



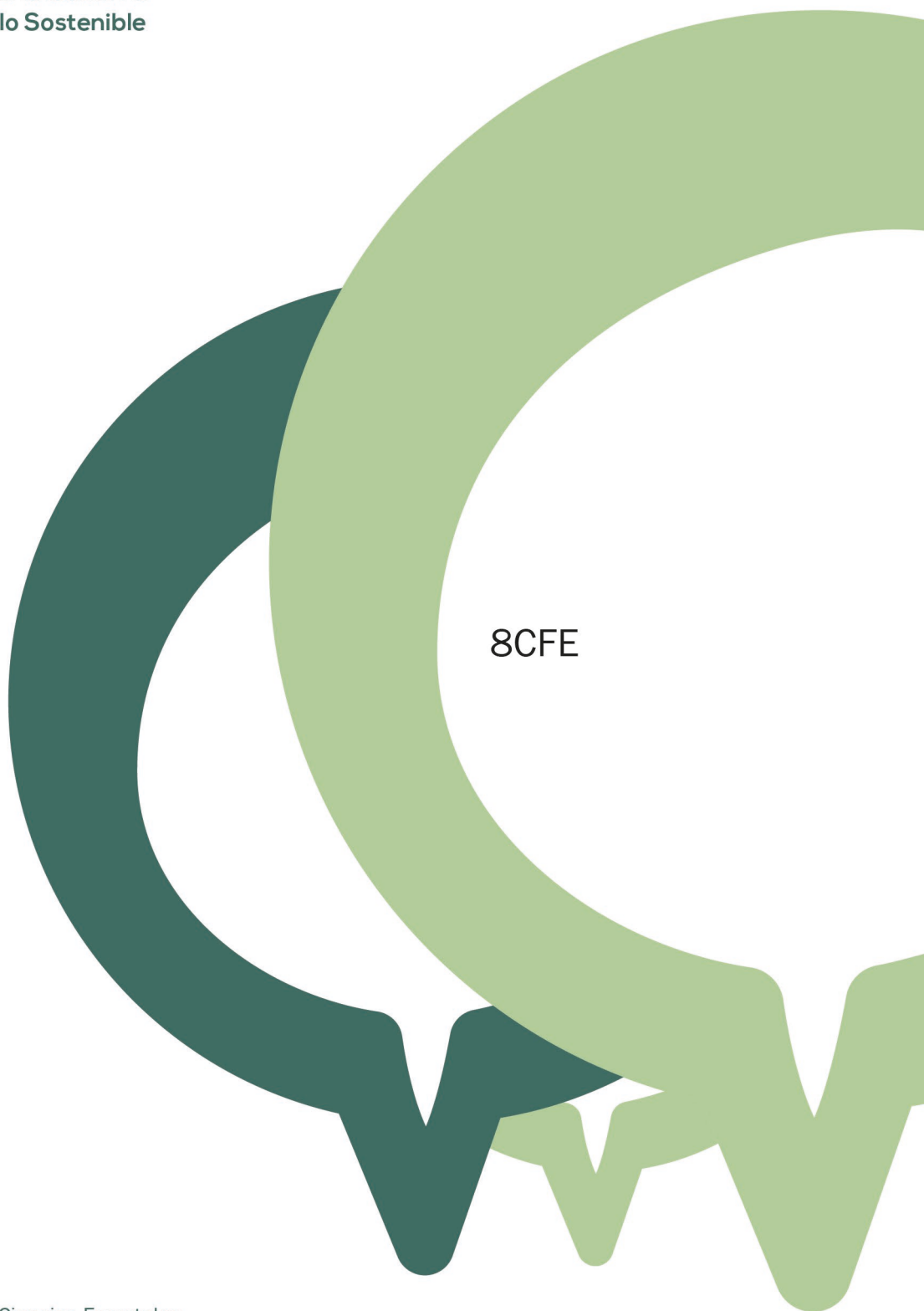
2022
Lleida

27·1
junio · juny
julio · juliol

Cataluña
Catalunya

8º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

La **Ciencia forestal** y su contribución a los **Objetivos de Desarrollo Sostenible**



8CFE

Edita: Sociedad Española de Ciencias Forestales

Cataluña | Catalunya · 27 junio | juny - 1 julio | juliol 2022

ISBN 978-84-941695-6-4

© Sociedad Española de Ciencias Forestales

Organiza



Selección de encinas y alcornoques tolerantes simultáneamente a estrés hídrico y a *Phytophthora cinnamomi*

SOLLA, A.^{1*}, CUENCA, B.², TAPIAS, R.³, GONZÁLEZ, R.¹, ALCAIDE, F.¹, DORADO, F.J.¹, CAMISÓN, A.¹, ECHEVARRÍA, E.¹, CUBERA, E.¹, FERNÁNDEZ, M.L.³, QUEVEDO, A.³, SORIANO, J.³, FERNÁNDEZ, M.³, MARTÍN, M.A.³, LUQUERO, L.⁵, OCAÑA, L.⁵, PÉREZ, F.⁶

¹ Ingeniería Forestal y del Medio Natural, Instituto de Investigación de la Dehesa (INDEHESA), Universidad de Extremadura, Avenida Virgen del Puerto 2, 10600 - Plasencia, Cáceres, España (asolla@unex.es).

² TRAGSA. Vivero de Maceda, Ourense, España (bcuenca@tragsa.es).

³ Departamento de Ciencias Agroforestales. Universidad de Huelva, España (rtapias@dcaf.uhu.es).

⁴ ETSIAM. Departamento de Genética. Universidad de Córdoba, España (angela.martin@uco.es).

⁵ TRAGSA. Subdirección de Soporte Técnico e Innovación, Madrid, España (locana@tragsa.es).

⁶ Dirección General de Biodiversidad, Bosques y Desertificación, Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITECO), Madrid, España (FPerez@miteco.es).

Resumen

El decaimiento y mortalidad de quercíneas está generado por un conjunto de factores entre los que destacan el estrés hídrico y *Phytophthora* spp. Con el objetivo de hacer una selección de genotipos de *Quercus ilex* y *Q. suber* tolerantes a escenarios combinados de estrés hídrico (Eh) y *P. cinnamomi* (Pc), brinzales de las dos especies se sometieron durante dos años consecutivos a los siguientes tratamientos: 'control' (930 plantas), Eh (576 plantas), Pc (912 plantas), Eh + Pc (3.378 plantas), Pc + Eh (2.880 plantas), y Eh + Pc + Eh (7.434 plantas). El material vegetal de cada especie procedió de 9 poblaciones y 10 árboles madre por población, y los ensayos se realizaron simultáneamente en Maceda, Plasencia y Huelva. En general, las encinas toleraron mejor el estrés hídrico y los alcornoques toleraron mejor a Pc. En respuesta a los escenarios combinados, se observó una mayor variación de respuesta al estrés en encinas que en alcornoques. Para cada uno de los tres escenarios de estrés combinado se seleccionaron una treintena de plantas por especie que serán objeto de propagación vegetativa y una nueva evaluación. El material selecto se incluirá en el actual programa de mejora ante la seca.

