



2025 | **16-20**
GIJÓN | **JUNIO**

9º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

9CFE-1538

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

Organiza





Selección de genotipos de encina y alcornoque con tolerancia estable a diferentes combinaciones de sequía e infección por *Phytophthora cinnamomi*

DE LA MATA POMBO, R. (1), CUENCA VARELA, B. (2), TAPIAS MARTÍN, R. (3), FERNÁNDEZ MARTÍNEZ, M.L. (3), FERNÁNDEZ GARCÍA, M. (3), PÉREZ MARTÍN, F. (4), HERNÁNDEZ SERRANO, A. (1), GONZÁLEZ GONZÁLEZ, R. (1), ALCAIDE ROMERO, F. (1), DORADO REYES, F.J. (1) y SOLLA HACH, A. (1)

(1) Ingeniería Forestal y del Medio Natural, Instituto de Investigación de la Dehesa (INDEHESA), Universidad de Extremadura.

(2) TRAGSA. Vivero de Maceda.

(3) Departamento de Ciencias Agroforestales, Universidad de Huelva.

(4) Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITECO).

Resumen

Quercus ilex y *Q. suber* sufren en las dehesas mediterráneas graves amenazas por la sequía y *Phytophthora cinnamomi* (*Pc*), cuya interacción exacerba la mortalidad. La restauración de las dehesas depende de la disponibilidad de planta más tolerante, pero la interacción genotipo-ambiente ($G \times E$) puede complicar la selección, ya que las condiciones ambientales de estrés durante la selección podrían influir en los procesos de mejora. Comprender las respuestas genéticas frente a la variación ambiental es clave para implementar estrategias de mejora genética efectivas. Aquí evaluamos en invernadero el tiempo hasta la muerte de 10.400 plántulas de 90 familias de medios hermanos de encina y 87 de alcornoque de toda España, bajo tres escenarios de estrés: *Pc*, *Pc*+sequía y sequía+*Pc*. Analizamos la variación inter- e intraespecífica en la tolerancia y estimamos la varianza genética aditiva y la relevancia de la interacción $G \times E$. También cuantificamos la estabilidad fenotípica de las familias y su relación con la tolerancia general para definir estrategias óptimas de selección. La sequía posterior a la infección redujo la supervivencia en ambas especies, homogeneizando los niveles de tolerancia entre ellas. Se detectó variación geográfica solo en *Q. suber*, asociada con la longitud, de tal manera que las poblaciones del este de España mostraron menor tolerancia. Ambas especies exhibieron variación genética aditiva significativa, lo que indica potencial para la mejora genética. Las estimaciones de heredabilidad fueron bajas en general, pero mayores en los escenarios con *Pc* ($h^2 = 0,10-0,16$). Se identificó una fuerte interacción $G \times E$, debida a cambios en los rankings familiares a través de escenarios, lo que complica la selección de genotipos ampliamente tolerantes. Los análisis de estabilidad fenotípica revelaron variación significativa entre familias, y se identificaron familias con alta tolerancia y estabilidad a través de escenarios. Una estrategia de selección del 20% de las madres más tolerantes podría lograr ganancias genéticas del 18% en ambas especies. Estos resultados dan soporte a las estrategias de mejora genética para aumentar la tolerancia a la combinación de estreses en las dehesas mediterráneas.

Palabras clave



Síndrome de la seca, interacción $G \times E$, plasticidad fenotípica, mejora genética, decaimiento.

1. Introducción

Las dehesas mediterráneas, ecosistemas multifuncionales con estructura de tipo sabana y dominadas por *Quercus ilex* y *Q. suber*, enfrentan presiones crecientes debido a factores climáticos y bióticos (GEA-IZQUIERDO et al., 2021; LÓPEZ-BALLESTEROS et al., 2023). La prolongada gestión humana ha moldeado estas áreas, pero hoy son más vulnerables debido a sequías más frecuentes, al aumento de las temperaturas y a una regeneración natural insuficiente, todo ello agravado por la degradación del suelo y la propagación de *Phytophthora cinnamomi* (*Pc*) (PLIENINGER et al., 2003; AROSA et al., 2017). *Pc* es un patógeno que ha intensificado el decaimiento de las dehesas desde la década de 1980, dañando las raíces finas, dificultando la absorción de agua y exacerbando los efectos de la sequía, lo que resulta en estrés fisiológico severo y mortalidad elevada del arbolado (REDONDO et al., 2015; RUÍZ-GÓMEZ et al., 2018). Las interacciones sinérgicas entre sequía y *Pc* agravan los impactos en la resiliencia de las dehesas, especialmente bajo condiciones de estrés extremo (GEA-IZQUIERDO et al., 2021).

Aunque se ha observado que *Q. ilex* es más resistente a la sequía debido a una mayor resistencia del xilema a la cavitación y a su capacidad para evitar la desecación foliar (RÁMIREZ-VALIENTE et al., 2020), el alcornoque muestra mayor tolerancia a *Pc* (LEÓN et al., 2017). Sin embargo, los efectos sinérgicos de la sequía e infección por *Pc* varían según las condiciones particulares en las que se producen la combinación de estreses. Por ejemplo, en *Q. ilex*, sequías severas previas a la infección están asociadas con mayor mortalidad (CORCOBADO et al., 2014), mientras que en *Q. suber*, sequías previas tienen menor impacto en la infección posterior (GONZÁLEZ et al., 2020). En ambas especies, la sequía posterior a la infección agrava significativamente el daño causado en la planta, y esto se debe a que *Pc* reduce significativamente la capacidad de absorción de agua amplificando los efectos del estrés hídrico posterior (CAMILO-ALVES et al., 2013).

Las estrategias actuales contra el decaimiento de las dehesas, como los tratamientos químicos o enmiendas del suelo, ofrecen soluciones costosas pero temporales (SOLLA et al., 2021; LÓPEZ-SÁNCHEZ et al., 2022), destacando la necesidad de enfoques a largo plazo (MARTÍNEZ et al., 2023). El uso de materiales genéticos para plantación con mayor tolerancia a la sequía y a *Pc* es por tanto clave. La variación genética en tolerancia a la sequía y a *Pc* documentada para *Q. ilex* y *Q. suber* (RAMÍREZ-VALIENTE et al., 2009; GIMENO et al., 2009; MOREIRA et al., 2018; RODRÍGUEZ-ROMERO et al., 2022), ofrece una oportunidad esencial para el desarrollo de programas de mejora genética que incrementen su tolerancia. Sin embargo, la limitada disponibilidad de estimaciones de heredabilidad en ambas especies dificulta el diseño adecuado de las estrategias de selección (WHITE et al., 2007).

La compleja interacción entre factores genéticos y ambientales en las relaciones árbol-patógeno influye en la tolerancia del hospedador (STENLID & OLIVA, 2016). El impacto del patógeno depende tanto del nivel de estrés del árbol como de las condiciones favorables para el patógeno. Así, las circunstancias ambientales de estrés son clave para predecir la variación genética en la tolerancia de los árboles (DUKES et al., 2009). Por ejemplo, las respuestas de los árboles al estrés abiótico determinan la asignación de recursos entre defensa y reparación de tejidos (OLIVA



et al., 2014), a la vez que estas respuestas están controladas genéticamente (SNIETZKO & KOCH, 2017). De esta manera, el control genético de la tolerancia al patógeno se ve complicado por el control genético de la tolerancia al estrés abiótico. Esto puede provocar interacciones genotipo-ambiente ($G \times E$) significativas, de tal manera que los genotipos pueden mostrar diferentes niveles de tolerancia dependiendo de las condiciones ambientales (ATKINSON & URWIN, 2012). Así, los genotipos que son tolerantes bajo unas condiciones pueden volverse susceptibles en otras, dificultando la selección de materiales para reforestación.

