



9CFE-1917

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

Organiza





La Biotecnología en los programas de mejora de la encina (*Quercus ilex*)

REY, M.D. (1), TIENDA-PARRILLA, M. (1), RUÍZ-FERNÁNDEZ, A. (1), CASTILLEJO, M.A. (1), MALDONADO-ALCONADA, A.M. (1), Y JORRÍN-NOVO, J.V. (1)

Bioquímica, Proteómica y Biología de Sistemas Vegetal y Agroforestal, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba, UCO-CeiA3, 14014 Córdoba, España

*b52resam@uco.es y *bf1jonoj@uco.es

Resumen

La biotecnología se plantea como una estrategia válida en los programas de mejora de la encina y, por ende, para el uso, manejo y conservación de la dehesa. Dicho objetivo adquiere especial relevancia en este momento, teniendo en cuenta el envejecimiento y la creciente muerte del arbolado asociada a procesos de decaimiento y cambio climático. Por sus propiedades (ciclo de vida largo, alogamia y alta variabilidad fenotípica) y carácter recalcitrante como sistema experimental, la selección de genotipos élite asistida por marcadores moleculares, para su posterior propagación clonal, resulta la aproximación más plausible. Como alternativa biotecnológica también se propone el uso de bioestimulantes que favorezcan el crecimiento, desarrollo y respuesta a estreses. Nuestro grupo ha secuenciado recientemente, y por primera vez, el genoma de la encina, habiendo desarrollado y optimizado, en esta especie, técnicas y protocolos de marcadores de DNA y de análisis de los diferentes niveles -ómicos (genómica, epigenómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica), lo que está permitiendo la identificación de secuencias de DNA, genes y productos génicos asociados a fenotipos de interés, resiliencia y producción. En paralelo, se está evaluando el tratamiento de semillas con bioestimulantes como estrategia de control de la podredumbre radical causada por el oomiceto *Phytophthora cinnamomi* y la tolerancia a sequía. A partir de los análisis -ómicos y su integración con datos morfométricos y fisiológicos, se proponen mecanismos de respuesta a estreses y se identifican genes y productos génicos, tanto en hojas como en raíces, asociados al fenotipo resiliente. Entre ellos se incluyen enzimas de la biosíntesis de fenólicos, proteasas y factores de transcripción. Los genes propuestos están siendo validados funcionalmente utilizando, como sistema experimental, plantas de *Arabidopsis thaliana* y *Nicotiana benthamiana*.

Palabras clave

Quercus ilex, variabilidad genética, síndrome seca, ómicas, marcadores moleculares.

1. Introducción

La encina (*Quercus ilex* subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) es considerada la especie



más emblemática y dominante del bosque mediterráneo y del ecosistema agrosilvopastoral «dehesa» en España y «montado» en Portugal (DE RIEGO Y CAUDULLO, 2016; SCHIRONE ET AL., 2019). Es una de las 469 especies reconocidas dentro del género *Quercus* (IPNI, 2024), cuya aparición se estima 55 millones de años (JIANG ET AL., 2019).

Quercus ilex es una valiosa fuente de productos madereros y no madereros y servicios ecológicos, lo que la convierte en un pilar de la economía de zonas rurales y deprimidas (SCHIRONE ET AL., 2019). Desde las civilizaciones antiguas, ha sido un elemento básico de nuestra subsistencia, cultura y creencias religiosas, fuente de madera para la construcción, navegación, uso como combustible, obtención de alimentos y tratamiento de enfermedades (GARCÍA Y SIESO, 2022). Usado como alimento en épocas de posguerra o hambruna, en la actualidad, existe un renovado interés en su uso alimentario y, en menor medida, industrial (KUMAR ET AL., 2021; GODETO ET AL., 2021; GARCÍA Y SIESO, 2022; TALABI ET AL., 2022), así como para fines medicinales (VINHA ET AL., 2016, 2020).

En España, *Q. ilex* y sus ecosistemas asociados representan un rico patrimonio cultural y natural que debe ser preservado para las generaciones futuras, especialmente teniendo en cuenta los diversos factores que amenazan su conservación y aumentan su vulnerabilidad (PARRA-LÓPEZ ET AL., 2023). En condiciones óptimas, los individuos de *Q. ilex* tienen una vida media que oscila entre los 120 y 470 años (PANAÏOTIS ET AL., 1997). Sin embargo, en la actualidad se observa una creciente muerte del arbolado y una mayor degradación de los ecosistemas asociados, bosques naturales y dehesas. Esta elevada mortalidad se asocia a varios factores antropogénicos (escasa regeneración, con predominio de individuos de mayor edad, incendios, pastoreo) o medioambientales (estreses bióticos y abióticos), estando asociados también a los bajos beneficios económicos que conducen a prácticas silvícolas inadecuadas (OGAYA ET AL., 2020). Los procesos de decaimiento y la muerte de arbolado se asocian, en la actualidad, al oomiceto patógeno *Phytophthora cinnamomi* y las condiciones de sequía severa (BRASIER, 1996; RUIZ-GÓMEZ ET AL., 2018; SAN-EUFRASIO ET AL., 2021A; SERRANO ET AL., 2021). Esta situación podría agravarse en un escenario de cambio climático, aumentando el riesgo de pérdida de estos ecosistemas. Ante esta situación, los responsables de la política forestal y medioambiental, junto con el sector productivo están demandando la implementación de medidas urgentes que garanticen la conservación y explotación sostenible y *Q. ilex*. Estas medidas deben incluir la investigación de la biología de la especie y su aplicación práctica, sentando la base para el uso de la biotecnología.

La aplicación de la biotecnología para gestionar los estreses tanto bióticos como abióticos ha revolucionado la agricultura moderna al proporcionar soluciones más precisas, eficientes y sostenibles (PANDOLFI ET AL., 2017). Dado que la biotecnología se basa en el conocimiento científico, es fundamental priorizar la investigación básica para abordar los desafíos a los que se enfrentan *Q. ilex* y los ecosistemas asociados. Entre las alternativas biotecnológicas disponibles, la explotación de la variabilidad natural y la selección de genotipos élite o plus asistida por marcadores moleculares para su posterior propagación clonal, se



presenta como la más plausible, realista y prometedora para esta especie. Esta aproximación permite identificar y propagar aquellos individuos con mayores tasas de germinación y producción de bellotas, con rasgos de calidad deseables relacionados con valores nutricionales y nutraceuticos, así como con notable resiliencia a estreses bióticos y abióticos. En este contexto, resulta esencial destacar los estudios moleculares que permitan comprender la notable biodiversidad de esta especie, así como sus mecanismos de respuesta y resiliencia frente a condiciones ambientales adversas. Este enfoque debe alinearse con el flujo de información genética descrito a través del Dogma Central de la Biología Molecular y la ecuación genética fundamental: fenotipo = genotipo + epigenética + ambiente. Cabe destacar que la investigación sobre los aspectos moleculares de *Q. ilex* ha aumentado significativamente en los últimos años (revisado en MALDONADO-ALCONADA ET AL., 2022). Para avanzar en esta área, se pueden proponer tres estrategias biotecnológicas principales: los programas de mejora genética, el control biológico y el uso de bioestimulantes. De éstas, los programas de mejora genética y el uso de bioestimulantes constituyen los objetivos centrales de nuestras investigaciones y del presente artículo.