Palabras clave

Mejora genética, resistencia, tolerancia, seca.

1. Introducción

En las últimas décadas la dehesa ha experimentado importantes cambios en sus pautas de manejo y numerosas voces han cuestionado la supuesta sostenibilidad del sistema, al menos ante la actual gestión (PLIENINGER et al., 2003; AROSA et al., 2017). La compactación, pérdida de fertilidad y erosión del suelo, la ausencia de regeneración natural del arbolado y el decaimiento y mortalidad del arbolado por ausencia de micorrizas, sequía y presencia de diversos patógenos, principalmente *Phytophthora cinnamomi*, son algunos de los problemas más reconocidos para *Q. ilex* y *Q. suber* (CAMILO-ALVES et al., 2013; CORCOBADO et al., 2014b, 2015). La respuesta de encinas y alcornoques ante *P. cinnamomi* presenta un patrón diferencial entre distintos individuos, ya que existen genotipos con una aparente tolerancia al patógeno (TAPIAS et al., 2006; NAVARRO et al., 2009; LEÓN et al., 2017; CUENCA et al., 2017; CORCOBADO et al., 2017). Por ello, la utilización de semilla procedente de progenitores selectos que presenten resistencia a *P. cinnamomi* podría ser una alternativa válida para la recuperación de poblaciones de encina y alcornoques afectados (PÉREZ et al., 2020).

En la actualidad, el incremento de las temperaturas genera sequía fisiológica en encinas y alcornoques (VESSELLA et al., 2017) pues, aunque las precipitaciones anuales se mantengan

similares en el tiempo, la evapotranspiración resulta más elevada por el incremento global de la temperatura. La encina y el alcornoque son especies tolerantes al estrés hídrico que también muestran variación significativa ante el mismo (GEA-IZQUIERDO et al., 2009, 2021; RAMÍREZ-VALIENTE et al., 2009), lo que permitiría iniciar una línea de mejora en este sentido. No es fácil mejorar una especie forestal hacia múltiples factores simultáneamente, pero ante el cambio global ya se ha sugerido esta opción (SANTINI et al., 2008; WHITE et al., 2014). Entre los objetivos del subgrupo de trabajo “Mejora genética y fisiológica”, coordinado por el MAPA-MITECO (PÉREZ et al., 2020), figura mejorar la encina y el alcornoque ante los dos principales factores del decaimiento: estrés hídrico y *P. cinnamomi* (CAMILO-ALVES et al., 2013; CORCOBADO et al., 2013; GEA-IZQUIERDO et al., 2021; ENCINAS-VALERO et al., 2022). La falta de conocimiento sobre la variabilidad entre poblaciones, árboles madre y transmisión de resistencia entre generaciones son las principales incógnitas de la mejora forestal ante estos dos factores. No existen datos que permitan el análisis de la heredabilidad de la tolerancia de encinas y alcornoques ante la combinación de estrés hídrico y *P. cinnamomi*.

2. Objetivos

A largo plazo este trabajo pretende poner a disposición material forestal de reproducción de encina y alcornoque tolerante a estrés hídrico y *P. cinnamomi* simultáneamente. Con ello se conseguiría incrementar el éxito de las nuevas plantaciones, y de las reposiciones en las dehesas. A corto plazo se pretenden identificar poblaciones y árboles madre de encina y alcornoque cuyas progenies sean más tolerantes a estrés hídrico y *P. cinnamomi*, y evaluar heredabilidades de la tolerancia con miras a la mejora.

3. Metodología

En otoño de 2019 se establecieron 18 puntos de muestreo de bellota localizados en zonas no afectadas por seca, tratando de incluir la mayor variabilidad de regiones de procedencia a nivel nacional (Figura 1). Se eligieron árboles adultos de 9 poblaciones de *Q. ilex* y 9 poblaciones de *Q. suber*. Las poblaciones de *Q. ilex* pertenecen a 8 regiones de procedencia distintas, si bien la región extremeña, debido a su extensión, estuvo representada por dos poblaciones. Las 9 poblaciones de *Q. suber* fueron de regiones de procedencia diferentes.

En cada población se seleccionaron diez árboles asintomáticos de los que se recogió su fruto y se dividió en tres lotes de similar cantidad de bellota. Cada lote fue sembrado y manipulado por igual en las instalaciones de la Universidad de Extremadura (UEX), Universidad de Huelva (UHU) y Tragsa (vivero de Maceda): siembra en enero de 2020 en bandejas de 48 alveolos de 300 mL de volumen (18 cm de alto y 5,3 × 5,3 cm de luz superior) (Figura 2a) agrupadas en bloques con un solo brinjal de cada árbol madre por bloque, ubicado al azar. Como sustrato se utilizó una mezcla (9:1) de turba rubia Sphagnum de 0 a 20 mm de granulometría (Kekkila® Professional) y vermiculita de 0 a 20 mm de granulometría (Projar®, grado 2) (Figura 2a). Al sustrato se añadió un abono NUTRICOTE (15+9+10 T270) de liberación controlada durante 12-14 meses. Se utilizaron 67 g de abono por bandeja, aproximadamente 1,4 g por planta. El material vegetal fue regado a capacidad de campo al menos una vez por semana (Figura 2b).

