Premio Universitario de la SECF 2018 a la mejor Tesis Doctoral

Estudio de la interacción entre oomicetos de podredumbre radical y *Quercus ilex* L.

Study of the interaction between root rot oomycetes and *Quercus ilex* L.

Ruiz Gómez, F.J.¹; Navarro Cerrillo, R.M.¹; Pérez de Luque, A.²

¹*Departamento de Ingeniería Forestal, Laboratorio de Ecofisiología de Sistemas Forestales ECSIFOR—ERSAF,
Universidad de Córdoba Campus de Rabanales, Crta, IV, km. 396, E-14071 Córdoba, Spain; FJRG:*

g72rugof@uco.es; rmnavarro@uco.es

²*Área de Genómica y Biotecnología, IFAPA. Centro Alameda del Obispo. Córdoba, Spain;*

alejandro.perez.luque@juntadeandalucia.es

Autor para correspondencia: g72rugof@uco.es

Resumen

Las dehesas representan el ecosistema mediterráneo más extendido en la Península Ibérica, con la encina como especie protagonista. Actualmente, la sostenibilidad tanto de la especie como del ecosistema se encuentran en serio peligro debido al decaimiento de los encinares, producido por la podredumbre de raíz, causada por patógenos de suelo del género *Phytophthora* spp. Este sistema patógeno-anfitrión ha sido ampliamente estudiado, aunque muchos de los mecanismos subyacentes de la interacción a nivel histológico y fisiológico seguían sin estar claramente determinados. En la presente tesis doctoral se abordaron diferentes aproximaciones para aumentar el conocimiento disponible en dichas áreas. Se realizaron trabajos de histología para describir el proceso de patogénesis específico, que condujeron a la identificación de diferentes etapas relacionadas con el comportamiento trófico del patógeno, se analizó la respuesta fisiológica del anfitrión ante el estrés producido por el patógeno por separado, y en combinación con estrés hídrico inducido, y se estudió la influencia de la estructura y la funcionalidad de la microbiota a partir de su composición específica y su diversidad con los síntomas de decaimiento del arbolado. Los resultados plantean la necesidad de incorporar nuevos factores en las estrategias de control integrado del decaimiento en la dehesa, incorporando medidas que fomenten los tratamientos en los momentos adecuados, el concepto de inducción de defensas sistémicas, y considerando las especies claves de la microbiota del suelo, más allá de la simple visión de la interacción entre el anfitrión y el patógeno.

Palabras clave: Decaimiento forestal, dehesa, encina, *Phytophthora*, podredumbre de raíz.

Abstract

The dehesas represent the Mediterranean ecosystem more widespread in the Iberian Peninsula, with the holm oak as the main species. Currently, the sustainability of both the species and the ecosystem are in serious danger due to the decay of holm oaks, produced by root rot, caused by soil pathogens of the genus *Phytophthora* spp. This pathogen-host system has been extensively studied, although many of the mechanisms underlying the interaction at the histological and physiological level were still not clearly determined. In the present doctoral thesis, different approaches were taken to increase the knowledge available in these areas. Histology studies were carried out to describe the process of specific pathogenesis, which led to the identification of different stages related to the trophic behavior of the pathogen, the physiological response of the host to the stress produced by the pathogen was analyzed separately, and in combination with induced hydric stress, and the influence of the structure and functionality of the microbiota was studied from its specific composition and its diversity with the symptoms of tree decay. The results suggest the need to incorporate new factors in the integrated control strategies of decay in the dehesa, incorporating measures that encourage treatments at appropriate times, the concept of induction of systemic defenses, and considering the key species of soil microbiota, beyond the simple vision of the interaction between the host and the pathogen.

Keywords: Forest decay, dehesa, holm oak, *Phytophthora*, root rot.