2. Objetivos

El grupo de investigación “Bioquímica, Proteómica y Biología de Sistemas Vegetal y Agroforestal” liderado por el Prof. Jesús V. Jorrín Novo en la Universidad de Córdoba ha centrado su actividad desde 2004, en el estudio de la biología molecular de *Q. ilex*. Basándose en el Dogma Central de la Biología Molecular, el objetivo principal del grupo es desentrañar las bases moleculares de fenotipos resilientes para su aplicación en programas de mejora. Durante los primeros 15 años de esta línea de investigación, se han logrado avances significativos. Éstos incluyen la optimización de metodologías para identificar y caracterizar individuos elite con alta resiliencia a condiciones ambientales adversas, una elevada productividad y la capacidad de sintetizar compuestos nutraceuticos y bioactivos en sus bellotas. Entre los logros más destacados del grupo cabe citar el estudio exhaustivo de las respuestas fisiológicas y moleculares de plántulas de encina a estreses específicos, como la sequía y la infección por *P. cinnamomi*, de manera tanto individual como combinada (VALERO-GALVÁN ET AL., 2013; SGHAIER-HAMMAMI ET AL., 2013; SAN-EUFRASIO ET AL., 2021A; HERNÁNDEZ-LAO ET AL., 2024A), investigaciones sobre la naturaleza recalcitrante de las semillas de *Q. ilex* (SGAHER-HAMMAMI ET AL., 2020) y el perfil nutricional y nutraceutico de la bellota (LÓPEZ-HIDALGO ET AL., 2021).

Asimismo, el avance en las tecnologías moleculares ha permitido al grupo diversificar sus líneas de investigación hacia áreas emergentes como la genómica (REY ET AL., 2023) y la epigenómica (LABELLA-ORTEGA ET AL., 2024). La identificación de las regiones codificantes del genoma es un paso esencial para comprender aspectos fundamentales de la biología de *Q. ilex* e interacciones con el medio ambiente, así como para desarrollar las herramientas que permitan dar soluciones a los problemas actuales que afectan esta especie. Con la disponibilidad del genoma de *Q. ilex* (REY ET AL., 2023), se están validando los datos ómicos previamente generados a nivel transcriptómico, proteómico y metabolómico. Paralelamente, se están desarrollando e implementando nuevas aproximaciones metodológicas, como el análisis de variantes alélicas y el estudio de marcas de



metilación del DNA utilizando técnicas de secuenciación masiva de última generación. Estas investigaciones tienen como objetivo no solo caracterizar la diversidad genética y epigenética de la especie, sino también explorar su impacto en la regulación de la expresión génica y su relación con las respuestas adaptativas frente a estreses bióticos y abióticos, aportando así información clave para la conservación y mejora genética de esta especie forestal.

Los proyectos en curso persiguen tres objetivos específicos:

- Identificar y validar genes y productos génicos para su uso en la selección de genotipos élite resistentes a condiciones ambientales adversas, en concreto de aquellos de mayor incidencia en el síndrome de la seca y condiciones de cambio climático, sequía y *P. cinnamomi*.
- Evaluar el papel/eficacia de los bioestimulantes (BTH y MeJA) como activadores del crecimiento y las respuestas de defensa contra el estrés biótico y abiótico, y llevar a cabo la caracterización de sus mecanismos de acción a nivel fisiológico, bioquímico y molecular.
- Caracterizar el perfil fitoquímico de bellotas dulces y amargas, con el desarrollo de técnicas para su uso en trazabilidad y la identificación de compuestos bioactivos y posibles compuestos tóxicos, como es el caso de alérgenos.

El flujo de trabajo de estos proyectos abarca diversas etapas, comenzando con la prospección, especialmente en áreas afectadas por el síndrome de la seca en Andalucía y Extremadura. Esta fase incluye el muestreo de bellotas, hojas y polen, seguido de la germinación de las bellotas y el desarrollo de las plántulas en condiciones controladas (SAN-EUFRASIO ET AL., 2020,; 2021A). Posteriormente, se someten las plántulas a tratamientos de estrés, que incluyen sequía severa y/o la presencia de *P. cinnamomi*. y se llevan a cabo análisis que comprenden desde evaluaciones morfológicas (crecimiento, síntomas de daño y mortalidad de las plántulas), fisiológicas (régimen hídrico y fotosíntesis) y moleculares. Para estos análisis se emplean tanto técnicas de bioquímica clásica como enfoques avanzados basados en tecnologías ómicas, que abarcan desde la genómica epigenómica, la transcriptómica y la proteómica hasta la metabolómica.

En la actualidad, dos proyectos de investigación financian los objetivos previamente propuestos: 1) Caracterización de genes de encina implicados en la respuesta a estreses y activación de mecanismos de defensa para su uso en mejora frente a la seca y cambio climático (Encinómica-3). Programa Estatal de I+D+i Orientada a los Retos de la Sociedad. Convocatoria 2022. Ministerio de Economía y Competitividad; y 2) Mejora de la encina (*Quercus ilex*) y selección de genotipos élitres resilientes a la seca, cambio climático y para su uso en alimentación humana, asistida por técnicas de genómica y metabolómica. Ayudas a proyectos de excelencia en el ámbito del Plan Andaluz de Investigación, Desarrollo e Innovación (PAIDI). Convocatoria 2021. Junta de Andalucía. Ambos proyectos se han complementado con un contrato al amparo del Artículo 83 “Desarrollo de marcadores moleculares de respuesta y resistencia/tolerancia a *Phytophthora cinnamomi* en *Quercus ilex* y *Q. suber* a partir de aproximaciones ómicas (Referencia: TSA0069754) el cual es incluido en el “Programa nacional de mejora y



conservación de los recursos genéticos de la encina y el alcornoque contra el síndrome de decaimiento. Subgrupo 2, "Mejora genética y fisiológica". 2020-2023. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (Área de Recursos Genéticos Forestales - Subdirección General de Política Forestal)".

Además, es importante destacar las colaboraciones iniciadas con el sector productivo, enfocadas, principalmente a la catalogación de genotipos y a la caracterización del perfil fitoquímico de la bellota. Estos estudios tienen como objetivo promover su aprovechamiento en la producción de harina, empleada en la elaboración de productos como pan, galletas y bebida vegetal a base de bellota.