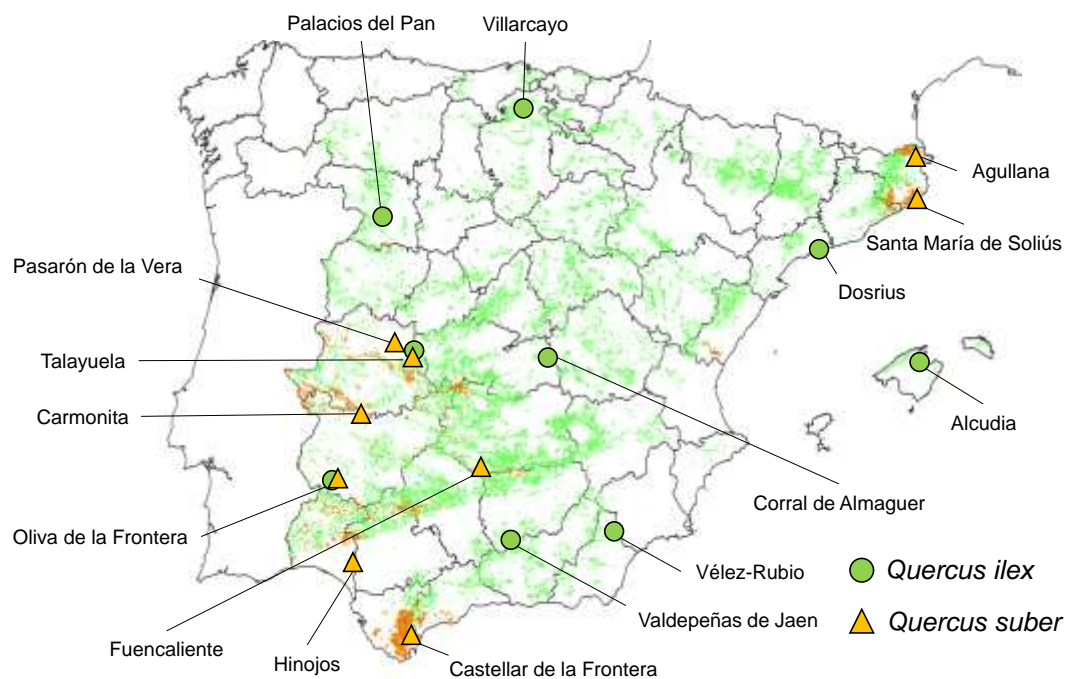


Figura 1. Origen del material vegetal utilizado para seleccionar encinas y alcornoques tolerantes simultáneamente a estrés hídrico y a *Phytophthora cinnamomi*.

La tolerancia de brinzales ante diferentes escenarios de estrés hídrico (Eh) y *P. cinnamomi* (Pc) se evaluó simultáneamente en Plasencia (por la UEx), Huelva (por la UHu) y Maceda (Ourense, por Tragsa). Los tres equipos evaluaron el efecto de los tratamientos individuales 'control' (930 plantas), 'Eh' (576 plantas) y 'Pc' (912 plantas), y el efecto de los tratamientos combinados 'Eh+Pc' (3.378 plantas) y 'Pc+Eh' (2.880 plantas). El efecto de un tratamiento triple 'Eh+Pc+Eh' (7.434 plantas) se evaluó exclusivamente en Maceda. Eh consistió en no regar la planta durante un mes (por ejemplo 1 a 30 de junio en 2020), dejando marchitar entre un 25 y 30% de la misma. La inoculación con Pc fue a principios de julio de 2020 y 2021 en las tres localidades, utilizándose la misma cepa. Eh posterior a la inoculación consistió en no regar la planta tras haberla inoculado. Para estimular el efecto de Pc, la planta inoculada se encharcó en tres ocasiones a lo largo del verano de 2020 y 2021 (Figura 2c), utilizándose un riego semanal a capacidad de campo en los tratamientos Pc y Eh+Pc, y un riego cada dos semanas a capacidad de campo en los tratamientos Pc+Eh y Eh+Pc+Eh. Se dispuso de una capa de 7 cm de perlita de 3 a 6 mm de granulometría en el fondo de las bandejas para lograr que los tratamientos de estrés hídrico fueran más atenuados y prolongados ya que todas las plantas tuvieron la oportunidad de extender sus raíces en esta capa cuya humedad y nivel de infección varía de forma homogénea para todas ellas.

Las bellotas fueron desinfectadas en una solución de fungicida de amplio espectro (Thiram 2%) y posteriormente estratificadas en turba a 3-4°C durante un mes. De las 16.050 bellotas utilizadas, 8.200 fueron pesadas individualmente en fresco y se anotó la presencia de agujeros por *Curculio/Cydia*. Tras colocarse al azar en cada bandeja (Figura 2a), fueron hundidas 1 cm. La inoculación consistió en la infestación de suelo según el protocolo de Jung et al., (1996). El inóculo se preparó un mes antes de la inoculación con la cepa MYC018, aislada en octubre de 2014 por Enrique Cardillo (CICYTEX) de las raíces de una encina ubicada en Mérida. Se utilizó una cucharada de inóculo por planta. Una vez inoculadas las plantas, las bandejas se sumergieron totalmente durante 3 días, hasta cubrir con agua el cuello de la raíz de las plantas. Tras las inoculaciones (Figura 2c,d), la mortalidad se evaluó cada semana en 2020 y cada dos semanas en 2021. Las alturas de todas las plantas fueron medidas una semana previa a las inoculaciones y al final de los períodos vegetativos.

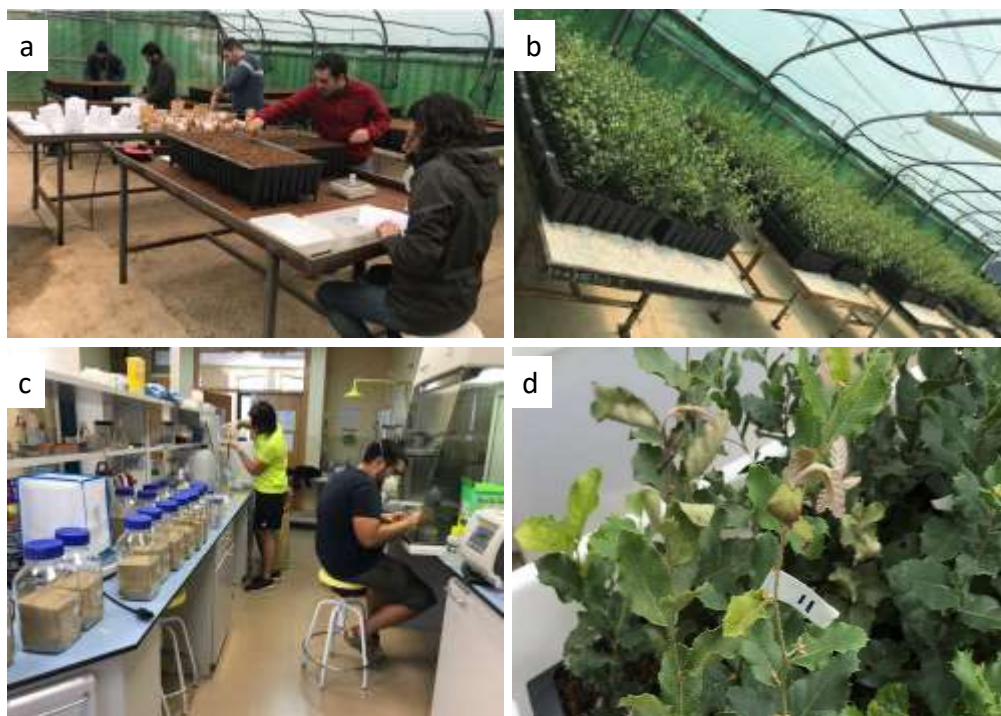


Figura 2. Disposición de la bellota sembrada en enero de 2020 en bandejas de 48 alveolos antes de su enterramiento a 1 cm aproximadamente (a), estado del material vegetal en abril de 2020 (b), contenedores utilizados para el encharcamiento tras la inoculación con *Phytophthora cinnamomi* (c), y primeros síntomas tras la inoculación, a los 20 días de infestar el suelo con inóculo (d).

