Martín de Valdeiglesias I	San Martín de Valdeiglesias
<i>Ulmus minor</i>	Olmo de San Martín de Valdeiglesias II	San Martín de Valdeiglesias

tro de las poblaciones es mucho mayor que entre poblaciones. Es decir, que existe una gran diferencia en los genes de los diferentes individuos que constituyen una población, pero hay pocas diferencias en el conjunto de los genes de una población cuando se compara con el conjunto de los genes de otra población diferente. Esta distribución de la variabilidad genética determina el diseño de los programas de conservación de la biodiversidad.

Los tejos son especies de polinización anemófila, y sin embargo su diversidad genética no sigue el patrón general antes descrito. Se ha observado que los individuos que forman parte de pequeños grupos relictos de tejo pueden ser genéticamente más variables que los de las poblaciones de mayor tamaño. La gran diversidad genética de estos

pequeños relictos convierten a las especies del género *Taxus* en un caso particular, y por ello junto a la conservación *in situ* de las poblaciones de mayor tamaño se considera útil la conservación *ex situ* de tejos que sobreviven aislados o en pequeños grupos, formando con ellos bancos clonales. De esta forma se favorece la mezcla de esos individuos que sobreviven en pequeños rodales relictos, la obtención de semillas y la conservación de genes que no están presentes en las poblaciones de mayor tamaño. El IMIDRA mantiene un banco clonal de tejo en la Finca El Encín donde se conservan 29 tejos recolectados en siete localizaciones geográficas de las sierras madrileñas, y creará otro banco clonal en su Vivero de El Escorial que albergará además las copias de los tejos singulares.

no cuando se necesita un número más elevado de copias. Para abordar la clonación de los olmos singulares se pensó que la alternativa más apropiada era desarrollar un protocolo de micropropagación mediante cultivo *in vitro*. Los olmos singulares han estado expuestos a la grafiosis y han sobrevivido a la enfermedad. Algunos podrían ser genotipos tolerantes al hongo, pero para comprobar esta hipótesis es necesario disponer de un número suficiente de copias clonales con las que se puedan realizar ensayos de campo inoculando en los árboles la enfermedad. Estos ensayos de resistencia se realizarán en el marco del Programa Español de Lucha contra la Grafiosis que dirigen Luis Gil (Universidad Politécnica de Madrid) y Salustiano Iglesias (Ministerio de Medio Ambiente y Medio rural y Marino). Otra ventaja de la técnica de cultivo *in vitro* es que la micropropagación se realiza en condiciones de asepsia, lo que facilita el intercambio de material vegetal con organismos nacionales e internacionales, con menores riesgos en la difusión de patógenos e insectos. Es una característica de la técnica de cultivo que resulta importante para materiales de propagación vegetativa que puedan ser valiosos. Por último, el desarrollo de un protocolo eficiente de cultivo *in vitro* para el olmo hará posible la multiplicación acelerada de los genotipos tolerantes que se generen en el Programa Español de Lucha contra la Grafiosis.

La multiplicación *in vitro* por vía organogénica generalmente se desarrolla en cuatro fases. La primera es de establecimiento. En ella se desinfectan los tejidos y se logra que se desarrolle libre de contaminación en un medio gelificado rico en azúcares. La segunda fase se destina a lograr la multiplicación del material vegetal induciendo la formación de nuevos órganos aéreos (yemas y tallos) con la aplicación de reguladores del crecimiento vegetal. En la tercera fase se generan los órganos subterráneos (raíces). Y en la cuarta, las nuevas plantitas se someten a un proceso de aclimatación imprescindible para que sobrevivan en las condiciones ambientales propias del invernadero o del vivero. Para establecer los cultivos de olmo se tomaron ramas de los árboles antes de la brotación, durante el invierno-primavera de 2010. Estaquillas cortadas de estas ramas se pusieron



Para clonar los olmos se ha empleado la multiplicación *in vitro* por vía organogénica