A continuación, se expondrán los trabajos desarrollados por el grupo de investigación, destacando las publicaciones científicas vinculadas a cada uno de los objetivos principales que actualmente están en curso. Asimismo, se señalarán los próximos desafíos que se plantean en estas líneas de investigación, junto con las conclusiones más relevantes obtenidas hasta el momento.

3. Programas de mejora basados en la selección de genotipos elite asistidos por marcadores moleculares

Hace casi 25 años, nuestro grupo inició la caracterización de la diversidad fenotípica de *Q. ilex*, integrando análisis moleculares mediante aproximaciones ómicas (transcriptómica, proteómica y metabolómica) con estudios morfológicos, bioquímicos, y ecofisiológicos (revisado en MALDONADO-ALCONADA ET AL., 2022). El desarrollo e implantación de metodologías y protocolos efectivos para experimentos tanto *in silico* como en el laboratorio ha representado un desafío considerable dada la gran variabilidad biológica observada en esta especie forestal que abarca desde los individuos hasta las poblaciones (VALERO-GALVÁN ET AL., 2009; SAN-EUFRASIO ET AL., 2020, 2021A; LÓPEZ-HIDALGO ET AL., 2021). Nuestro grupo ha constatado la existencia de dicha variabilidad en respuesta a estreses bióticos y abióticos (VALERO-GALVÁN ET AL., 2009; SAN-EUFRASIO ET AL., 2020, 2021A) y tanto en la morfometría como en la composición química de la bellota (LÓPEZ-HIDALGO ET AL., 2021). Los resultados obtenidos han contribuido de manera significativa para avanzar en la comprensión de la biología molecular de *Q. ilex*.

En proyectos anteriores realizados por nuestro grupo, se han identificado individuos sanos (asintomáticos) en zonas afectadas por el decaimiento o focos de seca (SAN-EUFRASIO ET AL., 2021A). Estos individuos podrían considerarse como individuos escape o genotipos elite. La respuesta a estreses en estos individuos se ha caracterizado parcialmente a nivel morfológico, fisiológico, de bioquímica clásica, de marcadores de DNA y -ómicos (JORGE ET AL., 2006; ECHEVARRÍA-ZOMEÑO ET AL., 2009, 2012; VALERO-GALVÁN ET AL., 2013; SGHAIER-HAMMAMI ET AL., 2023; SIMOVA-STOILOVA ET AL., 2015, 2018; FERNÁNDEZ I MARTI ET AL., 2018; LÓPEZ-HIDALGO ET AL., 2018; 2021; ROMERO-RODRÍGUEZ ET AL., 2019; GUERRERO-SÁNCHEZ ET AL., 2021; SAN-EUFRASIO ET AL., 2021A, 2021B; TIENDA-PARRILLA ET AL., 2022; ESCANDÓN ET AL., 2022).

La integración de los resultados obtenidos en los análisis multi-ómicos con los datos morfológicos y fisiológicos, en un marco de Biología de Sistemas, y su comparación con estudios equivalentes en otras especies de *Quercus*, ha permitido identificar genes candidatos como marcadores moleculares relacionados con la adaptación a ambientes adversos, específicamente asociados al síndrome de la seca y al cambio climático. Este enfoque ha dado lugar a un panel de 25 genes candidatos para la selección de genotipos de élite, que incluyen: *glucose-6-phosphate isomerase*, *α -1,4-glucan-protein synthase [UDP-forming]*, *phenylalanine ammonia-lyase*, *cinnamyl alcohol dehydrogenase*, *chalcone synthase*, *anthocyanidin reductase*, *anthocyanidin synthase*, *feruloyl CoA ortho-hydroxylase*, *glutathione reductase*, *thioredoxin reductase*, *peroxiredoxin*, *aldehyde dehydrogenase*, *glyoxalase I*, *formate dehydrogenase*, *subtilisin*, *ATP-dependent zinc metalloprotease FTHS6*, *glycine-rich RNA-binding protein*, *agglutinin isoform*, *chaperones*, *heat shock proteins and transcription factors WRKY* y *MYB*. Estos genes están implicados en funciones clave relacionadas con el metabolismo de carbohidratos y fenilpropanoides, siendo los compuestos fenólicos particularmente relevantes debido a su papel en las respuestas al estrés (DEHGHANIAN ET AL., 2022). Entre los genes identificados como marcadores, destacan aquellos que codifican enzimas que detoxifican especies reactivas de oxígeno y a proteasas, habiéndose descrito que ambas desempeñan un papel esencial en la respuesta, resistencia y tolerancia a estreses bióticos y abióticos (PELÁEZ-VICO ET AL., 2022; HOU ET AL., 2018; D'IPPOLITO ET AL., 2021). El déficit hídrico provoca alteraciones metabólicas que afectan a productos génicos esenciales en procesos como la detoxificación (glioxalato, formiato y carbonilos), así como en la regulación de la transcripción, traducción y degradación de proteínas relacionadas con el estrés, incluyendo chaperonas y proteínas de choque térmico. Además, se identificaron genes asociados con la unión a carbohidratos y factores de transcripción de las familias WRKY y MYB, que son determinantes en las respuestas de resistencia. En consecuencia, estos marcadores presentan un gran potencial para la identificación y selección de genotipos élite.

Estos resultados se basan de experimentos realizados con plántulas de *Q. ilex* tanto en condiciones controladas en invernadero como en condiciones naturales. Hasta la fecha, la elaboración de perfiles moleculares llevado a cabo por el grupo se ha centrado en las hojas, dado que son más accesibles que las raíces, lo que facilita visualizar la progresión de los síntomas y los cambios fisiológicos causados por los estreses bióticos y abióticos. Sin embargo, la investigación en curso tiene como objetivo dilucidar las estrategias de defensa de *Q. ilex* contra *P. cinnamomi* a nivel de la raíz, que en la actualidad permanece en gran parte inexplorada.

En la actualidad, estamos desarrollando protocolos para validar estos genes candidatos mediante el uso de aproximaciones dirigidas (variantes alélicas, precipitación por afinidad de oligo cromatina-PCR (Chop-PCR), PCR cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR) y cuantificación proteotípica de péptidos), así como análisis genómicos funcionales en sistemas modelo, concretamente *Arabidopsis thaliana* y *Nicotiana benthamiana*. La reciente secuenciación del genoma de *Q. ilex* (REY ET AL., 2023) abre nuevas posibilidades para explorar genes candidatos, facilitando la identificación y caracterización estructural detallada de los miembros de distintas



familias génica. Este avance proporciona una base sólida para estudiar las relaciones evolutivas, la funcionalidad de cada gen dentro de la familia y su potencial implicación en procesos biológicos clave de la especie. Además, estamos evaluando los niveles de expresión de estos genes candidatos en *Q. ilex* mediante RT-qPCR, analizando su respuesta a la inoculación con *P. cinnamomi* y/o a condiciones de sequía. Este análisis es necesario para determinar si los niveles de expresión se correlacionan con la respuesta a ambos estreses. Además de los niveles de expresión, se está trabajando en la identificación de variantes alélicas de dichos genes, así como en la modificación de la expresión génica mediada por marcas de metilación en el DNA que podrían modificar su expresión.