La evolución de la mortalidad de los brinzales según la especie, población y árbol madre se analizó de dos maneras, en primer lugar mediante el procedimiento Survival Time Analysis (SOLLA et al., 2011), censurándose los brinzales vivos. Para modelizar la supervivencia se utilizó el estadístico de Kaplan-Meier, y la significación de este análisis se obtuvo a través del test no paramétrico de Gehan. En segundo lugar, para los tratamientos Eh+Pc, Pc+Eh y Eh+Pc+Eh (por disponer de más planta) se utilizaron modelos lineales generalizados (GLM) mixtos, con el tiempo en morir como variable dependiente, el bloque como factor fijo, la población y el árbol madre (anidado a la población) como factores aleatorios, y el peso de la bellota, momento de germinación y altura de la planta como covariables. A partir de los modelos se obtuvieron los componentes de la varianza. Las heredabilidades en sentido estricto (h^2) de encina y alcornoque para el carácter ‘tiempo en morir’ se estimaron dividiendo la varianza genética aditiva (V_A) entre la varianza fenotípica (V_P). Para corregir las estimaciones de h^2 asumiendo tasas medias de autopolinización entre 1 y 3% (ORTEGO et al., 2010), se utilizó un coeficiente r de parentesco de 0,27 en vez del valor 0,25 habitual entre medios hermanos. Por tanto h^2 fue estimada como (SOLLA et al., 2016):

$$\hat{h}^2 = V_A / V_P = (1 / r \cdot \sigma_{f(\text{pop})}^2) / (\sigma_{f(\text{pop})}^2 + \sigma_p^2 + \sigma_e^2)$$

donde $\sigma_{f(\text{pop})}^2$ es la varianza entre árboles madre, σ_p^2 la varianza entre poblaciones, y σ_e^2 la varianza del error. Los errores estándar de h^2 se obtuvieron siguiendo a JAYARAMAN (1999). Las correlaciones genéticas y fenotípicas entre peso de bellota, el tiempo en germinar, la altura de la planta y el tiempo en morir se obtuvieron a partir de coeficientes de Pearson, tras relacionar los valores medios familiares e individuales de las variables, respectivamente. Para todos los análisis se utilizó el programa Statistica V.10 (StatSoft. Inc, Tulsa, OK, USA).

4. Resultados

A finales de 2021, transcurridos 500 días tras el inicio de los tratamientos, se observaron mortalidades totales del 78 y 72% en planta de *Q. ilex* y *Q. suber*, respectivamente. En *Q. ilex*, el efecto individual estrés hídrico (Eh) generó la misma mortalidad que el efecto individual *P. cinnamomi* (Pc) (Tabla 1). Cuando ambos efectos se combinaron según Eh+Pc o Pc+Eh, la mortalidad de la planta se incrementó de forma significativa un 50% (Tabla 1). El tratamiento triple Eh+Pc+Eh generó una mortalidad intermedia entre los tratamientos individuales y dobles (Tabla 1). En *Q. suber*, el estrés hídrico (Eh) generó un 41% más de mortalidad que Pc (Tabla 1). Al igual que en *Q. ilex*, el estrés hídrico previo a la inoculación (es decir Eh+Pc) incrementó significativamente la mortalidad de la planta ante Pc. Sin embargo, si el estrés hídrico es posterior a la inoculación (es decir Pc+Eh), la mortalidad se incrementó significativamente más, hasta llegar a duplicarse (Tabla 1). En *Q. suber*, el tratamiento triple Eh+Pc+Eh generó una mortalidad intermedia entre los tratamientos dobles Eh+Pc y Pc+Eh (Tabla 1).

La evolución de la mortalidad de las plantas fue diferente según los tratamientos (Figura 3). En *Q. ilex*, Pc+Eh y Eh+Pc fueron los tratamientos que más redujeron la longevidad en las plantas, seguidos de Eh (Figura 3a). En *Q. suber*, sin embargo, Eh fue el tratamiento que más redujo la longevidad en las plantas, seguido de Pc+Eh y Eh+Pc (Figura 3b). En ambas especies resultó interesante observar que el tratamiento triple Eh+Pc+Eh incrementó significativamente la longevidad de las plantas frente a los tratamientos dobles Pc+Eh y Eh+Pc (Figura 3). Las poblaciones de encina de Palacios del Pan y Vélez Rubio, y de alcornoque de Carmonita han destacado sobre otras por los mayores niveles de longevidad de sus progenies (Tabla 2).

Tabla 1. Porcentajes de mortalidad en plántulas de encina y alcornoque sometidas durante 500 días a estrés hídrico (Eh) y *Phytophthora cinnamomi* (Pc) de manera individual y combinada. Diferencias entre tratamientos y entre especies se indican con letras distintas ($p < 0.05$) y valores *p*, respectivamente.

Tratamientos	<i>Quercus ilex</i>		<i>Quercus suber</i>		Diferencia entre especies
Control	19	a	32	a	<0,001
Eh	57	b	62	c	ns
Pc	58	b	44	b	<0,001
Eh+Pc	90	d	54	c	<0,001
Pc+Eh	91	d	89	e	ns
Eh+Pc+Eh	77	c	82	d	<0,001
Media	78		72		<0,001