1. Introducción

El decaimiento forestal es hoy en día uno de los mayores desafíos para el manejo y la sostenibilidad de los ecosistemas naturales en todo el mundo (Martínez-Vilalta *et al.*, 2012). Este proceso se considera un síndrome multifactorial, influido por factores tanto de tipo biótico como abiótico, y cuyo nivel de afección puede variar desde el nivel de árbol individual hasta ecosistemas completos (Manion and Lachance, 1992). Algunos de los factores considerados desencadenantes son de tipo climático (sequía y aumento global de las temperatura), y especies patógenas invasoras como el caso de *Phytophthora cinnamomi* (Burgess *et al.*, 2017; Wong and Daniels, 2017).

Concretamente, el decaimiento de los robles se ha identificado como uno de los problemas ecológicos más relevantes en Europa, afectando a masas de *Quercus caducifolios* y *perennifolios* desde los bosques continentales de Centro Europa y Norte Europa, hasta los bosques templados de la cuenca mediterránea (Brasier and Scott, 1994; Jung *et al.*, 2000). En el caso de la Península Ibérica, a finales de los años 80 y principios de los 90 del s. XX se identificaron problemas de decaimiento en masas de encina (*Quercus ilex* L.) y alcornoque (*Quercus suber* L.) (Brasier *et al.*, 1993), especies que cubren la mayor parte de la superficie forestal del sur y centro de la Península Ibérica, principalmente formando sistemas de dehesa y “montados”.

Las dehesas son ecosistemas silvopastorales mediterráneos característicos de la Península Ibérica. Actualmente suponen una importante fuente de beneficios económicos y servicios ambientales en zonas rurales socioeconómicamente desfavorecidas (CAP, 2008; Costa Pérez *et al.*, 2006). Por su parte, la encina es el árbol más representativo de la Península Ibérica, y la especie principal del estrato arbóreo de las dehesas en la Península Ibérica (Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009). El decaimiento de la encina se presenta como un problema fundamental en estos ecosistemas, asociado a la acción de patógenos de suelo, principalmente especies del género *Phytophthora* spp., entre las que destaca *Phytophthora cinnamomi*, patógeno invasor muy agresivo, ampliamente distribuido por todo el mundo, que ha sido asociado con la enfermedad, la decadencia y la mortalidad de una larga lista de diferentes especies vegetales (Burgess *et al.*, 2017; Hardham, 2005). Es una especie capaz de cambiar su relación trófica con el huésped, comportándose como un organismo biótrofo en huéspedes asintomáticos, y como hemibiótrofo ó necrotrofo en huéspedes susceptibles. A lo anterior hay que añadir que la encina se considera la especie del género *Quercus* más susceptible a la acción de dicho patógeno (Robin *et al.*, 2001), siendo la variabilidad de la especie otro factor clave en la tolerancia (Jorin-Novo y Navarro Cerrillo, 2014; Navarro-Cerrillo *et al.*, 2018). Los síntomas son muy inespecíficos y suelen hacerse evidentes cuando la enfermedad se presenta como irreversible (Figura 1). Otras especies de los géneros *Phytophthora* y *Pythium* se han encontrado asociadas con el decaimiento de la encina en España, Portugal, Italia y Francia (Català *et al.*, 2017; Corcobado *et al.*, 2010; Pérez-Sierra *et al.*, 2013).

Figura 1. Decaimiento de la encina causado por la podredumbre de raíz. (a) Encina afectada por síndrome de muerte regresiva. (b) Muerte súbita de un ejemplar. (c) Escasez de raicillas absorbentes en el sistema radical secundario. (d) Colonia de *P. cinnamomi* en placa de cultivo “in vitro”. (e) Esporangios de *P. cinnamomi* en “Soil Extract” observados al microscopio bajo 400 aumentos. (f) Oospora de *P. cinnamomi* bajo 400 aumentos.