Sin embargo, antes de que estos genes candidatos puedan ser confirmados como marcadores moleculares, deben someterse a una validación funcional. Aunque la genómica directa e inversa serían los métodos preferidos, éstos son inviables en *Q. ilex* debido a su largo ciclo de vida y a la falta de recursos genéticos para la transformación y regeneración. Por lo tanto, el uso de plantas modelo como *Arabidopsis thaliana* o *Nicotiana benthamiana* es la única alternativa viable (GOODING ET AL., 2008) para llevar a cabo la validación funcional heteróloga de estos genes candidatos. Este enfoque ya ha sido aplicado con éxito en *Q. suber* para analizar genes implicados en la respuesta a la sequía (MAGALHÃES ET AL., 2016), y representa una estrategia viable para avanzar en la caracterización funcional de los genes candidatos en *Q. ilex*.

Actualmente, estamos llevando a cabo la validación de las familia génica de la subtilisina y de la chalcona sintasa (datos no publicados). Miembros de ambas familias fueron descritos como potenciales marcadores moleculares de respuesta a estrés por ser más abundantes en condiciones de estrés por sequía y/o en presencia de *P. cinnamomi* (SAN-EUFRASIO ET AL., 2021B; TIENDA-PARRILLA ET AL., 2022; HERNÁNDEZ-LAO ET AL., 2024A). Investigaciones relacionados también describen la implicación de estos genes en la respuesta a ambos tipos de estreses (LAWTON ET AL., 1983; MORCILLO ET AL., 2022; BACKER ET AL., 2022). De manera preliminar, se han identificado tres genes que codifican para la enzima chalcona sintasa (*QiCHS*), designados como *QiCHS1*, *QiCHS2* y *QiCHS3* (gene-35048, gene-4771 y gene-20556, respectivamente). Asimismo, se han identificado 79 genes que codifican para subtilisinas (*QiSBT*). A partir de datos multiómicos (transcriptómicos y proteómicos), hemos evaluado la expresión de los genes *QiCHS* y *QiSBT* en plántulas de *Q. ilex* de seis meses de edad, sometidas a condiciones de estrés individual (sequía o *P. cinnamomi*) y combinado (sequía y *P. cinnamomi*). La expresión de los genes *QiCHS* y *QiSBT* ha mostrado diferencias significativas en respuesta a los estreses evaluados. Una vez caracterizadas las familias génicas y evaluado el perfil multiómico, el paso final es la validación funcional de los genes *QiCHS* y *QiSBT*, la cual se está llevando a cabo actualmente en el laboratorio.

4. Papel de los bioestimulantes como activadores del crecimiento y las respuestas de defensa contra el estrés biótico y abiótico

El uso de bioestimulantes se ha consolidado como estrategia biotecnológica de probada eficacia para el manejo y protección de cultivos y su aplicación se está trasladando al sector forestal (SANTACRUZ GARCÍA ET AL., 2022). Dentro del grupo



de bioestimulantes se incluyen sustancias de origen natural o sintéticos, así como microorganismos que mejoran el crecimiento y producción de las plantas, incrementando la resistencia y tolerancia a estreses bióticos y abióticos. Estos compuestos activan procesos fisiológicos y moleculares relacionados con la nutrición, metabolismo y reacciones de defensa. En este contexto, nuestro grupo ha iniciado recientemente una línea de investigación dirigida al uso de dichos bioestimulantes, en concreto dos compuestos, el análogo funcional del ácido salicílico BTH y la hormona metiljasmonato (PRATS ET AL., 2002; MISHRA ET AL., 2024; HO ET AL., 2020).

Se han llevado a cabo ensayos de tratamientos de semillas con BTH y MeJA a diferentes dosis, evaluándose la germinación de semillas y el crecimiento de las plántulas, así como su respuesta a la inoculación con *P. cinnamomi*. Los resultados obtenidos variaron en función de la concentración de bioestimulante y del genotipo empleado. En algunos genotipos se observó un efecto dual: una estimulación del crecimiento a bajas concentraciones de BTH y MeJA, y un efecto tóxico a altas concentraciones de estos bioestimulantes. El tratamiento a concentraciones bajas redujo los daños causados por el patógeno y la tasa de supervivencia, lo que se asoció a la activación de las reacciones de defensa, tal y como se deduce del análisis proteómico (LUNA DEL ROSAL, 2021; 2022; CASTILLEJO ET AL., 2022A, 2022B; ORTEGA-GARCÍA, 2024). Los análisis fisiológicos y moleculares se están implementando con las observaciones microscópicas del proceso de infección. De los resultados obtenidos podemos concluir que el tratamiento con los bioestimulantes inducen la deposición de callosa, el engrosamiento de la pared celular, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), la acumulación de compuestos fenólicos y la muerte celular programada (PCD).

5. Uso alimentario de la bellota: Técnicas para la trazabilidad e identificación de compuestos bioactivos en productos derivados

La bellota, fruto de *Q. ilex*, se utiliza principalmente como alimento para ganado porcino. Sin embargo, una parte importante de la producción, asociada a zonas donde no hay explotación ganadera, no se aprovecha más allá de su consumo por animales salvajes. Su inclusión en la alimentación humana o industria daría, sin lugar a duda, valor añadido a la especie, convirtiéndose en un recurso económico para determinadas zonas rurales. Con el aumento de la población y la preocupación por una alimentación saludable, existe un interés en la búsqueda activa de fuentes de alimento vegetal alternativas a los cultivos tradicionales. Esto, unido al probado valor nutricional de la bellota, ha despertado un renovado interés por su uso alimentario, bien como fruto seco o como harina y derivados dando paso a una «una nueva era» en el uso de la encina (VINHA ET AL., 2020). A su uso alimentario habría que añadir su posible uso industrial, destacando la del almidón, aceites y cosméticos, y curtido de pieles (VINHA ET AL., 2016). Para que estos usos sean viables, es imprescindible caracterizar previamente la bellota desde un punto de visto fitoquímico, de trazabilidad y seguridad alimentaria, empleando, para ello, diferentes técnicas analíticas y moleculares. Nuestro objetivo es identificar compuestos de valor nutricional y nutraceutico, así como otros de carácter tóxico y alérgenos. Para ello, empleamos, la tecnología NIRS (espectroscopia del infrarrojo cercano), métodos colorimétricos (aminoácidos,

almidón, azúcares, fenólicos, flavonoides, taninos, capacidad antioxidante), cuantificación de nutrientes elementales (Ca, Mg, K, Na, P, Fe, Zn, Mn y Cu) y metabolómica no dirigida basada en espectrometría de masas.