La presencia de $G \times E$ en la tolerancia complica el desarrollo de estrategias de selección. Ante esto, se pueden considerar dos enfoques distintos: seleccionar genotipos estables que mantengan alta tolerancia en distintos ambientes, o identificar genotipos específicos optimizados para condiciones particulares. Mientras los genotipos estables son más versátiles y presentan menor riesgo frente a escenarios climáticos inciertos, las selecciones específicas pueden maximizar las ganancias genéticas, aunque requieren pronósticos precisos sobre el clima y los factores bióticos (JOHNSON & BURDON, 1990).

De este modo, comprender la interacción entre factores genéticos y ambientales en la tolerancia de estas quercíneas es crucial para diseñar estrategias de mejora genética efectivas. Esto incluye identificar genotipos con tolerancia combinada a sequía y Pc , y evaluar su capacidad para mantener dicha tolerancia bajo condiciones ambientales cambiantes. Tales esfuerzos son fundamentales para abordar las amenazas a la sostenibilidad de las dehesas y garantizar su persistencia frente a los desafíos del cambio climático y las presiones bióticas.

2. Objetivos

En este estudio se evalúan 10.400 plántulas de 90 familias de medios hermanos de *Q. ilex* y 87 de *Q. suber*, recolectadas en ocho y nueve procedencias de toda España respectivamente, bajo tres escenarios que combinaron sequía e infección por Pc . Los objetivos son: i. evaluar las diferencias en tolerancia entre especies bajo los tres escenarios de estrés; ii. examinar la variación geográfica y los factores ambientales asociados al origen de las poblaciones; iii. cuantificar la variación genética aditiva y la heredabilidad de la tolerancia en ambas especies; iv. analizar el impacto de la interacción $G \times E$ en la tolerancia; v. evaluar la plasticidad fenotípica a nivel familiar; vi. determinar la viabilidad de seleccionar genotipos con mayor tolerancia y estabilidad a través de escenarios de estrés. El objetivo último es optimizar las estrategias de mejora genética y selección de materiales forestales de reproducción tolerantes para aumentar la resiliencia de las dehesas frente a los estreses causados por el cambio climático.

3. Metodología

Se realizó un experimento en condiciones de invernadero para explorar la variación inter- e intraespecífica en la tolerancia a diferentes combinaciones de sequía e infección por Pc . En otoño de 2019, se recolectaron bellotas de 7-11 árboles madre asintomáticos y distantes en cada una de nueve poblaciones de *Quercus ilex* y nueve de *Q. suber* de toda España (Figura 1), abarcando una gran amplitud de condiciones climáticas (temperatura media anual: 10,8-17,7 °C; precipitación media anual: 371-871 mm). Las poblaciones pertenecieron a ocho y nueve regiones de procedencia de encina y alcornoque respectivamente. Las bellotas se distribuyeron en tres localizaciones experimentales (Figura 1): Maceda (Tragsa, Ourense), Plasencia (Universidad de Extremadura, Cáceres) y Palos de la Frontera (Universidad de Huelva, Huelva). A mediados de enero de 2020, las



bellotas se sembraron a 1 cm de profundidad en bandejas forestales de 48 alveolos. Cada alveolo tuvo un volumen de 300 cm³ y se llenó con una mezcla de turba (Kekkilä® Professional, granulometría 0-20 mm) y vermiculita (Projar®, grado 2) en proporción 9:1. Se añadieron 1,4 g de fertilizante de liberación gradual en gránulos (Nutricote® T270, NPK 15:9:10) por alveolo. En cada alvéolo se sembró una semilla..

El diseño experimental consistió en bloques completos al azar replicados en cada localización. En Maceda se trabajó con 90 familias de *Q. ilex* y 87 de *Q. suber*, produciendo 6,072 plántulas. En Plasencia y Huelva se incluyeron 73 familias de *Q. ilex* y 70 de *Q. suber*, con 2,139 y 2,120 plántulas, respectivamente. Las plántulas fueron sometidas a distintos escenarios de estrés que combinaron sequía e infección por *Pc*: en Maceda se aplicó solo infección por *Phytophthora cinnamomi* (*Pc*). El 2 de julio de 2020, las plántulas fueron infestadas con una cepa codificada como P90, aislada de la rizosfera de un árbol de *Q. ilex* en Puebla de Guzmán (Huelva), altamente virulenta para *Q. ilex* (SAN-EUFRASIO et al., 2021). Tras la inoculación, las bandejas se inundaron durante tres días para favorecer la infección. Posteriormente, las plantas fueron sometidas a tres episodios adicionales de encharcamiento durante el verano para potenciar el efecto de *Pc*. Fuera de estos cuatro periodos de encharcamiento, las plántulas se regaron periódicamente hasta capacidad de campo para evitar el estrés por sequía. El mismo tratamiento se repitió al año siguiente. En Plasencia se aplicó un escenario combinado de *Pc*+sequía. El 2 de julio de 2020, las plántulas fueron infestadas con la misma cepa de *Pc* y las bandejas se inundaron durante tres días tras la inoculación. Se realizaron tres episodios de encharcamiento durante el verano y, fuera de estos, las plántulas se regaron hasta capacidad de campo solo una vez al mes hasta finales de octubre. El mismo tratamiento se aplicó al año siguiente. En Huelva se implementó un escenario combinado de sequía+*Pc*. El 1 de junio de 2020, se suspendió el riego durante un mes para simular una primavera seca. El 2 de julio de 2020, las plántulas fueron infestadas con la misma cepa de *Pc*. Las bandejas se inundaron durante tres días tras la inoculación y se realizaron tres episodios de encharcamiento durante el verano, siguiendo el mismo protocolo que para el escenario de *Pc*. El mismo tratamiento se aplicó al año siguiente.