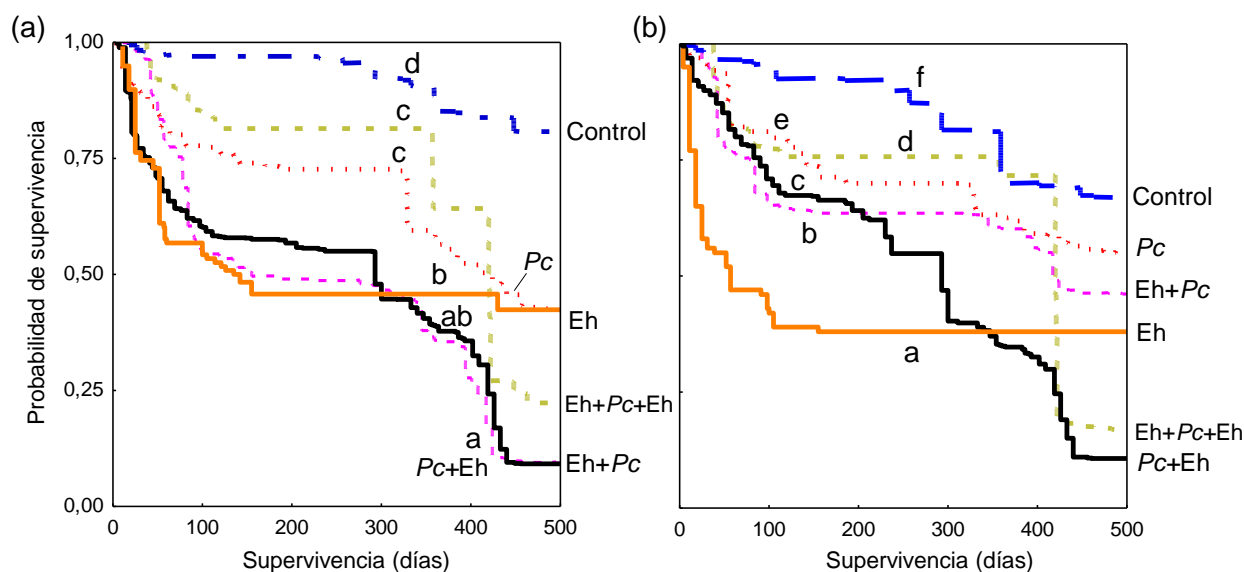


Figura 3. Curvas de supervivencia de plántulas de *Quercus ilex* (a) y *Q. suber* (b) sometidas durante 500 días a tratamientos individuales y combinados de estrés hídrico (Eh) y *Phytophthora cinnamomi* (Pc). La supervivencia se modelizó según el estadístico de Kaplan-Meier y las diferencias entre tratamientos (letras distintas si $p < 0,05$) se obtuvieron a partir del test no paramétrico de Gehan.

En *Q. suber* no se observaron diferencias significativas de supervivencia media entre progenies ante Eh+Pc. No obstante, sí se observaron diferencias significativas de mortalidad entre progenies ($p < 0,05$) ante el resto de tratamientos, por lo cual se estimaron heredabilidades significativas para el carácter "tiempo en morir" (Tabla 2). A la derecha de la Figura 4 (columnas en blanco) se indican los árboles madre cuyas progenies mostraron mayor longevidad ante Eh+Pc+Eh.

Tabla 2. Longevidad o días de supervivencia de plántulas de nueve poblaciones de *Quercus ilex* y *Q. suber* sometidas durante 500 días a tratamientos combinados de estrés hídrico (Eh) y *Phytophthora cinnamomi* (Pc). La supervivencia se modelizó según un GLM y letras distintas para cada tratamiento y especie indican diferencias de longevidad significativas entre poblaciones (Tukey test, $p < 0,05$). Se muestran las heredabilidades y las mayores longevidades (en negrita) ante cada tratamiento y especie.

Especie	Población	Eh+Pc	Pc+Eh	Eh+Pc+Eh	Media
<i>Q. ilex</i>	Alcudía	225 a	226 a	361 bc	271
	Corral de Almaguer	258 ab	235 ab	356 bc	283
	Dosrius	236 a	259 ab	376 cd	290
	Oliva de la Frontera	245 ab	233 ab	355 bc	278
	Palacios del Pan	283 b	275 b	345 a	301
	Talayuela	271 ab	266 ab	354 b	297
	Valdepeñas de Jaén	254 ab	252 ab	387 d	298
	Vélez-Rubio	276 ab	255 ab	376 cd	302
	Villarcayo	261 ab	238 ab	360 bc	286
	Heredabilidad estimada	0,07 ±0,04	0,11 ±0,05	0,12 ±0,03	
<i>Q. suber</i>	Agullana	326 a	172 a	326 b	275
	Carmonita	383 b	290 d	374 c	349
	Castellar de la Frontera	386 b	261 bcd	327 b	325
	Fuencaliente	369 ab	285 d	358 c	337
	Hinojos	399 b	207 ab	348 bc	318
	Oliva de la Frontera	376 b	264 cd	373 c	338
	Pasarón de la Vera	393 b	242 bc	360 c	332
	Santa María de Soliús	349 ab	264 cd	282 a	298
	Talayuela	371 b	270 cd	331 b	324
		Heredabilidad estimada	ns	0,08 ±0,04	0,09 ±0,02