En términos generales, el componente mayoritario de la bellota es el almidón, seguido de azúcares, proteínas, ácidos grasos y polifenoles (VINHA ET AL., 2016, 2020; LÓPEZ-HIDALGO ET AL., 2021). La harina de bellota destaca por su alto contenido en grasas saludables, en particular monoinsaturadas y poliinsaturadas (ácidos oleico y linoleico), y un alto contenido en minerales, en particular K, P, Fe y Mn. Los compuestos fenólicos (flavonoides y taninos) se consideran los principales compuestos bioactivos de los frutos de bellota (RAKIĆ ET AL., 2007; TEJERINA ET AL., 2011; LÓPEZ-HIDALGO ET AL., 2021), identificándose como compuestos de interés los siguientes: catequina, ácido elágico, ácido gálico, trans-carveol, siringina y ácido sirínico. El análisis global de estos datos permite concluir que la bellota tiene un alto valor nutricional y nutracéutico, asociado a diversas actividades biológicas, como la antitumoral, y antiinflamatoria (OSTERTAG ET AL., 2011; HELENO ET AL., 2015). Además, utilizando una estrategia de proteómica y peptidómica en combinación con técnicas computacionales, se han identificado tres péptidos con potencial bioactividad en harina de bellota. En concreto dichos péptidos mostraron una alta afinidad por dianas moleculares relacionadas con actividades antihipertensivas, antidiabéticas, antiproliferativas y antiinflamatorias (HERNÁNDEZ-LAO, 2024B).

A su vez, como alimento destinado al consumo humano, es esencial considerar también el contenido en alérgenos, ya que los frutos secos se encuentran entre los principales alimentos alergénicos en el ámbito médico. En esta línea, nuestro grupo, en colaboración con un equipo de alergias del Hospital de La Paz (IdiPAZ, Madrid) ha descrito la presencia de alérgenos pertenecientes a las familias Bet v 1, profilina, prolamina, Hsp70 y ciclofilina en bellota de *Q. ilex* (HERNÁNDEZ-LAO ET AL., 2025).

La metodología previamente descrita nos ha permitido caracterizar y comparar la composición química de diferentes productos derivados de la bellota. En particular, hemos caracterizado y comparado la harina y la bebida vegetal a base de bellota suministradas por la empresa AcornRevel (datos no publicados). Los resultados mostraron que los valores de fibra, digestibilidad y energía fueron mayores en la bebida que en la harina de bellota. Ambos productos presentaron un perfil fitoquímico similar, aunque con algunas diferencias destacables: la harina presenta un mayor contenido en almidón y taninos, mientras que la bebida mostró mayores valores en compuestos fenólicos. Ambos productos presentaron similar contenido de nutrientes. En cuanto al perfil molecular, se identificaron un total de 877 compuestos, de los que solo 100 (11%) mostraron diferencias estadísticamente significativas entre muestras de harina y bebida, siendo 6 específicos de harina y 64 de bebida. Dichos compuestos pertenecían a diferentes familias químicas, incluyendo lípidos y derivados, ácidos carboxílicos, compuestos orgánicos oxigenados, benzenoides, fenilpropanoides, compuestos heterocíclicos y terpenoides. La bebida de bellota presentó compuestos con actividad biológica tales como, la jervina, el ácido D-galacturónico y la cinarina, lo que sugiere que



puede ser considerada como un alimento saludable, de valor nutricional y nutraceutico, relevante en condiciones como la celiaquía y con notable potencial antioxidante.

Actualmente, estas técnicas se están aplicando para caracterizar bellotas y sus productos derivados, en colaboración con empresas del sector, como el vivero de bellota dulce “Balano Tree” (<http://balanotrees.org/es/>), QuercusReal/Encinas Injertadas, y los viveros forestales de la Junta de Extremadura (<http://extremambiente.juntaex.es/>).

6. Conclusiones

En las últimas cuatro décadas, se ha registrado un alarmante incremento en la mortalidad de los individuos de *Q. ilex*, lo que ha acelerado de manera significativa la degradación de los bosques mediterráneos y de ecosistemas asociados, como la dehesa. Entre las principales causas de esta mortalidad se encuentran el patógeno *P. cinnamomi*, así como episodios de sequía prolongada y temperaturas extremas, factores cuya incidencia se prevé que se agraven en el contexto de cambio climático. Paralelamente, ha resurgido un interés creciente por el aprovechamiento alimentario de la bellota, destacando la importancia de sus propiedades organolépticas, así como su valor nutricional y potencial nutraceutico. Dada la relevancia histórica, ambiental, económica y social de *Q. ilex* y de sus ecosistemas asociados, existe una preocupación creciente, expresada por gestores ambientales, conservacionistas y actores clave del sector productivo, que subrayan la necesidad urgente de implementar estrategias de conservación y prácticas de gestión efectivas para mitigar la mortalidad de los árboles y salvaguardar estos ecosistemas esenciales. En este escenario, la biotecnología ofrece un gran potencial para afrontar estos retos, sobre todo mediante programas de mejora genética y la aplicación de bioestimulantes. Entre las estrategias más prometedoras se encuentra la selección de genotipos de élite facilitada por marcadores moleculares.

Nuestro grupo de investigación ha iniciado una línea de estudio centrada en la identificación de genes y productos génicos asociados a fenotipos clave que destacan por su resiliencia frente a condiciones ambientales adversas y por sus elevadas propiedades nutricionales y nutraceuticas. Además, hemos iniciado otra línea de investigación centrada en el uso de bioestimulantes (BTH y MeJA) con el objetivo de dilucidar su modo de acción y los mecanismos de activación de defensas empleando técnicas avanzadas de microscopía y abordajes ómicos (transcriptómica, proteómica y metabolómica). Estos esfuerzos están dirigidos a validar funcionalmente los genes identificados para proponerlos como marcadores moleculares relacionados con la respuesta al síndrome de la seca y al cambio climático, así como al perfil nutricional de la bellota. Sin embargo, este campo enfrenta importantes limitaciones, como la necesidad de ampliar el número de individuos en estudios ómicos y variantes alélicas para obtener conclusiones más robustas, y la validación funcional de genes candidatos en sistemas modelo, que sigue siendo un desafío significativo. Además, las características recalcitrantes de *Q. ilex* y la falta de protocolos para su transformación genética y regeneración representan barreras críticas que deben superarse para avanzar hacia la



implementación de estrategias de propagación clonal y mejora genética en esta especie.