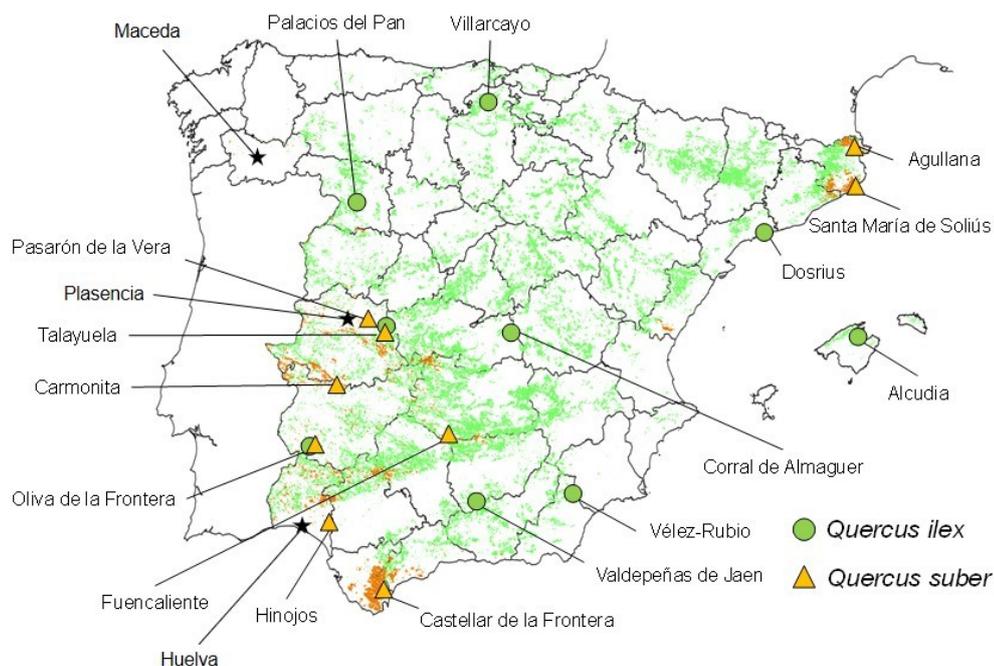


Figura 1. Localización de las nueve poblaciones estudiadas de *Q. ilex* (círculos verdes) y las nueve de *Q. suber* (triángulos naranjas), y las tres localizaciones (estrellas negras) donde los tres escenarios de sequía e infección por *Phytophthora cinnamomi* (*Pc*) fueron aplicados en condiciones de invernadero: Maceda (solo *Pc*), Huelva (sequía+*Pc*) y Plasencia (*Pc*+sequía). Las áreas verdes (*Q. ilex*) y naranjas (*Q. suber*) representan el área de distribución de ambas especies en España en base al IV Inventario Forestal Nacional (IFN4, 2011).

Durante el experimento, se registró semanalmente la mortalidad de las plántulas durante la primera estación de crecimiento y cada dos semanas durante la segunda, y se calculó el tiempo hasta la muerte (número de días de supervivencia). Para confirmar la infección de las plantas, *P. cinnamomi* se aisló con éxito en septiembre de 2021 a partir de raíces finas necróticas y no necróticas en un subconjunto de muestras de cada escenario. El experimento finalizó el 20 de noviembre de 2021.

Se analizaron los datos con SAS 9.4, usando el tiempo hasta la muerte como aproximación de la tolerancia de las plantas debido a su distribución continua y normal, y al alto porcentaje de mortalidad (>80%) tras dos estaciones de crecimiento.

Para evaluar las diferencias en tolerancia entre especies y escenarios, se empleó un modelo mixto lineal que incluyó los efectos fijos de la especie, escenario, bloque, población y sus interacciones, y los efectos aleatorios de la familia y su interacción con el escenario. Se estimaron los componentes de la varianza mediante el método de máxima verosimilitud restringida (REML) y las medias ajustadas con el procedimiento LSMeans. Las comparaciones entre medias se realizaron con el método de Tukey-Kramer. Para evaluar la variación en tolerancia entre poblaciones de *Q. ilex* y *Q. suber*, se utilizaron modelos mixtos individuales para cada especie en todos los escenarios y también en cada escenario individual en base al modelo anterior, pero sin los efectos correspondientes. Se compararon las medias ajustadas poblacionales con el método de Diferencias Mínimas



Cuadradas (LSD). Las medias ajustadas de cada población se correlacionaron con las variables geográficas (latitud, longitud y altitud) y climáticas en el origen de las semillas (T^a media anual (TMA), T^a media del mes más cálido (TMMC), T^a media del mes más frío (TMMF), precipitación media anual (PMA), precipitación media estival (PME) e índice estival calor-precipitación ($[TMMC/(PME/1000)]$). Para dichas correlaciones se aplicó la corrección de Bonferroni para evitar errores de tipo I. Los datos de clima para la serie normal (1961-1990) se generaron con el software ClimateEU v4.63 (MARCHI et al., 2020).

Se estimaron los componentes de la varianza genética aditiva (familiar) y de la interacción familia \times escenario ($G \times E$) con el mismo modelo mixto anterior, y se calculó el peso relativo de cada componente. Se estimaron las heredabilidades individuales en sentido estricto (h_i^2) como el cociente entre la varianza genética aditiva y la varianza fenotípica total, usando un coeficiente de parentesco de 0.27, considerando tasas de autofecundación del 1-3% (ORTEGO et al., 2010). El error estándar de la heredabilidad se estimó con el método Delta (LYNCH & WALSH, 1998). Las correlaciones genéticas entre escenarios se calcularon a partir de los mejores predictores lineales insesgados (BLUPs) a nivel familiar.

Para interpretar el origen de la interacción $G \times E$, se evaluaron dos hipótesis: i. heterogeneidad de varianzas familiares entre escenarios; y ii. existencia de interacciones con cambios de ranking. Estas hipótesis se testaron mediante modelos que restringieron diferentes componentes de la estructura de varianzas-covarianzas familiares, y se compararon con el modelo sin restricciones mediante un test de verosimilitud restringida (ver metodología en YANG, 2002).

Se cuantificaron índices de plasticidad fenotípica para las familias (λ -scores; lo contrario a la estabilidad fenotípica) mediante modelos mixtos, permitiendo diferentes estructuras de varianza-covarianza para modelizar el término de la interacción familia \times escenario (Shukla, Finlay-Wilkinson, Eberhart-Russell y AMMI-1; DENIS et al., 1997; PIEPHO, 1999). Se eligió el mejor modelo utilizando criterios de bondad de ajuste (-2RLL, AIC y BIC). Las correlaciones entre la tolerancia de las familias y su estabilidad a través de escenarios, se realizaron mediante coeficientes de Pearson entre los BLUPs familiares (tanto a nivel de escenario como en el conjunto de los escenarios) y los λ -scores de cada familia.

Los valores de mejora ajustados para las familias de medios hermanos se calcularon como la suma de la media global + el mejor estimador lineal insesgado (BLUE) de la población + dos veces la aptitud general combinatoria de la familia (BLUP familiar). Como prueba de concepto, se estimaron las ganancias genéticas esperadas (ΔG) para una selección del 20% de los progenitores más tolerantes (selección hacia atrás), ya que ésta sería la estrategia recomendada como primer paso de un programa de mejora genética enfocado en la tolerancia de estas especies. También se calculó la relevancia de la interacción familia \times escenario en base únicamente a los progenitores seleccionados para comprobar el incremento de la estabilidad en la población seleccionada.

4. Resultados

El modelo mixto mostró efectos significativos de la especie, el escenario y la interacción especie \times escenario para el tiempo hasta la muerte ($p < 0,001$; Figura 2). Esto evidencia respuestas plásticas divergentes en la tolerancia de *Q. ilex* y *Q. suber* bajo diferentes escenarios de estrés. El escenario combinado Pc +sequía mostró la menor esperanza de vida para las plantas (249 días), sin diferencias significativas entre especies (Figura 2). El escenario Pc mostró la mayor esperanza de vida (351

días), con *Q. suber* sobreviviendo más tiempo que *Q. ilex*, mientras que el escenario sequía+Pc generó una esperanza de vida intermedia (314 días), con *Q. ilex* mostrando significativamente menor longevidad que *Q. suber* (Figura 2).