Las causas y los efectos de la interacción en este sistema patógeno-anfitrión han sido ampliamente estudiados, estableciendo nuevas metodologías en la mejora de la gestión para limitar la dispersión y los síntomas del decaimiento (Ríos *et al.*, 2018; Serrano *et al.*, 2013; Solla *et al.*, 2009). Sin embargo, la mayoría de los trabajos revisados se basaron en aproximaciones empíricas, desconociéndose gran parte de los mecanismos subyacentes que controlan la interacción entre las dos especies, al contrario de lo que ocurre en otros casos similares (Oßwald *et al.*, 2014). Para cubrir esta necesidad, en el trabajo realizado durante esta tesis doctoral se estudió la interacción entre el anfitrión y el patógeno con el objetivo principal de describir la interacción a nivel histológico y fisiológico, así como la influencia de la microbiota del suelo en la severidad de los síntomas de la enfermedad. Para dicho propósito se establecieron 4 objetivos específicos:

- Puesta a punto de una metodología basada en técnicas de histología ultraestructural y análisis de imágenes, para analizar de forma semiautomática la presencia de *P. cinnamomi* en el interior de los tejidos de raíz de especies leñosas.
- Analizar el proceso de patogénesis de *P. cinnamomi* en raíces de *Q. ilex* mediante histología.

- Estudiar la respuesta fisiológica y funcional de plantones de *Q. ilex* ante la infección de *P. cinnamomi*.
- Evaluar la influencia de la estructura y funcionalidad de la microflora fúngica y de oomicetos en los síntomas de la enfermedad.

2. Puesta a punto de una metodología para evaluar la colonización e infección de *Phytophthora cinnamomi* en plántulas de *Quercus ilex*:

Para analizar el proceso de patogénesis era necesario establecer unos índices confiables que mostraran su evolución en los distintos tipos de tejidos. Dicho análisis fue posible a través de la cuantificación semiautomática de las estructuras del patógeno presentes en secciones histológicas de raíces finas mediante el análisis de imágenes (Ruiz Gómez *et al.*, 2012). Se testaron diferentes soluciones de fijación, sustancias de inclusión y métodos de tinción, y los resultados permitieron la diferenciación clara de las estructuras del patógeno y de los tejidos del huésped. Entre los distintos índices basados en la localización y especificidad de las estructuras del patógeno y en el tejido del huésped, se determinó que aquellos que explicaban de una forma más sencilla y estadísticamente robusta el progreso del oomiceto en la raíz fueron los índices basados en la clasificación de las estructuras del patógeno por su tipo y por su posición respecto al plasmalema.

3. Histopatología del proceso de infección y colonización de las raíces de encina por *P. cinnamomi*

El estudio de la patogénesis a través de histología sirve por ejemplo para determinar si un anfitrión es capaz de activar mecanismos de defensa, y en qué momento se producen los cambios en el comportamiento del patógeno. Para describir este proceso dentro de las raíces de encina, se realizó un experimento en cámara de crecimiento con plantones de *Q. ilex* inoculados con *P. cinnamomi* (Ruiz Gómez *et al.*, 2015). Mediante la metodología puesta a punto en Ruiz Gómez *et al.* (2012) se analizaron secciones longitudinales de epidermis, córtex, tejido parenquimático del cilindro central y tejido vascular, a los 1, 3, 7 y 14 días después de la inoculación. El análisis de los índices de estructuras específicas proporcionó una descripción del ciclo de colonización/infección del patógeno, clasificada en tres etapas diferentes relacionadas con su comportamiento trófico, identificando los momentos en los que estos cambios tuvieron lugar a través de los cambios en la abundancia de estructuras específicas y los síntomas de degradación celular. Asimismo, se identificaron cambios histológicos a consecuencia de las respuestas desencadenadas por parte de la planta.