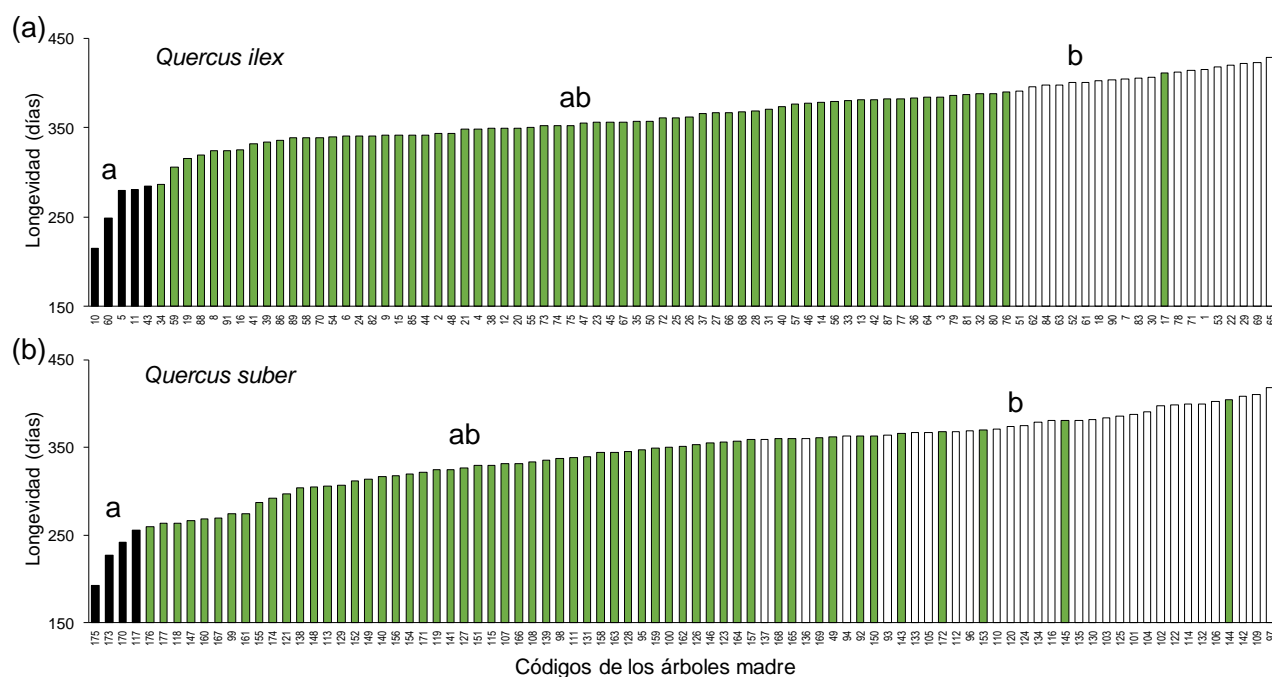


Figura 4. Longevidad en días de 90 progenies de *Quercus ilex* (a) y 87 de *Q. suber* (b) tras ser sometidas durante 2020 y 2021 a estrés hídrico en mayo-junio, inoculadas con *Phytophthora cinnamomi* en julio y sometidas a sucesivos ciclos de estrés y Pc durante el resto del período vegetativo (tratamiento Eh+Pc+Eh). Letras distintas (o colores negro y blanco) indican diferencias significativas de longevidad entre progenies (Tukey test, $p < 0.05$).

Las bellotas de *Q. ilex* más pesadas emergieron antes y dieron lugar a las plantas (Tabla 3, sobre la diagonal) y progenies (Tabla 3, bajo la diagonal), más altas. La altura de las plantas y progenies se observó inversamente relacionada con el tiempo que tardó en germinar la bellota (Tabla 3), de modo que las plantas (y progenies) más altas se correspondieron con las bellotas que emergieron antes. Las progenies de *Q. ilex* con las plantas más altas tardaron menos tiempo en morir (Tabla 3, sobre la diagonal). En *Q. suber*, las relaciones fueron similares a nivel de progenie. A nivel de individuo, la planta de alcornoque más alta y que ante emergió fue la que más tardó en morir (Tabla 4, bajo la diagonal). Entre las plantas supervivientes se seleccionaron finalmente 105 encinas y 105 alcornoques de alturas medias 31 y 44 cm, respectivamente (Figura 5).

Tabla 3. Correlaciones genéticas (entre medias familiares; $n=90$; sobre la diagonal) y fenotípicas (individuales; $n=6.509$; bajo la diagonal) de cuatro variables medidas en *Quercus ilex*

	Peso de bellota	Tiempo en emerger	Altura de la planta	Tiempo en morir
Peso de bellota	1	-0,31*	0,32*	ns
Tiempo en emerger	-0,14**	1	-0,28*	ns
Altura de la planta	0,10**	-0,22**	1	-0,32*
Tiempo en morir	ns	ns	ns	1

Los asteriscos indican significación tras aplicar la corrección de Bonferroni ($\alpha/6$) según * $p < 0,05/6$ y ** $p < 0,01/6$ ns indica falta de significación debido a que $p > 0,05/6$

Tabla 4. Correlaciones genéticas (entre medias familiares; $n=87$; sobre la diagonal) y fenotípicas (individuales; $n=5.385$; bajo la diagonal) de cuatro variables medidas en *Quercus suber*.

	Peso de bellota	Tiempo en emerger	Altura de la planta	Tiempo en morir
Peso de bellota	1	ns	0,34**	ns
Tiempo en emerger	-0,08**	1	ns	ns
Altura de la planta	0,09**	-0,05*	1	-0,30*
Tiempo en morir	ns	-0,09**	0,16**	1

Los asteriscos indican significación tras aplicar la corrección de Bonferroni ($\alpha/6$) según * $p<0,05/6$ y ** $p<0,01/6$ ns indica falta de significación debido a que $p>0,05/6$



Figura 5. Aspecto en enero de 2022 de encinas (a) y alcornoques (b) seleccionados por su tolerancia al estrés hídrico y *Phytophthora cinnamomi*, en invernaderos de UEx (Plasencia) y UHu (Huelva).

5. Discusión

Recientes estudios han abordado la interacción entre *P. cinnamomi* y el estrés hídrico (CORCOBADO et al., 2014a; SAN-EUFRASIO et al., 2021; SERRANO et al., 2021), aunque ninguno incluyendo material vegetal a escala nacional. En encina la combinación de ambos estreses genera mayor mortalidad que los estreses por separado (CORCOBADO et al., 2014a, SAN-EUFRASIO et al., 2021). El anegamiento temporal combinado con la subsiguiente privación de agua resulta el peor escenario para la encina ante *P. cinnamomi*, causando el 100% de mortalidad de las plantas (CORCOBADO et al., 2014a). En alcornoque, sin embargo, un evento de sequía en el mismo período vegetativo no aumenta la mortalidad de las plántulas después de la infección por *P. cinnamomi* (SERRANO et al., 2021).

Los resultados indican la existencia de una variabilidad de respuesta importante de *Q. ilex* y *Q. suber* ante estrés hídrico y *P. cinnamomi* en simultáneo. Esta variabilidad, unida a los valores significativos de heredabilidad para el carácter ‘tiempo en morir’ (Tabla 2), permiten afirmar que la mejora de ambas especies ante el cambio global es posible. La supervivencia de algunos individuos en campo, ubicados en el medio de focos de seca generada por estrés hídrico y *P. cinnamomi* confirma la variabilidad genética aquí observada, que podrá ser aprovechada para la mejora genética de encinas y alcornoques.

La mayor susceptibilidad de la encina que el alcornoque ante *Pc* no es una novedad. TAPIAS et al. (2005) inocularon encinas procedentes de siete zonas diferentes (Algarve, Badajoz, Granada, Cádiz, Huelva y Rioja) y compararon la mortalidad obtenida con la de un ensayo paralelo de alcornoque, observando una mayor mortalidad en progenies de *Q. ilex* que en las de *Q. suber* para tres niveles de infección. CUENCA et al. (2017) también reportaron una mortalidad de progenies de *Q. ilex* (25,9%) superior a la de progenies de *Q. suber* (14,9%). Tampoco es una novedad el que la encina tolerara mejor el estrés hídrico que el alcornoque. Lo que sí es una novedad es la diferente respuesta que han tenido las especies ante la diferente secuencia del orden aparición de los agentes de estrés (Eh+*Pc* vs *Pc*+Eh). Cuando el tratamiento de estrés hídrico es previo a *Pc*, el alcornoque se muestra inicialmente más afectado, pero al entrar *Pc* los resultados se invierten (Tabla 1). Cuando la infección es previa a Eh, la mortalidad es parecida en las dos especies (Tabla 1). Una posible explicación del diferente comportamiento de las dos especies ante Eh+*Pc* y *Pc*+Eh es que los daños producidos por un episodio de estrés hídrico de corta duración son compensados de manera eficiente en alcornoque (que luego rebrota), sin que ello afecte significativamente a su tolerancia al patógeno. En encina, sin embargo, un episodio de estrés hídrico previo a la infección incrementa la susceptibilidad de las plantas a *Pc* (CORCOBADO et al., 2014a), tal y como se observó aquí. Cuando el estrés hídrico es posterior a la infección, el alcornoque pierde su ventaja frente al patógeno (y a la encina) pues la destrucción parcial de su sistema radicular le hace muy susceptible a la sequía, y el alcornoque muere.