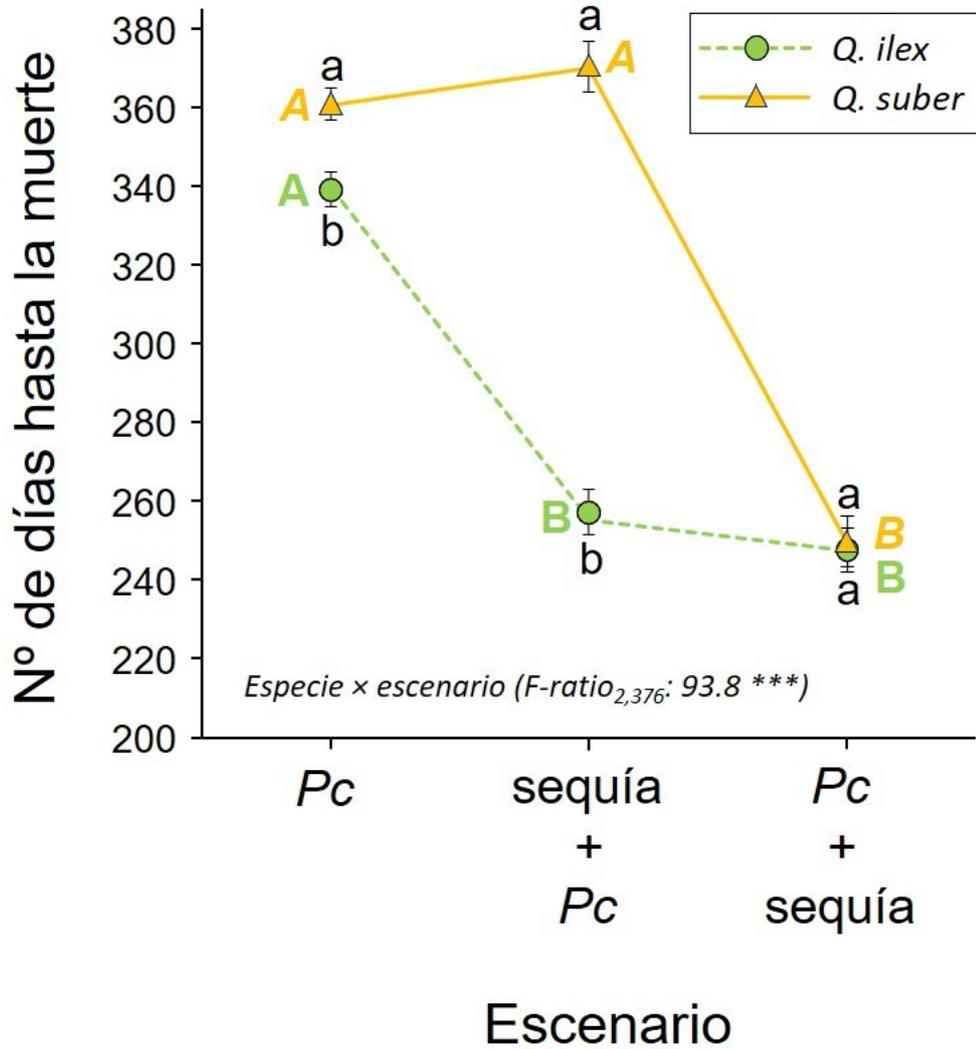


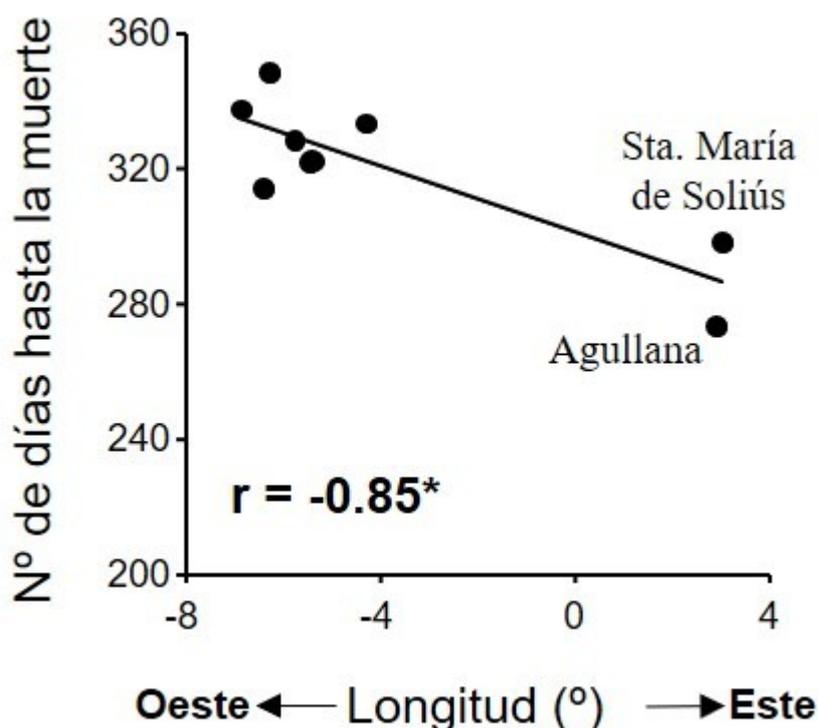
Figura 2. Tiempo hasta la muerte (días) de plántulas de *Q. ilex* (línea discontinua verde) y *Q. suber* (línea continua naranja) bajo tres escenarios de sequía e infección por *Phytophthora cinnamomi* (Pc): Pc, sequía+Pc y Pc+sequía. Los círculos y triángulos representan las LSMeans ± errores estándar. Diferentes letras minúsculas en negro indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre especies dentro de cada escenario. Diferentes letras mayúsculas en verde indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre escenarios para *Q. ilex*. Diferentes letras mayúsculas en cursiva y naranja indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre escenarios para *Q. suber*.

El análisis para las especies individuales a través de escenarios, reveló variación geográfica significativa en la tolerancia para las poblaciones de *Q. suber* ($p < 0,001$), pero no para *Q. ilex* ($p = 0,230$) (Tabla 1). La tolerancia en *Q. suber* estuvo negativamente correlacionada con la longitud geográfica ($r = -0.85$, $p = 0.030$) (Figura 3). Así, las poblaciones occidentales de *Q. suber* (e.g., Carmonita) mostraron mayor



tolerancia, mientras que las poblaciones orientales (e.g., Sta. María de Soliús y Agullana) fueron las menos tolerantes (*Figura 4*). En este análisis incluyendo todos los escenarios, la varianza familiar fue significativa en *Q. ilex* ($\chi^2=0,014$), pero no en *Q. suber* ($\chi^2=0,357$) (*Tabla 1*). La interacción familia \times escenario fue significativa en ambas especies, siendo hasta 1,5 veces mayor que la varianza familiar en *Q. ilex* y 6 veces mayor en *Q. suber*. En consecuencia, las heredabilidades del tiempo hasta la muerte fueron bajas, $0,04 \pm 0,02$ en *Q. ilex* y $0,01 \pm 0,02$ en *Q. suber* (*Tabla 1*). El análisis en los escenarios individuales, indicó variación genética aditiva (familiar) significativa en ambas especies ante los escenarios *Pc* y *Pc+sequía*, pero no ante *sequía+Pc* (*Tabla 2*). Las heredabilidades en *Q. ilex* ante los escenarios *Pc* y *Pc+sequía* fueron $0,11 \pm 0,03$ y $0,12 \pm 0,06$, respectivamente, y en *Q. suber* $0,10 \pm 0,03$ y $0,16 \pm 0,08$, respectivamente (*Tabla 2*).