4. Respuesta diferencial de plantones de encina ante el estrés biótico y abiótico

El siguiente paso fue determinar la influencia de la interacción entre el patógeno y el anfitrión en la fisiología de la planta. Se analizó la respuesta diferencial de plántulas de encina frente a la inoculación con *P. cinnamomi*, ante la sequía severa y para ambos estreses combinados (Ruiz Gómez *et al.*, 2018). Las plántulas fueron inoculadas y sometidas a falsa inoculación, y la mitad de cada uno de estos tratamientos fue sometida a sequía severa, mientras que el resto fue regado de manera óptima. Semanalmente se midieron los valores de fotosíntesis, conductancia estomática y fluorescencia, y la biomasa total, y al final del experimento se cuantificaron diversos rasgos funcionales de las plantas. Los datos mostraron la existencia de diferencias en la respuesta de las plántulas ante la sequía y la inoculación, así como el efecto aditivo de ambos estreses en la muerte de las plántulas. La podredumbre de la raíz causada por *Phytophthora cinnamomi* alteró principalmente los patrones de crecimiento, con importantes diferencias en el crecimiento de la raíz respecto a los tratamientos de sequía y control, pero aunque la tasa de asimilación neta y la conductancia estomática se vieron reducidas de manera similar por el estrés hídrico y el biótico, la eficiencia fotosintética en plantones inoculados y bien regados se mantuvo similar a los controles, sugiriendo un desacoplamiento entre los mecanismos hídricos y fotosintéticos, que podrían ser consecuencia de cambios metabólicos.

5. Análisis de la microbiota del suelo en dehesas afectadas por el decaimiento de la encina

La evidencia de una respuesta defensiva inespecífica por parte de la encina, y la sinergia entre el estrés hídrico y biótico en el daño a la planta, condujeron a considerar la importancia de la inducción de respuestas sistémicas en la planta, así como de la influencia ambiental sobre el aporte de agua y nutrientes. Entre otros factores, la microflora del suelo presenta influencia en ambos aspectos, tanto induciendo las defensas constitutivas de las plantas a través de la presencia de organismos endófitos y otros tipos de patógenos, como a través del papel que juegan las micorrizas en la mejora de la absorción de agua y nutrientes (Aleandri *et al.*, 2015; Corcobado *et al.*, 2014; Tedersoo *et al.*, 2014). Además, la composición de la microflora tendría un efecto directo sobre el estado fitosanitario del arbolado a través de las interacciones ecológicas entre diferentes taxones y los patógenos de suelo. En un último trabajo se estudió la influencia de la diversidad y la composición de la microbiota sobre la encina en dehesas afectadas por decaimiento (Ruiz Gómez *et al.*, 2019). Para ello se colectaron muestras de suelo de la rizosfera de pies en zonas de afección, y se extrajo el ADN total, que se analizó a través de técnicas de metabarcoding y NGS, con el fin de evaluar la composición específica y la diversidad de las comunidades fúngica y de oomicetos, y para estudiar sus relaciones con

los síntomas de la enfermedad. La comunidad fúngica presentó una gran variedad de patógenos y abundancia de taxones clave de ectomicorrizas. *Phytophthora* spp. apareció como el taxón dominante dentro de la comunidad de oomicetos, pero las principales especies relacionadas hasta la fecha con la podredumbre radicular (*P. cinnamomi* y *Pythium spiculum*) no fueron las más abundantes, ni presentaron relación directa con los niveles de defoliación. Una unidad taxonómica operacional (OTU) particular, perteneciente al género *Trichoderma*, presentó correlaciones significativas con la escasez de especies patógenas de *Phytophthora* spp. Las diferencias en defoliación se correlacionaron con cambios en la funcionalidad de la microbiota del suelo y con los niveles de diversidad de las especies patógenas.

6. Conclusiones

Los cambios que se producen en la raíz a consecuencia de la inoculación con *P. cinnamomi*, incluyendo las respuestas defensivas, así como la respuesta diferencial identificada con la colonización/infección, conducen a nuevas apreciaciones sobre la causa de la muerte del arbolado. La encina responde al ataque del patógeno, presentando variaciones en la fisiología diferentes de las causadas por el estrés hídrico, las cuales permiten la recuperación de las plantas si no se superpone un estrés adicional a la inoculación. Por otra parte, el estudio del microbioma mostró la influencia de su diversidad y estructura en el estado sanitario del arbolado, así como mostró nuevas especies de oomicetos y hongos que deben tenerse en consideración en el manejo del decaimiento de las dehesas de encina en Andalucía.