7. Agradecimientos

Esta línea de investigación ha sido financiada por los siguientes proyectos: Ayuda ENCINOMICS-3 PID2022-141599OB-I00 financiada por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por “FEDER/UE”, “ProyExcel_00881” de la Consejería de Transformación Económica, Industria, Conocimiento y Universidades de la Junta de Andalucía y un contrato al amparo del Artículo 83 “Desarrollo de marcadores moleculares de respuesta y resistencia/tolerancia a *Phytophthora cinnamomi* en *Quercus ilex* y *Q. suber* a partir de aproximaciones ómicas (Referencia: TSA0069754). M.T.P y A.R.H agradecen la concesión de los contratos Formación del Profesorado Universitario (FPU21/02298 financiada por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y FSE+) y Formación del Profesorado Investigador (PRE2023/PID2022-141599OB-100), respectivamente.

8. Bibliografía

BACKER, R., ENGELBRECHT, J., & VAN DEN BERG, N. (2022). Differing responses to *Phytophthora cinnamomi* infection in susceptible and partially resistant *Persea americana* (Mill.) Rootstocks: A case for the role of receptor-like kinases and apoplastic proteases. *Front. plant sci*, 1-29.

BRASIER, C. M. (1996). *Phytophthora cinnamomi* and oak decline in southern Europe. Environmental constraints including climate change. In *Annales des sciences forestières*. EDPS, 347-358.

CASTILLEJO ET AL. JORRÍN-NOVO, J. V. (2022a). *Quercus ilex* research across the central dogma and its translation to management and breeding programs. Keynote. XVI Meeting of Plant Molecular Biology, 14-16 September, Seville, Spain.

CASTILLEJO ET AL. JORRÍN-NOVO, J. V. (2022b). The benefits of the treatment of Holm oak (*Quercus ilex* L.) seeds with the biostimulants BTH and Methyl-jasmonate in the response to stresses related to the Decline Syndrome: preliminary experiments. Oral Communication. Biostimulants Europe 2022, 30 November-01 December, Seville, Spain.

D'IPPOLITO S., REY-BURUSCO M.F., FEINGOLD S.E., GUEVARA M.G. (2021) Role of proteases in the response of plants to drought. *Plant Physiol. Biochem.*, 1-9.

DE RIGO, D., CAUDULLO, G. (2016). European Atlas of Forest Tree Species. Publications Office of the European Union. 152-153. Luxembourg.

DEHGHANIAN Z, HABIBI K, DEHGHANIAN M, ALIYAR S, ASGARI LAJAYER B, ASTATKIE T, MINKINA T, KESWANI C. (2022) Reinforcing the bulwark: unravelling the efficient applications of plant phenolics and tannins against environmental



stresses. *Heliyon*, 1-12.

ECHEVARRIA-ZOMEÑO S, ABRIL N, RUIZ-LAGUNA J, JORRIN-NOVO J, MALDONADO-ALCONADA AM (2012) Simple, rapid and reliable methods to obtain high quality RNA and genomic DNA from *Quercus ilex* L. leaves suitable for molecular biology studies. *Acta Physiol Plant*, 793–805

ECHEVARRÍA-ZOMEÑO, S.; ARIZA, D.; JORGE, I.; LENZ, C.; DEL CAMPO, A.D.; JORRÍN, J.; NAVARRO, R.M. (2009) Changes in the protein profile of *Quercus ilex* leaves in response to drought stress and recovery. *J. PlantPhysiol.*, 233–245.

ESCANDÓN M, BIGATTON ED, GUERRERO-SÁNCHEZ VM, HERNÁNDEZ-LAO T, REY M-D, JORRÍN-NOVO JV AND CASTILLEJO MA (2022) Identification of Proteases and Protease Inhibitors in Seeds of the Recalcitrant Forest Tree Species *Quercus ilex*. *Front. Plant Sci.*, 1-15.

FERNÁNDEZ I MARTI, A.; ROMERO-RODRÍGUEZ, C.; NAVARRO-CERRILLO, R.; ABRIL, N.; JORRÍN-NOVO, J.; DODD, R. (2018). Population genetic diversity of *Quercus ilex* subsp. *ballota* (Desf.) Samp. reveals divergence in recent and evolutionary migration rates in the Spanish dehesas. *Forests*, 1-17.

GARCÍA-GÓMEZ, E., SIESO, P. (2022). Las bellotas y el ser humano. Editorial IV Centanerio. 60-118. Toledo

GODETO, Y.G., BACHHETI, A., HUSEN, A., PANDEY, D.P., BACHHETI, R.K. (2021). *Non-Timber Forest Products*. Springer. 145–174. Switzerland.

GOODIN MM, ZAITLIN D, NAIDU RA, LOMMEL SA. (2008) *Nicotiana benthamiana*: its history and future as a model for plant-pathogen interactions. *Mol Plant Microbe Interact.*, 1015-1026.

GUERRERO-SÁNCHEZ, V.M.; CASTILLEJO, M.Á.; LÓPEZ-HIDALGO, C.; MALDONADO-ALCONADA, A.M.; JORRÍN-NOVO, J.V.; REY, M.D. (2021) Changes in the transcript and protein profiles of *Quercus ilex* seedlings in response to drought stress. *J. Proteom.*, 1-7.

HELENO, S. A., MARTINS, A., QUEIROZ, M. J. R., & FERREIRA, I. C. (2015). Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food chem.*, 501-513.

HERNÁNDEZ-LAO, T., RODRÍGUEZ-PÉREZ, R., LABELLA-ORTEGA, M., TRIVIÑO, M. M., PEDROSA, M., REY, M. D., JORRÍN-NOVO, J. V., CASTILLEJO-SÁNCHEZ, M. Á. (2025). Proteomic identification of allergenic proteins in holm oak (*Quercus ilex*)



seeds. Food Chem., 1-12.

HERNÁNDEZ-LAO, T., TIENDA-PARRILLA, M., LABELLA-ORTEGA, M., GUERRERO-SÁNCHEZ, V. M., REY, M. D., JORRÍN-NOVO, J. V., & CASTILLEJO-SÁNCHEZ, M. Á. (2024A). Proteomic and Metabolomic Analysis of the *Quercus ilex-Phytophthora cinnamomi* Pathosystem Reveals a Population-Specific Response, Independent of Co-Occurrence of Drought. Biomolecules, 1-22.

HERNÁNDEZ-LAO, T. (2024Bb). PhD Thesis. UCO. Spain

HO, T., MURTHY, H. N., & PARK, S. (2020). Methyl Jasmonate Induced Oxidative Stress and Accumulation of Secondary Metabolites in Plant Cell and Organ Cultures. Int. J. Mol. Sci., 1-18.

HOU S, JAMIESON P, HE P. (2018). The cloak, dagger, and shield: proteases in plant-pathogen interactions. Biochem J., 2491-2509.

IPNI (2024). International Plant Names Index. Published on the Internet <http://www.ipni.org>, The Royal Botanic Gardens, Kew, Harvard University Herbaria and Libraries and Australian National Herbarium.

JIANG X-L, HIPPEL, DENG M, SU T, ZHOU Z-K, YAN M-X. (2019) East Asian origins of European holly oaks (*Quercus section Ilex* Loudon) via the Tibet-Himalaya. J Biogeogr., 2203–2214.