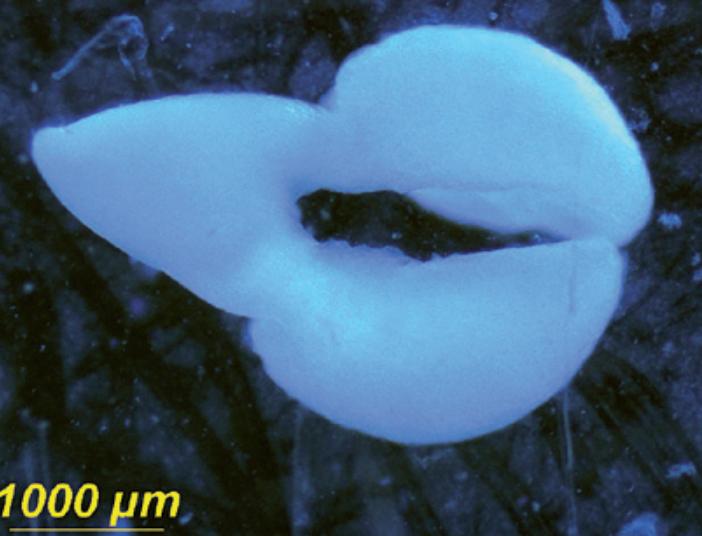
Alcornoque del Bandolero. Es un árbol con dos troncos, de 11 metros de altura y 14 metros de copa. Se le atribuye una edad de entre 400 y 500 años

Srsana Domínguez

a brotar en una cámara de ambiente controlado con alta humedad y se obtuvieron brotes de entre 1 a 3 cm, que se emplearon como explanto para la fase inicial de los cultivos. Los brotes de olmo establecidos *in vitro* proliferaron y formaron nuevos tallos a partir de los meristemoides que se generan en su parte basal. Este sistema permitió multiplicar aproximadamente por diez el número de brotes cada seis semanas. Los brotes obtenidos se enraizaron *in vitro* y las plantitas obtenidas se trasplantaron a contenedores con sustrato donde se sometieron a un proceso de

aclimatación de una semana antes de pasar al invernadero.

El Olmo de San Martín de Valdeiglesias I fue derribado por el viento días antes de que se pudieran tomar muestras del mismo. Sin embargo, se recolectaron ya en el suelo estacas de este árbol antes de que perdieran viabilidad. Se obtuvieron brotes, se introdujeron *in vitro* y se ha logrado su clonación, por lo que se podrá conservar dicho genotipo, que junto al resto de los clones obtenidos se conservará en el vivero de El Escorial del IMIDRA y se someterá a ensayos de campo para



1000 μ m

Embrión somático de alcornoque en estado de desarrollo cotiledonar



200 μ m

Embrión somático de alcornoque en las primeras fases de desarrollo. La imagen muestra un embrión globular cultivado en medio líquido

determinar su grado de tolerancia a la grafiosis.

LOS ALCORNOQUES

La conservación de los alcornocales (*Quercus suber* L.) ha estado muy vinculada a la industria del corcho: cuando algo se considera valioso su mantenimiento es más sencillo. En los últimos años han saltado las alarmas porque la industria del corcho atraviesa por momentos críticos y esto podría tener efectos muy negativos para la conservación del monte alcornocal. De hecho, antes de que la industria del corcho se convirtiera en una actividad económica importante, los alcornocales se talaron masivamente en muchos lugares de España y se destinaron a la obtención de carbón y a las industrias de curtidos. En Madrid aún sobreviven pequeños rodales de alcornoque e individuos aislados que atestiguan que esta especie tuvo mayor presencia en nuestra comunidad en el pasado.

El catálogo de Árboles Singulares de la Comunidad de Madrid incluye nueve alcornoques (Tabla 3), uno de los cuales, el Alcornoque de la Calle Arroyo del Fresno, se encuentra en el casco urbano de la ciudad de Madrid. Se ha iniciado el proceso de clonación de estos árboles y se ha incluido en el programa de propagación el Alcornoque del Bandolero, aunque este árbol no se incluyó en el Catálogo de 1995. Se trata de un ejemplar de 11 metros de altura, 14 metros de copa y dos troncos, con perímetros de 2,15 y 1,95 metros respectivamente, al que se le atribuye una edad de entre 400 y 500 años. Crece en una pared granítica de La Pedriza de Manzanares, empotrado en una grieta a varios metros del suelo. Se dice de él que dio cobijo en el siglo

Alcornoques singulares de la Comunidad de Madrid		
Especie	Denominación del árbol	Término municipal
<i>Quercus suber</i>	Alcornoque de la Dehesa de Valgallego	Torrelaguna
<i>Quercus suber</i>	Alcornoque de La Corchera	Boadilla del Monte
<i>Quercus suber</i>	Alcornoque de Romanillos I	Boadilla del Monte
<i>Quercus suber</i>	Alcornoque de Romanillos II	Boadilla del Monte
<i>Quercus suber</i>	Alcornoque de la C/ Arroyo del Fresno	Madrid
<i>Quercus suber</i>	Alcornoque del Monte de El Pardo I	Madrid
<i>Quercus suber</i>	Alcornoque del Monte de El Pardo II	Madrid
<i>Quercus suber</i>	Alcornoque de Rozas del Puerto Real	Rozas del Puerto Real
<i>Quercus suber</i>	Alcornoque de las Casiruelas	Manzanares el Real

XIX a Pablo Santos, conocido como "El Bandido de La Pedriza", y de ahí deriva su nombre.