Los resultados más destacables del trabajo fueron:

- La propuesta de un modelo conceptual de desarrollo del patógeno en el interior de los tejidos, que identifica las diferentes etapas del desarrollo con cambios en su estrategia trófica, derivando importantes consecuencias para el manejo de la enfermedad.
- La identificación de una respuesta específica de la encina a nivel fisiológico ante el ataque de *P. cinnamomi*, que podría estar relacionada con cambios en el metabolismo de la planta que provocarían un desacoplamiento de los mecanismos de protección hídrica y fotosintética.
- La determinación de perfiles de la microbiota fúngica y de oomicetos en las dehesas de Andalucía, y la relación de las diferencias en la estructura y funcionalidad del suelo con la defoliación.
- La identificación de especies claves de la microflora que podrían estar relacionadas con una mejora en el estado fitosanitario de árboles localizados en zonas de afección de decaimiento.

Todos estos resultados nos llevan a plantear la necesidad de incorporar nuevos factores en las estrategias de control integrado del decaimiento de la encina en ecosistemas adherados (*Figura 2*). Es necesario incorporar medidas que fomenten los tratamientos en los momentos adecuados, incluyendo el concepto de inducción de defensas sistémicas en el arbolado, y considerando las especies claves de la microbiota del suelo, más allá de la simple visión de la interacción entre el anfitrión y el patógeno.

Figura 2. Modelo conceptual de manejo integrado de la podredumbre de raíz de la encina, incluyendo la respuesta inducida, el manejo de la microbiota y de la composición y estructura del suelo.

Finalmente, nuestros resultados demuestran la importancia de aplicar ciencia básica para obtener conocimientos consolidados, que permitan un mejor diagnóstico de la causalidad del problema y, por lo tanto, dirijan los esfuerzos de un modo eficiente hacia soluciones integradas.

7. Bibliografía

- Aleandri, M.P.; Chilosi, G.; Bruni, N.; Tomassini, A.; Vettraino, A.M.; Vannini, A.; 2015. Use of nursery potting mixes amended with local *Trichoderma* strains with multiple complementary mechanisms to control soil-borne diseases. *Crop Protection* 67, 269–278. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.10.023>