El modelo de correlaciones familiares perfectas entre escenarios se ajustó significativamente peor que el modelo sin restricciones en ambas especies ($\chi^2=0,042$ para *Q. ilex* y $\chi^2=0,014$ para *Q. suber*), indicando cambios de rankings familiares significativos entre escenarios. Sin embargo, el modelo de homogeneidad de varianzas familiares entre sitios no se ajustó significativamente peor ($\chi^2=0,677$ para *Q. ilex* y $\chi^2=0,638$ para *Q. suber*), no permitiendo rechazar la hipótesis de homogeneidad de varianzas familiares entre escenarios. Así, la interacción familia \times escenario se atribuyó principalmente a cambios en los rankings familiares, y no a diferencias en la varianza familiar entre escenarios. Se observaron correlaciones genéticas significativas en ambas especies entre los dos escenarios que incluyeron sequía (0,33 y 0,34 para *Q. ilex* y *Q. suber* respectivamente; $p < 0,01$), pero no con el escenario *Pc* (0,07 y 0,10 para *Q. ilex* y 0,22 y 0,10 para *Q. suber*; $p > 0,05$).



*Figura 3. Correlaciones entre las medias del tiempo hasta la muerte (días; eje-y) a través de los tres escenarios de sequía e infección por *Phytophthora cinnamomi* para*

nueve poblaciones de *Q. suber* y la longitud (°) de la fuente de semilla (eje-x). Los círculos negros representan las poblaciones. Se muestra el coeficiente de correlación de Pearson (r) y la línea de regresión.

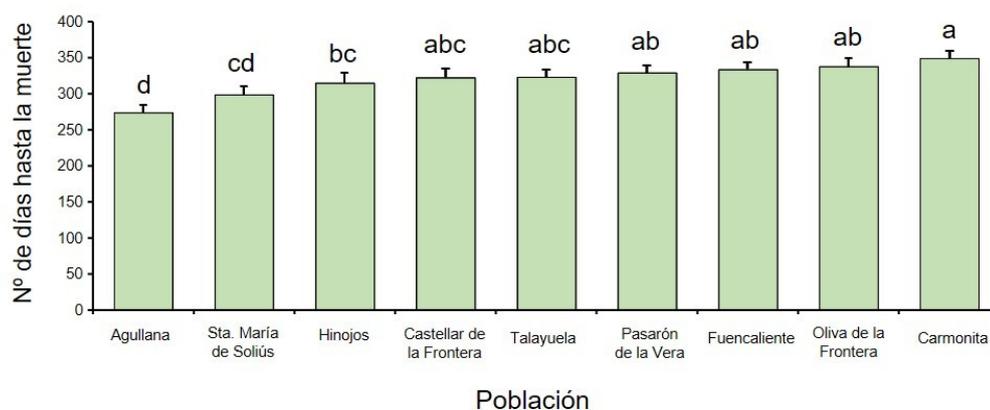


Figura 4. Tiempo hasta la muerte (días) a través de los tres escenarios de sequía e infección por *Phytophthora cinnamomi* para nueve poblaciones de *Q. suber* pertenecientes a nueve regiones de procedencia españolas. Las barras son las LSMeans \pm errores estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tabla 1. Resultados del modelo mixto para el tiempo hasta la muerte (días) a través de los tres escenarios de sequía e infección por *Phytophthora cinnamomi* para *Q. ilex* y *Q. suber*. Para los efectos fijos, se muestran los grados de libertad (GL), el F-ratio asociado al nivel de significación (ns: no significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$). Para los efectos aleatorios, se muestran los componentes de la varianza \pm errores estándar (CV \pm s.e.), el porcentaje de varianza correspondiente (CV %) y los niveles de significación asociados a los componentes de varianza.

Quercus ilex						
Efectos Fijos	GL (GLnum, GLden)	F	-ratio	p	>	F
2,	218,89			<0,001 ***		
8,	1,35			0,230 ns		
78,	3,90			<0,001 ***		
16,	1,41			0,140 ns		
Efectos aleatorios	CV \pm s.e.	CV (%)	p	>	χ^2 (1)	
304,6 \pm 164,5	1,21			0,014 *		
466,2 \pm 194,6	1,86			0,008 **		
24329,0 \pm 471,3	-			-		

Pc + sequía										
	8,	0,90	0,524 ns	8,	4,04					<0,001 ***
	18,	5,23	<0,001 ***	18,	3,43					<0,001 ***
Escenario / Efectos aleatorios	CV ± s.e.	p	> χ^2 (1)	hi ₂	± s.e.	CV ± s.e.	p	> χ^2 (1)	hi ₂	± s.e.
Pc										
	675,6 ± 201,3	<0,001 ***	0,11 ± 0,03	689,8 ± 245,0	<0,001 ***					0,10 ± 0,03
	21367,0 ± 537,3	-	26103,0 ± 716,8							-
sequía + Pc										
	441,6 ± 397,4	0,199 ns	0,06 ± 0,06	332,3 ± 448,1	0,411 ns					0,04 ± 0,05
	26301,0 ± 1140,3	-	31997,0 ± 1522,9							-
Pc + sequía										
	1026,3 ± 526,0	0,011 *	0,12 ± 0,06	1037,7 ± 519,0	0,007 **					0,16 ± 0,08
	30874,0 ± 1317,6	-	23685,0 ± 1145,3							-

(1) Nivel de significación asociado con el valor chi-cuadrado calculado como dos veces la diferencia en el logaritmo de verosimilitud entre el modelo con ese efecto aleatorio incluido y el modelo con el efecto excluido.

El modelo de Eberhart-Russell para la estimación de la plasticidad fenotípica fue el que mostró la mejor bondad de ajuste (-2RLL = 1306,0; AIC = 1596,0; BIC = 1465,3 para *Q. ilex*, y 2RLL = 1341,6; AIC = 1619,3; BIC = 1494,3 para *Q. suber*). En base a este modelo, los índices de plasticidad fenotípica (λ -scores) variaron significativamente entre familias, con un rango de variación de hasta 33 veces en *Q. ilex* y 22 veces en *Q. suber* entre las familias más y menos plásticas. Además, en *Q. ilex*, la plasticidad estuvo negativamente correlacionada con la tolerancia (las familias más tolerantes fueron las más estables) ante los escenarios sequía+Pc y Pc+sequía (Tabla 3), mientras que en *Q. suber* la correlación negativa se produjo únicamente en el escenario Pc+sequía (Tabla 3).