JORGE, I., NAVARRO, R. M., LENZ, C., ARIZA, D., AND JORRÍN-NOVO, J. V. (2006). Variation in the holm oak leaf proteome at different plant developmental stages, between provenances and in response to drought stress. Proteomics, S207–S214.

KUMAR, A., ANJU, T., KUMAR, S., CHHAPEKAR, S.S., SREEDHARAN, S., SINGH, S., CHOI, S.R., RAMCHANDRAN, N., LIM, Y.P. (2021). Integrating Omics and Gene Editing Tools for Rapid Improvement of Traditional Food Plants for Diversified and Sustainable Food Security. Int. J. Mol. Sci., 1-51.

LABELLA-ORTEGA, M., MARTÍN, C., VALLEDOR, L., CASTIGLIONE, S., CASTILLEJO, M. A., JORRÍN-NOVO, J. V., REY, M. D. (2024). Unravelling DNA methylation dynamics during developmental stages in *Quercus ilex* subsp. *ballota* [Desf.]. BMC Plant Biol., 1-17.

LAWTON, M. A., DIXON, R. A., HAHNBROCK, K., & LAMB, C. (1983). Rapid induction of the synthesis of phenylalanine ammonia-lyase and of chalcone synthase in elicitor-treated plant cells. Eur. J. Biochem., 593-601.



LÓPEZ-HIDALGO C, GUERRERO-SÁNCHEZ VM, GÓMEZ-GÁLVEZ I, SÁNCHEZ-LUCAS R, CASTILLEJO-SÁNCHEZ MA, MALDONADO-ALCONADA AM, VALLEDOR L, JORRÍN-NOVO JV (2018) A multi-omics analysis pipeline for the metabolic pathway reconstruction in the orphan species *Quercus ilex*. Front Plant Sci., 1-16.

LÓPEZ-HIDALGO, C.; TRIGUEROS, M.; MENÉNDEZ, M.; JORRIN-NOVO, J.V. (2021). Phytochemical composition and variability in *Quercus ilex* acorn morphotypes as determined by NIRS and MS-based approaches. Food Chem., 1-7.

LUNA DEL ROSAL 2021 Degree's Thesis, UCO, Spain

LUNA DEL ROSAL 2022 Master's Thesis, UCO, Spain

MAGALHÃES, A. P., VERDE, N., REIS, F., MARTINS, I., COSTA, D., LINO-NETO, T., CASTRO P.H., TAVARES R.M., AZEVEDO, H. (2016). RNA-Seq and gene network analysis uncover activation of an ABA-dependent signalosome during the cork oak root response to drought. Front. Plant. Sci., 1-17.

MALDONADO-ALCONADA AM, CASTILLEJO MÁ, REY MD, LABELLA-ORTEGA M, TIENDA-PARRILLA M, HERNÁNDEZ-LAO T, HONRUBIA-GÓMEZ I, RAMÍREZ-GARCÍA J, GUERRERO-SANCHEZ VM, LÓPEZ-HIDALGO C, VALLEDOR L, NAVARRO-CERRILLO RM, JORRIN-NOVO JV. (2022) Multiomics molecular research into the recalcitrant and orphan *Quercus ilex* tree species: Why, what for, and how. Int J Mol Sci., 1-26.

MISHRA, S., ROYCHOWDHURY, R., RAY, S., HADA, A., KUMAR, A., SARKER, U., AFTAB, T., & DAS, R. (2024). Salicylic acid (SA)-mediated plant immunity against biotic stresses: An insight on molecular components and signaling mechanism. Plant Stress, 1-15.

MORCILLO, M., SALES, E., CORREDOIRA, E., MARTÍNEZ, M. T., SEGURA, J., & ARRILLAGA, I. (2022). Effect of methyl jasmonate in gene expression, and in hormonal and phenolic profiles of holm oak embryogenic lines before and after infection with *Phytophthora cinnamomi*. Front. Plant Sci., 1-13.

OGAYA R, LIU D, BARBETA A AND PEÑUELAS J (2020) Stem mortality and forest dieback in a 20-years experimental drought in a mediterranean holm oak forest. Front. For. Glob. Change, 1-9.

ORTEGA-GARCÍA, 2024 Master's Thesis, UCO, Spain

OSTERTAG, L. M., O' KENNEDY, N., HORGAN, G. W., KROON, P. A., DUTHIE, G. G., & DE ROOS, B. (2011). In vitro anti-platelet effects of simple plant-derived phenolic



compounds are only found at high, non-physiological concentrations. *Mol. Nutr. Food Res.*, 1624-1636.

PANAÏOTIS, C., CARCAILLET, C., MHAMED, M., (1997). Determination of the natural mortality age of an holm oak (*Quercus ilex* L.) stand in Corsica (Mediterranean Island). *Acta Oecol.*, 519-530.

PANDOLFI, V., NETO, J. R. C. F., DA SILVA, M. D., AMORIM, L. L. B., WANDERLEY-NOGUEIRA, A. C., DE OLIVEIRA SILVA, R. L., AKIO KIDO, E., CROVELLA, S. BENKO ISEPPON, A. M. (2017). Resistance (R) genes: applications and prospects for plant Biotechnology and breeding. *Curr. protein & peptide Sci.*, 323–334.

PARRA, A., & HINOJOSA, M. B. (2023). Burn Severity Effect on the Short-Term Functional Response of *Quercus ilex* after Fire. *Fire*, 1-12.

PELÁEZ-VICO, M. Á., FICHMAN, Y., ZANDALINAS, S. I., VAN BREUSEGEM, F., KARPIŃSKI, S. M., & MITTLER, R. (2022). ROS and redox regulation of cell-to-cell and systemic signaling in plants during stress. *Free Radic. Biol. Med.*, 354-362.

PRATS, E., RUBIALES, D., & JORRÍN, J. (2002). Acibenzolar-S-methyl-induced resistance to sunflower rust (*Puccinia helianthi*) is associated with an enhancement of coumarins on foliar surface. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 155-162.

RAHMAN, M. H. (2016). Exploring sustainability to feed the world in 2050. *J. Food Microbiol.*, 7-16.

RAKIĆ, S., PETROVIĆ, S., KUKIĆ, J., JADRANIN, M., TEŠEVIĆ, V., POVRENOVIĆ, D., ŠILER-MARINKOVIĆ, S. (2007). Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. *Food Chem.*, 830–834.

REY, MD., LABELLA-ORTEGA, M., GUERRERO-SÁNCHEZ, VM., CARLEIAL, R., CASTILLEJO, MÁ., RUGGIERI, V., JORRÍN-NOVO, JV. (2023). A first draft genome of holm oak (*Quercus ilex* subsp. *ballota*), the most representative species of the Mediterranean forest and the Spanish agrosylvopastoral ecosystem "dehesa". *Front Mol Biosci.*, 1-10.