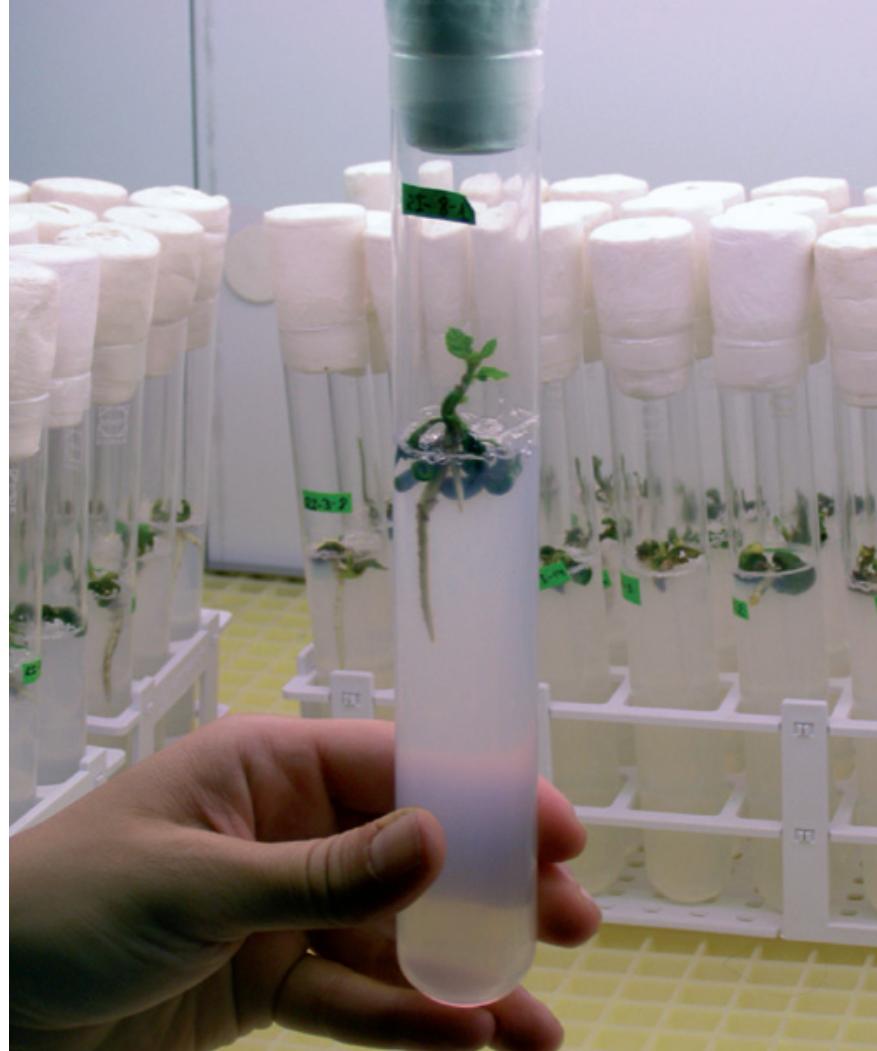
No es posible la clonación de los alcornoques empleando el procedimiento tradicional de estaquillado. Las estauquillas de alcornoque, como las de otras especies del género *Quercus*, no tienen capacidad de formar raíces, o si la tienen solo se manifiesta inmediatamente después de la germinación y se pierde al cabo de unos pocos meses. La técnica que aplicamos en el olmo, la micropropagación por vía organogénica, tampoco da buenos resultados en las especies de este género. Por eso la clonación de los alcornoques singulares se está llevando a cabo siguiendo la metodología más novedosa de la biotecnología aplicada a la propagación de especies forestales: la micropropagación *in vitro* usando la vía de regeneración embriogénica. Para ello se toman estacas de los árboles, se induce en ellas la formación de brotes juveniles y de estos se toman pequeñas hojas en expansión que se esterilizan en superficie y se introducen en cultivo *in vitro*.

Mediante un procedimiento complejo, en el que intervienen diferentes balances de reguladores del crecimiento vegetal, células de dichas hojas cambian su patrón de expresión, se "reprograman", y comienzan a expresar un patrón de desarrollo embriogénico hasta formar embriones somáticos. Después de esta fase de inducción inicial, los embriones somáticos entran en una nueva fase de proliferación recurrente, cíclica, por la cual los embriones producen nuevos embriones, decenas, centenas, miles..., lo que proporciona un gran poder de multiplicación a esta técnica. Los embriones somáticos son análogos a semillas (solo les faltan las cubiertas); de hecho, son semillas clónicas, al tener todos ellos la misma información genética. Por tanto, se puede decir que se producen "bellotas" clónicas a partir de hojas, al margen de condicionantes estacionales, a lo largo de todo el año. Estos embriones somáticos, puestos en condiciones apropiadas pueden madurar y germinar como auténticas semillas, produciendo plantas clónicas, iguales genéticamente.

te a los árboles singulares de los que proceden.