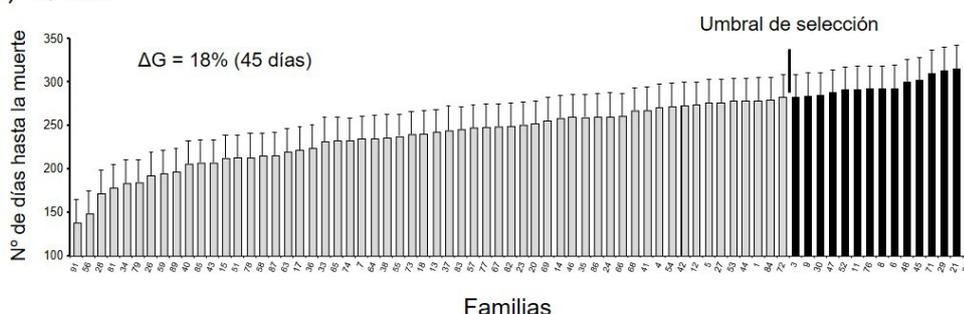
El escenario Pc+sequía fue el único que mostró conjuntamente heredabilidades significativas y correlación positiva entre tolerancia y estabilidad. Ante este escenario, la selección del 20% de las familias más tolerantes permitió una ganancia genética esperada del 18% en tiempo hasta la muerte, lo que implica prolongar 45 días adicionales la longevidad de las plantas (Figura 5). Además, esta selección redujo la importancia relativa de la interacción G×E en *Q. ilex* en un 27%.

Tabla 3. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre los índices de plasticidad fenotípica de las familias (λ -scores), y la tolerancia familiar (BLUPs) estimada tanto

en el conjunto de los escenarios como en cada escenario individual. Las correlaciones significativas y negativas se resaltan en negrita, en cuyo caso las familias con mayor tolerancia son las menos plásticas, es decir, las más estables.

<i>Q. ilex</i>		<i>Q. suber</i>					
Escenarios	r	P-valor	Escenarios	r	P-valor		
Conjunto de escenarios	-0,26	<0,05 *	Conjunto de escenarios	-0,09	>0,05 ns		
Pc	0,57	<0,001 ***	Pc	0,10	>0,05 ns		
sequía + Pc		-0,54	<0,001 ***	sequía + Pc	0,38	<0,001 ***	
Pc	+ sequía	-0,67	<0,001 ***	Pc	+ sequía	-0,66	<0,001 ***

a) *Q. ilex*



b) *Q. suber*

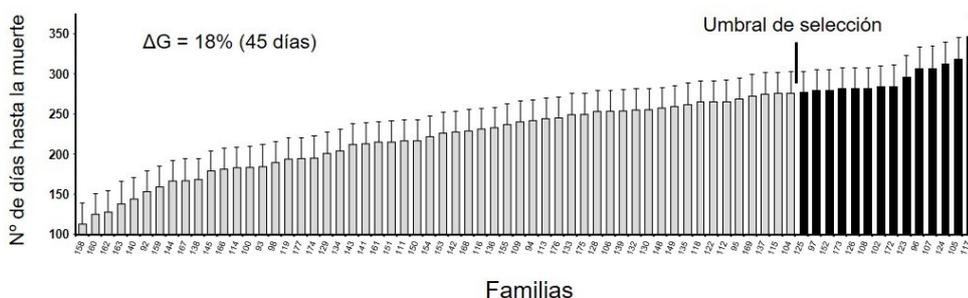


Figura 5. Valores de mejora familiares ajustados del tiempo hasta la muerte (días) de 73 familias de medios hermanos de *Q. ilex* (a) y 70 de *Q. suber* (b) en el escenario de infección por *Phytophthora cinnamomi* + sequía. Una selección del 20% de las familias más tolerantes (barras negras), incluiría 15 familias de encina y 14 de alcornoque con una ganancia genética esperada (ΔG) del 18% en ambas especies después de un ciclo de selección hacia atrás (45 días adicionales hasta la muerte).

5. Discusión

Las dehesas están sufriendo un progresivo decaimiento debido, principalmente, al estrés por sequía y a la infección por el patógeno invasor *Phytophthora cinnamomi* (Pc) (CAMILO-ALVES et al., 2013). Estos dos factores, actuando conjuntamente, explican de manera más completa el deterioro observado en estos ecosistemas que si se consideran de forma independiente (GEA-IZQUIERDO et al., 2021). Ante la falta de métodos efectivos para controlar la enfermedad causada por



Pc, se considera que la plantación de materiales vegetales más tolerantes constituye la solución más viable y sostenible a largo plazo para asegurar la sostenibilidad de las masas en riesgo de decaimiento (MOREIRA et al., 2018; MARTÍNEZ et al., 2023). Sin embargo, las interacciones complejas entre las condiciones ambientales, los hospedadores y el patógeno pueden modificar las respuestas de tolerancia de los árboles (STENLID & OLIVA, 2016), lo que destaca la importancia de investigar la variación genética en esta tolerancia bajo diferentes escenarios de estrés combinado. En este estudio, evaluamos aproximadamente 10.400 plántulas de encina y alcornoque procedentes de 90 y 87 familias de medios hermanos, respectivamente, recolectadas en toda su área de distribución en España. Las plántulas se sometieron a tres escenarios distintos que combinaron sequía e infección por *Pc*. Nuestro objetivo fue esclarecer la base genética de las respuestas plásticas de la tolerancia a la sequía y a *Pc*, para proporcionar estrategias efectivas de mejora genética forestal.

En consonancia con los estudios previos (CAMILO-ALVES et al. 2023; DE LA MATA et al., 2024), los resultados mostraron que *Q. suber* presentó mayor tolerancia a *Pc* que *Q. ilex* bajo condiciones de disponibilidad hídrica. En el escenario de estrés hídrico posterior a la infección, ambas especies experimentaron una reducción significativa en su expectativa de vida, indicando un efecto sinérgico que incrementó la susceptibilidad de los árboles (SAN EUFRASIO et al., 2021). Además, en este escenario no se observaron diferencias significativas entre ambas especies, lo que sugiere que la sequía posterior homogeneizó los niveles de tolerancia (DE LA MATA et al., 2024). En el escenario de sequía antes de la infección, *Q. ilex* mostró mayor susceptibilidad al patógeno, posiblemente debido a un efecto de predisposición causado por el estrés hídrico previo (también mostrado por CORCOBADO et al., 2014). Sin embargo, este efecto no se detectó en *Q. suber* (en consonancia con GONZÁLEZ et al., 2020), lo que refleja diferencias en los mecanismos fisiológicos y genéticos entre ambas especies frente al estrés combinado. Estas respuestas contrastadas destacan la complejidad de las interacciones planta-patógeno bajo condiciones variables de estrés abiótico (ENNOS, 2015) y subrayan la necesidad de estrategias de mejora genética adaptadas a las características particulares de cada especie.