ROMERO-RODRÍGUEZ, M. C., JORRÍN-NOVO, J. V., AND CASTILLEJO, M. A. (2019). Toward characterizing germination and early growth in the non-orthodox forest tree species *Quercus ilex* through complementary gel and gel-free proteomic analysis of embryo and seedlings. *J Proteomics*, 60–70.

RUIZ GÓMEZ, F.J.; PÉREZ-DE-LUQUE, A.; SÁNCHEZ-CUESTA, R.; QUERO, J.L.;



NAVARRO CERRILLO, R.M. (2018). Differences in the response to acute drought and *Phytophthora cinnamomi* Rands. infection in *Quercus ilex* L. seedlings. *Forests*, 1-16.

SAN-EUFRASIO, B., BIGATTON, E. D., GUERRERO-SÁNCHEZ, V. M., CHATURVEDI, P., JORRÍN-NOVO, J. V., REY, M. D., AND CASTILLEJO, M. Á. (2021b). Proteomics data analysis for the identification of proteins and derived proteotypic peptides of potential use as putative drought tolerance markers for *Quercus ilex*. *Int. J. Mol. Sci.*, 1-17.

SCHIRONE, B., VESSELLA, F., & VARELA, M. (2019). EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for Holm oak (*Quercus ilex*). European Forest Genetic Resources Programme (EUFORGEN), European Forest Institute.

SAN-EUFRASIO, B., SÁNCHEZ-LUCAS, R., LÓPEZ-HIDALGO, C., GUERRERO-SÁNCHEZ, V. M., CASTILLEJO, M. Á., MALDONADO-ALCONADA, A. M., JORRÍN-NOVO, J.V., REY, M. D. (2020). Responses and differences in tolerance to water shortage under climatic dryness conditions in seedlings from *Quercus* spp. and Andalusian *Q. ilex* populations. *Forests*, 1-18.

SAN-EUFRASIO, B., CASTILLEJO, M. Á., LABELLA-ORTEGA, M., RUIZ-GÓMEZ, F. J., NAVARRO-CERRILLO, R. M., TIENDA-PARRILLA, M., ... & 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.*, 1-17.

SANTACRUZ-GARCÍA, A. C., SENILLIANI, M. G., GÓMEZ, A. T., EWENS, M., YONNY, M. E., VILLALBA, G. F., & NAZARENO, M. A. (2022). Biostimulants as forest protection agents: Do these products have an effect against abiotic stress on a forest native species? Aspects to elucidate their action mechanisms. *Forest Ecol. Manag.*, 1-12.

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.*, 1-8.

SGHAIER-HAMMAMI, B.; HAMMAMI, S.; BAAZAOU, N.; GÓMEZ-DÍAZ, C.; JORRÍN-NOVO, J.V. (2020). Dissecting the seed maturation and germination processes in the non-orthodox *Quercus ilex* species based on protein signatures as revealed by 2-DE coupled to MALDI-TOF/TOF proteomics strategy. *Int. J. Mol. Sci.*, 1-26.

SIMOVA-STOILOVA, L.P.; ROMERO-RODRÍGUEZ, M.C.; SÁNCHEZ-LUCAS, R.; NAVARRO-CERRILLO, R.M.; MEDINA-AUNON, J.A.; JORRÍN-NOVO, J.V. (2015). 2-DE proteomics analysis of drought treated seedlings of *Quercus ilex* supports a root active strategy for metabolic adaptation in response to water shortage. *Front. Plant*



Sci., 1-16.

SGHAIER-HAMMAMI, B.; VALERO-GALVAN, J.; ROMERO-RODRIGUEZ, M.C.; NAVARRO-CERRILLO, R.M.; ABDELLY, C.; JORRIN-NOVO, J. (2013). Physiological and proteomics analyses of Holm oak (*Quercus ilex* subsp. *ballota* [Desf.] Samp.) responses to *Phytophthora cinnamomi*. Plant. Physiol. Biochem., 191–202.

SIMOVA-STOILOVA, L.P.; LÓPEZ-HIDALGO, C.; SANCHEZ-LUCAS, R.; VALERO-GALVAN, J.; ROMERO-RODRÍGUEZ, C.; JORRIN-NOVO, J.V. (2018). Holm oak proteomic response to water limitation at seedling establishment stage reveals specific changes in different plant parts as well as interaction between roots and cotyledons. Plant Sci., 1–13.

TALABI, A.O., VIKRAM, P., THUSHAR, S., RAHMAN, H., AHMADZAI, H., NHAMO, N., SHAHID, M., SINGH, R.K. (2022). Orphan crops: A best fit for dietary enrichment and diversification in highly deteriorated marginal environments. Front. Plant Sci. 1-17

TEJERINA D, GARCÍA-TORRES S, VACA MC, VÁSQUEZ FM, CAVA R (2011) Acorns (*Quercus rotundifolia* Lam.) and grass as natural sources of antioxidants and fatty acids in the “montanera” feeding of Iberian pig: intra- and inter-annual variations. Food Chem., 997–1004.

TIENDA-PARRILLA, M.; LÓPEZ-HIDALGO, C.; GUERRERO-SANCHEZ, V.M.; INFANTES-GONZÁLEZ, Á.; VALDERRAMA-FERNÁNDEZ, R.; CASTILLEJO, M.Á.; JORRÍN-NOVO, J.V.; REY, M.D. (2022). Untargeted MS-based metabolomics analysis of the responses to drought stress in *Quercus ilex* L. leaf seedlings and the identification of putative compounds related to tolerance. Forests, 1-19.

VALERO GALVÁN, J., VALLEDOR, L., NAVARRO CERRILLO, R. M., GIL-PELENO aplGRÍN, E., JORRÍN-NOVO, J. V. (2011). Studies of variability in Holm oak (*Quercus ilex* subsp. *ballota* [Desf.] Samp.) through acorn protein profile analysis. J. Proteomics, 1244-1255.

VALERO-GALVÁN, J.; GONZALEZ-FERNANDEZ, R.; NAVARRO-CERRILLO, R.M.; GIL-PELEGRIN, E.; JORRIN-NOVO, J.V. (2013). Physiological and proteomic analyses of drought stress response in Holm oak provenances. J. Proteome Res., 5110–5123

VINHA, A.F., BARREIRA, J.C.M., FERREIRA, I.C.F.R., OLIVEIRA, M.B.P.P. (2020). Bioactive compounds in underutilized fruits and nuts. Reference Series in Phytochemistry. Springer. 273-287.

VINHA, A.F., COSTA, A.S.G., BARREIRA, J.C.M., PACHECO, R., OLIVEIRA, M.B.P.P. (2016). Chemical and antioxidant profiles of acorn tissues from *Quercus* spp.:



Potential as new industrial raw materials. Ind. Crop. Prod., 143–151.