En la actualidad se tienen líneas embrionáreas de la totalidad de los alcornoques singulares y se ha iniciado el proceso de germinación y regeneración de plantas que se concluirá en los próximos meses. La forma más lógica y eficiente de conservar la biodiversidad en las especies del género *Quercus* es mantener sus poblaciones y favorecer su multiplicación por semilla. Sin embargo, en casos particulares la embrionárea somática puede ser una herramienta de conservación. Ya se ha utilizado como tal para clonar el Alcornoque de Alfavaret, un árbol con un genoma muy peculiar que sobrevive en la isla de Menorca pero que se encuentra tan envejecido que ya no produce semillas. Además, las bellotas son semillas recalcitrantes, con alto contenido de humedad, y resultan muy difíciles de conservar a largo plazo, mientras que los tejidos embrionáreos se pueden crioconservar a largo plazo sin perder su capacidad de regeneración, por lo que en casos particulares podrían ser una valiosa herramienta de conservación. En cualquier caso, el alcornoque es una de las especies arbóreas más importantes del ecosistema mediterráneo. Junto a su gran valor social y ecológico, posee un valor económico indudable. Su producto principal es el corcho, pero también sus bellotas son la base de la alimentación del cerdo ibérico, micorriza con diferentes especies de hongos comestibles y se están investigando las posibilidades de aplicación de diferentes sustancias producidas por esta especie que inhiben el crecimiento de líneas celulares cancerosas. El protocolo que se ha aplicado a la conservación de los genotipos singulares está siendo utilizado por la empresa TRAGSA para desarrollar variedades selectas de alcornoque, a fin de poder aplicar la silvicultura multivarietal en plantaciones.

La Biotecnología está teniendo un impacto creciente sobre el sector forestal, principalmente en lo que se refiere al establecimiento de plantaciones productivas, la industria de árboles ornamentales y la forestación urbana. La propagación vegetativa mediante embrionárea somática se está consolidando a nivel comercial debido a la actividad de diversas empresas americanas, como la canadiense



Los embriones somáticos puestos en condiciones apropiadas pueden madurar y germinar como auténticas semillas, produciendo plantas clónicas iguales genéticamente a los árboles singulares

CellFor (www.cellfor.com) y la estadounidense Arbogen (www.arbogen.com), que producen anualmente millones de plantas clónicas del género *Pinus* para repoblaciones. En Europa se ha creado la empresa SweTree Technologies (<http://swetree.com/>), que pretende producir millones de plantas de *Picea abies* por embrionárea somática para 2012.

Como consecuencia de los avances en esta técnica de propagación se ha creado dentro de IUFRO (una red mundial de organizaciones de investigación forestal) la unidad 2.09.02 sobre embrionárea somática y tecnologías de propagación vegetativa.

El Dr. Mariano Toribio, del IMIDRA, es coordinador adjunto de dicha unidad, que celebró su primera reunión de trabajo bajo el título “*Advances in somatic embryogenesis of trees and its application for the future forests and plantations*” en Swon (Corea del Sur) del 19 al 21 de agosto de 2010.

En la semana siguiente, también en Corea del Sur, en Seúl, tuvo lugar el XXIII Congreso Mundial de IUFRO,

Unión Internacional de Organizaciones de Investigación Forestal. Esta institución de gran prestigio celebra congresos desde finales del siglo XIX, últimamente cada cinco años. El último se celebró con el título “*Forests for the Future: Sustaining Society and the Environment*”.

En dicho congreso se presentaron a la comunidad científica forestal los avances actuales de la regeneración clonal de especies forestales mediante embrionárea somática, dentro de la sesión técnica “*Emerging Technologies in the Forest Sector*”. Los investigadores del IMIDRA expusieron en ambas reuniones los protocolos de regeneración que han desarrollado y que tienen su expresión aplicada, entre otras, en la clonación de los árboles singulares de la Comunidad de Madrid.

Agradecimientos: los autores quieren manifestar su agradecimiento a D. David Medel, D.^a Lucía Turnes, D. Alfredo Cuevas y D.^a Noelia Ramírez por su entusiasta colaboración en la clonación de los árboles singulares de la Comunidad de Madrid. F