El análisis geográfico reveló diferencias significativas en la tolerancia entre poblaciones de *Q. suber* a lo largo de su área de distribución en España, con un claro gradiente longitudinal este-oeste. Las poblaciones del este (e.g., Cataluña) mostraron una mayor susceptibilidad, mientras que las del oeste presentaron mayor tolerancia. Este patrón de variación geográfica se alinea con estudios previos que han documentado gradientes longitudinales de diferenciación genética y adaptación climática en *Q. suber* (RAMÍREZ-VALIENTE et al., 2014; SAMPAIO et al., 2019). En contraste, *Q. ilex* no mostró variación geográfica significativa en tolerancia, posiblemente debido a un mayor grado de plasticidad fisiológica (GIMENO et al., 2009; SAN-EUFRASIO et al., 2021). La discrepancia con estudios previos que encontraron variación en la susceptibilidad a *Pc* a nivel poblacional podría explicarse por diferencias en el diseño experimental, las cepas del patógeno utilizadas o las poblaciones muestreadas. Los distintos patrones de diferenciación geográfica entre el alcornoque y la encina indican diferencias en sus estrategias evolutivas, a pesar de ser dos especies estrechamente relacionadas.

Nuestros resultados muestran una variación genética aditiva significativa en ambas especies bajo escenarios específicos, especialmente ante *Pc* y *Pc*+sequía, en los cuales las heredabilidades fueron más altas. Estas estimaciones de



heredabilidad indican un control genético relevante en la tolerancia, lo que respalda el potencial de los programas de mejora genética. Sin embargo, no se detectó variación genética aditiva en el escenario donde la sequía precedió a la infección, lo que indica que esta combinación de estreses enmascaró las diferencias genéticas dentro de poblaciones. Además, se identificó una interacción genotipo-ambiente ($G \times E$) significativa en la tolerancia, en línea con resultados anteriores para la supervivencia bajo condiciones de campo en clima mediterráneo en ambas especies (RAMÍREZ-VALIENTE et al., 2021). Esta interacción se caracterizó por su intensidad, lo que redujo las estimaciones de heredabilidad en los análisis con todos los escenarios. La causa principal de la interacción fueron los cambios de ranking familiares entre escenarios. Ésta es una causa relevante, pues puede tener efectos importantes en los procesos de selección (HAMMER & COOPER, 1996), complicando los esfuerzos de mejora genética, ya que los genotipos más tolerantes en un escenario pueden no serlo en otros (ATKINSON & URWIN, 2012). Este resultado resalta la importancia de analizar las respuestas plásticas de la tolerancia (BUSBY et al., 2014; Li et al., 2017) y sugiere que la tolerancia a Pc está influenciada por el contexto ambiental y las interacciones con el estrés por sequía (DUKES et al., 2009).

Ante la complejidad que implica una interacción $G \times E$ relevante, proponemos una estrategia de selección que priorice tanto la tolerancia promedio como la estabilidad de la tolerancia ante distintos ambientes (JOHNSON & BURDON, 1990). Es decir, priorizar familias que exhiban alta tolerancia en la mayoría de escenarios, aunque no sean las más tolerantes en ninguno de ellos. Además, ésta es una opción robusta frente a los desafíos del cambio climático, caracterizado por escenarios de estrés inciertos (LEDIG & KITZMILLER, 1992). Los análisis de estabilidad revelaron una amplia variación familiar en la plasticidad fenotípica, con algunas familias mostrando una tolerancia más estable que otras ante las diferentes condiciones de estrés. A su vez, se identificaron relaciones positivas entre la tolerancia y la estabilidad fenotípica, sugiriendo que ciertas familias fueron capaces de mantener una tolerancia estable y permitiendo la selección de genotipos que combinen alta tolerancia y estabilidad. Sin embargo, esta relación fue dependiente del escenario, y se encontró sólo en los escenarios de sequía seguida de infección y de infección seguida de sequía en *Q. ilex*, y en el de infección seguida de sequía en *Q. suber*. Se resaltan por tanto aquí escenarios especialmente adecuados para identificar y seleccionar genotipos tolerantes al decaimiento y con un comportamiento estable.

En este contexto, el escenario de sequía posterior a la infección emergió como el más adecuado para identificar genotipos tolerantes y estables en ambas especies, ya que combina las heredabilidades más altas con una relación positiva entre tolerancia y estabilidad. Con una intensidad de selección del 20% de los mejores progenitores se podrían lograr ganancias genéticas de hasta un 18% en la tolerancia de ambas especies, lo que equivale a prolongar en 45 días la supervivencia de las plántulas bajo condiciones de estrés combinado. Además, mediante esta estrategia de selección se redujo en un 27% la relevancia de la interacción $G \times E$ en la población seleccionada.

6. Conclusiones

Este estudio destaca la posibilidad de seleccionar familias de *Q. ilex* y *Q. suber* más tolerantes y estables bajo condiciones variables de estrés por sequía e infección por *Phytophthora cinnamomi*, sentando las bases para programas de mejora genética que reduzcan la susceptibilidad de estas quercíneas mediterráneas al decaimiento. El material forestal de reproducción derivado de estas selecciones



podría ser utilizado para restaurar dehesas afectadas, garantizando su resiliencia frente a las condiciones ambientales futuras. Además, incluir la estabilidad como criterio de selección ayudaría a mitigar los efectos negativos de la interacción $G \times E$ y proporcionaría una solución precautoria ante la incertidumbre climática global.

7. **Agradecimientos** Estudio financiado por el MITECO y cofinanciado al 75% con fondos FEADER de la UE. Respaldo por Next Generation EU a través del proyecto 2352999ER003 (Junta de Extremadura; Consejería de Gestión Forestal y Mundo Rural).

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.

ATKINSON, N.J.; URWIN, P.E.; 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *J Exp Bot* 63(10), 3523-3544.

BUSBY, P.E.; NEWCOMBE, G.; DIRZO, R.; WHITHM, T.G.; 2014. Differentiating genetic and environmental drivers of plant-pathogen community interactions. *J Ecol* 102, 1300-1309

CAMILO-ALVES, C.; DA CLARA, M.I.E.; DE ALMEIDA RIBEIRO, N.M.C.; 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.; JUÁREZ, E.; MORENO, G.; SOLLA, A.; 2014. Drought events determine performance of *Quercus ilex* seedlings and increase their susceptibility to *Phytophthora cinnamomi*. *Agr For Meteorol* 192-193, 1-8.

DE LA MATA, R.; CUENCA, B.; LUQUERO, L.; MORENO, G.; SOLLA, A.; 2024. Genetic variation in susceptibility of *Phytophthora cinnamomi*-infected holm oak in the absence or presence of severe drought. *Forestry* cpae045.

DENIS, J.B.; PIEPHO, H.P.; VAN EUWIJK, F.A.; 1997. Modelling expectation and variance for genotype by environment data. *Heredity* 79, 162-171.

DUKES, J.S.; PONTIUS, J.; ORWIG, D.; GARNAS, J.R.; RODGERS, V.L.; BRAZEE, N.; COOKE, B.; THEOHARIDES, K.A.; STANGE, E.E.; HARRINGTON, R.; EHRENFELD, J.; GUREVITCH, J.; LERDAU, M.; STINSON, K.; WICK, R.; AYRES, M.; 2009. Responses of insect pests, pathogens, and invasive plant species to climate change in the forests of northeastern North America: what can we predict? *Can J Forest Res* 39, 231-248.

ENNOS, R.A.; 2015. Resilience of forests to pathogens: an evolutionary ecology perspective. *Forestry* 88, 41-52.

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.