Son varios los estudios en los que se indica la variabilidad interespecífica de la encina y el alcornoque ante *Pc* (MOREIRA et al., 1997; LEÓN et al., 2017; SAN-EUFRASIO et al., 2021). También se ha reportado que *Q. ilex* subsp. *ilex* sobrevive mejor que *Q. ilex* subsp. *ballota* (CORCOBADO et al., 2017). No se confirma aquí que las progenies de Dosrius y Alcudia (ambas subsp. *ilex*) fueran más tolerantes a *Pc* que el resto las de las progenies (subsp. *ballota*). Los resultados entre experimentos no son siempre comparables, pues las condiciones ambientales en las que se realiza la inoculación, la cepa y sustratos utilizados o la edad del material vegetal influyen significativamente. También influye si se ensaya material procedente de árboles madre infectados o sanos: individuos infectados generan planta más tolerante a *Pc* que individuos no infectados (VIVAS et al., 2021).

El siguiente paso a seguir es propagar vegetativamente el material tolerante utilizando diversos protocolos de clonación (MARTÍNEZ et al., 2020) y generar parcelas para observar la mortalidad de los brinzales en campo. A medio plazo se generará una población de mejora y un huerto semillero (PÉREZ et al., 2020). A largo plazo estos genotipos podrán ser registrados como materiales de base para la producción de material forestal de reproducción de las categorías cualificado y controlado.

6. Conclusiones

A nivel de población y de progenie, encinas y alcornoques muestran mayor mortalidad ante estrés combinado que ante el estrés que genera *Pc*. Esta mortalidad se hace todavía más acusada si el estrés hídrico es posterior a *Pc*. En general, la encina sufre más ante tratamientos combinados de *Pc* y Eh, y el alcornoque sufre más ante Eh. Las relaciones significativas observadas entre la longevidad de las plantas y el peso de su bellota, el tiempo en emerger, y su altura, indican que es necesario tener en cuenta esta información ante decisiones de mejora. Las heredabilidades del carácter 'tiempo en morir' ante la combinación de estrés hídrico y *P. cinnamomi* han sido modestas pero significativas, y dan sentido al inicio de un programa de mejora genética. Se han identificado 19 encinas y 27 alcornoques cuyas progenies ante el estrés hídrico e inoculaciones artificiales de *P. cinnamomi* muestran longevidades significativamente superiores a otras. Estos árboles y sus progenies podrían ser empleados en una estrategia de conservación y mejora. Por otro lado se han seleccionado 210 brinzales de encina y alcornoque vigorosos a partir de 16.050 iniciales, lo que supone una intensidad de selección de 1,3%. Este material de origen diverso se establecerá en

parcelas clonales y huertos semilleros para luego generar material forestal de reproducción. Se precisa ahora realizar esfuerzos hacia la propagación del material selecto.

7. Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el MITECO a través del Programa Nacional de mejora y Conservación de los Recursos Genéticos de la Encina y el Alcornoque frente al Síndrome de la Seca; con una cofinanciación de fondos FEADER al 75%, al estar incluido en el Programa Nacional de Desarrollo Rural 2014 - 2020, dentro de la submedida 15.2, de apoyo al fomento y la conservación de los recursos genéticos forestales. Agradecemos al Dr Fco. Ruiz-Gómez (Universidad de Córdoba) la recogida de parte de la bellota, a la Dra. María Vivas (UEx) su ayuda durante la siembra y germinación, y al Dr. Enrique Cardillo (CICYTEX) la cesión de la cepa de *P. cinnamomi* empleada para los ensayos de evaluación de resistencia.

8. Bibliografía

AROSA, M. L.; BASTOS, R.; CABRAL, J. A.; FREITAS, H.; COSTA, S. R.; SANTOS, M.; 2017. Long-term sustainability of cork oak agro-forests in the Iberian Peninsula: A model-based approach aimed at supporting the best management options for the *montado* conservation. *Ecol Modell* 343, 68-79.

CAMILO-ALVES, C.S.P.; CLARA, M.I.E.; RIBEIRO, N.M.C.A.; 2013. Decline of Mediterranean oak trees and its association with *Phytophthora cinnamomi*: a review. *Eur J For Res* 132, 411-432.

CORCOBADO, T.; CUBERA, E.; MORENO, G. et al. 2013. *Quercus ilex* forests are influenced by annual variations in water table, soil water deficit and fine root loss caused by *Phytophthora cinnamomi*. *Agric For Meteorol* 169: 92-99.

CORCOBADO, T.; CUBERA, E.; JUÁREZ, E.; MORENO, G.; SOLLA, A.; 2014a. Drought events determine performance of *Quercus ilex* seedlings and increase their susceptibility to *Phytophthora cinnamomi*. *Agric For Meteorol* 192, 1-8.

CORCOBADO, T.; VIVAS, M.; MORENO, G.; SOLLA, A.; 2014b. Ectomycorrhizal symbiosis in declining and non-declining *Quercus ilex* trees infected with or free of *Phytophthora cinnamomi*. *For Ecol Manage* 324, 72-80.

CORCOBADO, T.; MORENO, G.; AZUL, A.M.; SOLLA, A.; 2015. Seasonal variations of ectomycorrhizal communities in declining *Quercus ilex* forests: interactions with topography, tree health status and *Phytophthora cinnamomi* infections. *Forestry* 88, 257-266.

CORCOBADO, T.; MIRANDA-TORRES, J. J.; MARTÍN-GARCÍA, J.; JUNG, T.; SOLLA, A.; 2017. Early survival of *Quercus ilex* subspecies from different populations after infections and co-infections by multiple *Phytophthora* species. *Plant Pathol* DOI: 10.1111/ppa.12627

CUENCA VALERA, B.; RODRIGUEZ NUÑEZ, L.; GRAGERA FACUNDO, J.; BERDON BERDÓN, L.; LUQUERO RAMOS, L.; OCAÑA BUENO, L.; SOLLA, A.; 2017. Mejora de alcornoques y encinas de Extremadura ante *Phytophthora cinnamomi*: selección de genotipos resistentes. En actas del séptimo Congreso Forestal Español, 7CFE01-289.