GIMENO, T.E.; PIAS, B.; LEMOS-FILHO, J.P.; VALLADARES, F.; 2009. Plasticity and stress tolerance override local adaptation in the responses of Mediterranean holm oak seedlings to drought and cold. *Tree Physiol* 29, 87-98.

GONZÁLEZ, M.; ROMERO, M.A.; GARCÍA, L.V.; GÓMEZ-APARICIO, L.; SERRANO, M.S.; 2020. Unravelling the role of drought as predisposing factor for *Quercus suber* decline caused by *Phytophthora cinnamomi*. *Eur J Plant Pathol* 156, 1015-1021.

HAMMER, G.L.; COOPER, M.; 1996. Plant adaptation and crop improvement. CAB



International, Wallingford, UK.

IFN4; 2011. Cuarto Inventario Forestal Nacional. Dirección General del Medio Natural y Política Forestal, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino: Madrid, España.

JOHNSON, G.R.; BURDON, E.D.; 1990. Family-site interaction in *Pinus radiata* implications for progeny testing strategy and regionalised breeding in New Zealand. *Silvae Genet* 39(2), 55-62.

LEDIG, F.T.; KITZMILLER, J.H.; 1992. Genetic strategies for reforestation in the face of global climate change. *For Ecol Manag* 50, 153-169.

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 Fenn* 51, 6991.

LI, Y., SUONTAMA; M., BURDON, R.D.; DUNGEY, H.S.; 2017. Genotype by environment interactions in forest tree breeding: review of methodology and perspectives on research and application. *Tree Genet Genomes* 13, 60.

LÓPEZ-BALLESTEROS, A.; RODRÍGUEZ-CABALLERO, E.; MORENO, G.; ESCRIBANO, P.; HERES, A.M.; YUSTE, J.C.; 2023. Topography modulates climate sensitivity of multidecadal trends of holm oak decline. *Glob Change Biol* 29, 6336-6349.

LÓPEZ-SÁNCHEZ, A.; CAPÓ, M.; RODRÍGUEZ-CALCERRADA, J.; PELÁEZ, M.; SOLLA, A.; MARTÍN, J.A.; PEREA, R.; 2022. Exploring the use of solid biofertilisers to mitigate the effects of *Phytophthora* oak root disease. *Forests* 13, 1558.

LYNCH, M.; WALSH, B.; 1998. Genetics and analysis of quantitative traits. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA, EE.UU.

MARCHI, M.; CASTELLANOS-ACUÑA, D.; HAMANN, A.; WANG, T.; RAY, D.; MENZEL, A.; 2020. ClimateEU, scale-free climate normal, historical time series, and future projections for Europe. *Scientific Data* 7, 428.

MARTÍNEZ, M.T.; CUENCA, B.; MOSTEIRO, F.; PIÑEIRO, P.; PÉREZ, F.; SOLLA, A.; CORREDOIRA, E.; 2023. Screening of cork oak for resistance to *Phytophthora cinnamomi* and micropropagation of tolerant seedlings. *Horticulturae* 9, 692.

MOREIRA, A.C.; TAPIAS, R.; FERNANDES, L.; RODRIGUES, A.; 2018. Field susceptibility of cork oak trees with different provenances to *Phytophthora cinnamomi*. *For Pathol* 48, e12461.

OLIVA, J.; STENLID, J.; MARTÍNEZ-VILALTA, J.; 2014. The effect of fungal pathogens on the water and carbon economy of trees: implications for drought-induced mortality. *New Phytol* 203, 1028-1035.

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.

PIEPHO, H.P.; 1999. Stability analysis using the SAS system. *Agron J* 91(1), 154-160.

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 Manag* 257, 1676-1683.



RAMÍREZ-VALIENTE, J.A.; ALÍA, R.; ARANDA, I.; 2014. Geographical variation in growth form traits in *Quercus suber* and its relation to population evolutionary history. *Evol Ecol* 28, 55-68.

RAMÍREZ-VALIENTE, J.A.; LÓPEZ, R.L.; HIPPEL, A.L.; ARANDA, I.; 2020. Correlated evolution of morphology, gas exchange, growth rates and hydraulics as a response to precipitation and temperature regimes in oaks (*Quercus*). *New Phytol* 227, 794-809.

RAMÍREZ-VALIENTE, J.A.; SANTOS DEL BLANCO, L.; ALÍA, R.; ROBLEDOR-ARNUNCIANO, J.J.; CLIMENT, J.; 2021. Adaptation of Mediterranean forest species to climate: Lessons from common garden experiments. *J Ecol* 110, 1022-1042.

REDONDO, M.A.; PÉREZ-SIERRA, A.; ABAD-CAMPOS, P.; TORRES, L.; SOLLA, A.; REIG-ARMIÑANA, J.; GARCÍA-BREIJO, F.; 2015. Histology of *Quercus ilex* roots during infection by *Phytophthora cinnamomi*. *Trees* 29, 1943-1957.

RODRÍGUEZ-ROMERO, M.; CARDILLO, E.; SANTIAGO, R.; PULIDO, F.; 2022. Susceptibility to *Phytophthora cinnamomi* of six holm oak (*Quercus ilex*) provenances: are results under controlled vs. natural conditions consistent? *For Syst* 31, e011.

RUIZ-GÓMEZ, F.; PÉREZ-DE-LUQUE, A.; SÁNCHEZ-CUESTA, R.; QUERO, J.; NAVARRO-CERRILLO, R.M.; 2018. Differences in the response to acute drought and *Phytophthora cinnamomi* Rands infection in *Quercus ilex* L. seedlings. *Forests* 9, 634.

SAMAPAI, T.; GONÇALVES, E.; PATRÍCIO, M.S.; COTA, T.M.; ALMEIDA, M.H.; 2019. Seed origin drives differences in survival and growth traits of cork oak (*Quercus suber* L.) populations. *For Ecol Manag* 448, 267-277.

SAN-EUFRASIO, B.; CASTILLEJO, M.Á.; LABELLA-ORTEGA, M.; RUIZ-GÓMEZ, F.J.; NAVARRO-CERRILLO, R.M.; TIENDA-PARRILLA, M.; JORRÍN-NOVO, J.V.; REY, M.D.; 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.

SNIEZKO, R.A.; KOCH, J.; 2017. Breeding trees resistant to insects and diseases: putting theory into application. *Biol Invasions* 19, 3377-3400.

SOLLA, A.; MORENO, G.; MALEWSKI, T.; JUNG, T.; KLISZ, M.; TKACZYK, M.; SIEBYLA, M.; PÉREZ, A.; CUBERA, E.; HRYNYK, H.; SZULC, W.; RUTKOWSKA, B.; MARTÍN, J.A.; BELBAHRI, L.; OSZAKO, T.; 2021. Phosphite spray for the control of oak decline induced by *Phytophthora* in Europe. *For Ecol Manag* 485, 118938.

STENLID J.; OLIVA J.; 2016. Phenotypic interactions between tree hosts and invasive forest pathogens in the light of globalization and climate change. *Phil Trans R Soc B* 371, 20150455.

WHITE, L.T.; ADAMS, W.T.; NEALE, D.B.; 2007. Forest genetics. Wallingford, UK: CABI.

YANG, R.C.; 2002. Likelihood-based analysis of Genotype-Environment interactions. *Crop Sci* 42, 1434-1440.