ENCINAS-VALERO, M.; ESTEBAN, R.; HEREŞ, A.M.; BECERRIL, J.M.; GARCÍA-PLAZAOLA, J.I. et al., 2022. Photoprotective compounds as early markers to predict holm oak crown defoliation in declining Mediterranean savannahs. *Tree Physiol* 42, 208-224.

GEA-IZQUIERDO, G.; MARTÍN-BENITO, D.; CHERUBINI, P.; ISABEL, C.; 2009. Climate-growth variability in *Quercus ilex* L. west Iberian open woodlands of different stand density. *Ann For Sci* 66, 802.

GEA-IZQUIERDO, G.; NATALINI, F.; CARDILLO, E. 2021. Holm oak death is accelerated but not sudden and expresses drought legacies. *Sci Total Environ* 754, 141793.

JAYARAMAN, K.; 1999. A Statistical Manual for Forestry Research. FORSPA-FAO Publication, Bangkok.

JUNG, T; BLASCGKE, H; NEWMAN, P.; 1996. Isolation, identification and pathogenicity of *Phytophthora* species from declining oak stands. *Eur J For Pathol* 26, 253-272.

LEÓN I.; GARCÍA J.J.; FERNÁNDEZ M.; VÁZQUEZ-PIQUÉ J.; TAPIAS R.; 2017. Differences in root growth of *Quercus ilex* and *Quercus suber* seedlings infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Silva Fennica* 51, 6991

MARTÍNEZ, M.T.; VIEITEZ, F.J.; SOLLA, A.; TAPIAS, R.; RAMIREZ-MARTÍN, N.; CORREDOIRA, E. 2020. Vegetative propagation of *Phytophthora cinnamomi*-tolerant holm oak genotypes by axillary budding and somatic embryogenesis. *Forests* 11, 841-863.

MOREIRA, A.C.; FERRAZ, J.P.F.; CLEGG, J.M.; 1997. Susceptibility of *Quercus suber* and *Q. rotundifolia* to infection with *Phytophthora cinnamomi*. Proceedings of the 10th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. Montpellier. pp: 427-431.

NAVARRO, R.M.; ARIZA, D.; PORRAS, C.; JORGE, I.; JORRIN, J.; 2009. Evaluación de la resistencia aparente de individuos de encina a *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Bol San Veg Plagas* 35, 89-97.

ORTEGO. J.; BONAL, R.; MUÑOZ, A.; 2010. Genetic consequences of habitat fragmentation in long-lived tree species: the case of the Mediterranean holm oak (*Quercus ilex* L.). *J Hered* 101, 717–726.

PÉREZ, F.; CUENCA, B.; RUIZ-GÓMEZ, F. J.; REY, M. D.; RUIZ-GALEA, M.; ARRILLAGA, I. et al., 2020. Programa de mejora y conservación de los recursos genéticos de la encina y el alcornoque frente al síndrome de la “seca”. *Foresta* 78, 56-61.

PLIENINGER, T., PULIDO, F.J., KONOLD, W.; 2003. Effects of land use history on size structure of holm oak stands in Spanish dehesas: implications for conservation and restoration. *Env Conserv* 30, 61–70.

- RAMÍREZ-VALIENTE, J.A.; VALLADARES, F.; GIL, L.; ARANDA, I. 2009. Population differences in juvenile survival under increasing drought are mediated by seed size in cork oak (*Quercus suber* L.). *For Ecol Manage* 257, 1676-1683.
- SAN-EUFRASIO, B.; CASTILLEJO, M.Á.; LABELLA-ORTEGA, M.; RUIZ-GÓMEZ, F.J.; NAVARRO-CERRILLO, R.M. et al., 2021. Effect and response of *Quercus ilex* subsp. *ballota* [Desf.] Samp. seedlings from three contrasting Andalusian populations to individual and combined *Phytophthora cinnamomi* and drought stresses. *Front Plant Sci* 12, 722802.
- SANTINI, A.; LA PORTA, N.; GHELARDINI, L.; MITTEMPERGHER, L. 2008. Breeding against Dutch elm disease adapted to the Mediterranean climate. *Euphytica* 163, 45-56.
- SERRANO, M.S.; PÉREZ, F.J.; GÓMEZ-APARICIO, L.; 2021. Disentangling the interactive effects of climate change and *Phytophthora cinnamomi* on coexisting Mediterranean tree species. *Agric For Meteorol* 298, 108295.
- SOLLA, A.; AGUÍN, O.; CUBERA, E.; SAMPEDRO, L.; MANSILLA, J.P.; ZAS, R.; 2011. Survival time analysis of *Pinus pinaster* inoculated with *Armillaria ostoyae*: genetic variation and relevance of seed and root traits. *Eur J Plant Pathol* 130, 477–488.
- SOLLA, A.; MILANOVIĆ, S.; GALLARDO, A.; BUENO, A.; CORCOBADO, T.; CÁCERES, Y.; MORCUENDE, D.; QUESADA, A.; MORENO, G.; PULIDO, F.; 2016. Genetic determination of tannins and herbivore resistance in *Quercus ilex*. *Tree Genet Genomes* 12, 117.
- TAPIAS, R.; FERNÁNDEZ, M.; SÁENZ, A.; ALCUÑA, M.M.; JOSÉ, V.; INCHUSTA, A.; MOREIRA, A.C.; CRAVADOR, A.; 2005. Variabilidad de la resistencia/tolerancia de plántulas de encina (*Quercus ilex* subsp. *ballota* L.) al patógeno *Phytophthora cinnamomi* Rands. Evaluación de supervivencia y crecimiento. IV Congreso Forestal Español. Zaragoza, Septiembre 2005
- TAPIAS, R.; FERNÁNDEZ, M.; MOREIRA, A.C.; SÁNCHEZ, E.; CRAVADOR, A.; 2006. Posibilidades de la variabilidad genética de encinas y alcornoques en la conservación y recuperación de bosques amenazados por la seca. *Bol Inf CIDEU* 1, 45-51.
- VESSELLA, F.; LÓPEZ-TIRADO, J.; SIMEONE, M.C.; SCHIRONE, B.; HIDALGO, P.J.; 2017. A tree species range in the face of climate change: cork oak as a study case for the Mediterranean biome. *Eur J For Res* 136, 555–569.
- VIVAS, M.; HERNÁNDEZ, J.; CORCOBADO, T.; CUBERA, E.; SOLLA, A.; 2021. Transgenerational induction of resistance to *Phytophthora cinnamomi* in Holm oak. *Forests* 12, 100.
- WHITE, T.; DAVIS, J.; GEZAN, S.; HULCR, J.; JOKELA, E.; KIRST, M. et al. 2014. Breeding for value in a changing world: past achievements and future prospects. *New For* 45, 301-309.