- Brasier, C.M.; Robredo, F.; Ferraz, J.F.P.; 1993. Evidence for *Phytophthora cinnamomi* involvement in Iberian oak decline. *Plant Pathology* 42, 140–145. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1993.tb01482.x>
- Brasier, C.M.; Scott, J.K.; 1994. European oak declines and global warming: a theoretical assessment with special reference to the activity of *Phytophthora cinnamomi*. *EPPO Bulletin* 24, 221–232. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1994.tb01063.x>
- Burgess, T.I.; Scott, J.K.; McDougall, K.L.; Stukely, M.J.C.; Crane, C.; Dunstan, W.A.; Brigg, F.; Andjic, V.; White, D.; Rudman, T.; Arentz, F.; Ota, N.; Hardy, G.E.St.J.; 2017. Current and projected global distribution of *Phytophthora cinnamomi*, one of the world's worst plant pathogens. *Glob Change Biol* 23, 1661–1674. <https://doi.org/10.1111/gcb.13492>
- CAP (Ed.), 2008. *Caracterización Socioeconómica de la Dehesa en Andalucía*, Secretaría General Técnica. Servicio de Publicaciones y Divulgación. ed. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca, Sevilla.
- Català, S.; Berbegal, M.; Pérez-Sierra, A.; Abad-Campos, P.; 2017. Metabarcoding and development of new real-time specific assays reveal *Phytophthora* species diversity in holm oak forests in eastern Spain. *Plant Pathol* 66, 115–123. <https://doi.org/10.1111/ppa.12541>
- Corcobado, T.; Cubera, E.; Pérez-Sierra, A.; Jung, T.; Solla, A.; 2010. First report of *Phytophthora gonapodyides* involved in the decline of *Quercus ilex* in xeric conditions in Spain. *New Disease Reports* 22, 33. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2010.022.033>
- Corcobado, T.; Vivas, M.; Moreno, G.; Solla, A.; 2014. Ectomycorrhizal symbiosis in declining and non-declining *Quercus ilex* trees infected with or free of *Phytophthora cinnamomi*. *Forest Ecology and Management* 324, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.03.040>
- Costa Pérez, J.C.; Martín Vicente, Á.; Fernández Alés, R.; Estirado Oliet, M.; 2006. *Dehesas de Andalucía. Caracterización ambiental* (2006), Consejería de Medio Ambiente. ed. Junta de Andalucía. Consejería de Medio Ambiente, Sevilla.
- Díaz Esteban, M.; Pulido Díaz, F.; 2009. 6310: Dehesas perennifolias de *Quercus* spp, in: *Bases ecológicas preliminares para la conservación de los tipos de hábitat de interés comunitario en España*. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid.
- Hardham, A.R.; 2005. *Phytophthora cinnamomi*. *Molecular Plant Pathology* 6, 589–604. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00308.x>
- Jorrin-Novó, J.; Navarro Cerrillo, R.M.; 2014. Variabilidad y respuesta a distintos estreses en poblaciones de encina (*Quercus ilex* L.) en Andalucía mediante una aproximación proteómica. *Ecosistemas* 23, 99–107. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2014.23-2.13>
- Jung, T.; Blaschke, H.; Osswald, W.; 2000. Involvement of soilborne *Phytophthora* species in Central European oak decline and the effect of site factors on the disease. *Plant Pathology* 49, 706–718. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2000.00521.x>
- Manion, P.D.; Lachance, D.; 1992. *Forest Decline Concepts*. APS Press.
- Martínez-Vilalta, J.; Lloret, F.; Breshears, D.D.; 2012. Drought-induced forest decline: causes, scope and implications. *Biology Letters*. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2011.1059>
- Navarro-Cerrillo, R.M.; Ruiz Gómez, F.J.; Cabrera-Puerto, R.J.; Sánchez-Cuesta, R.; Palacios Rodríguez, G.; Quero Pérez, J.L.; 2018. Growth and physiological sapling responses of eleven *Quercus ilex* ecotypes under identical environmental conditions. *Fo-*

- rest Ecology and Management* 415–416, 58–69. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.01.004>
- Oßwald, W.; Fleischmann, F.; Rigling, D.; Coelho, A.C.; Cravador, A.; Diez, J.; Dalio, R.J.; Horta Jung, M.; Pfanz, H.; Robin, C.; Sipos, G.; Solla, A.; Cech, T.; Chambery, A.; Diamandis, S.; Hansen, E.; Jung, T.; Orlikowski, L.B.; Parke, J.; Prospero, S.; Werres, S.; 2014. Strategies of attack and defence in woody plant–*Phytophthora* interactions. *Forest Pathology* 44, 169–190. <https://doi.org/10.1111/efp.12096>
- Pérez-Sierra, A.; López-García, C.; León, M.; García-Jiménez, J.; Abad-Campos, P.; Jung, T.; 2013. Previously unrecorded low-temperature *Phytophthora* species associated with *Quercus* decline in a Mediterranean forest in eastern Spain. *Forest Pathology* 43, 331–339. <https://doi.org/10.1111/efp.12037>
- Ríos, P.; González, M.; Obregón, S.; Carbonero, M.-D.; Leal, J.-R.; Fernández, P.; De-Haro, A.; Sánchez, M.-E.; 2018. Brassica -based seedmeal biofumigation to control *Phytophthora cinnamomi* in the Spanish “dehesa” oak trees. *Phytopathologia Mediterranea* 56, 392–399. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-20771
- Robin, C.; Capron, G.; Desprez-Loustau, M.L.; 2001. Root infection by *Phytophthora cinnamomi* in seedlings of three oak species. *Plant Pathology* 50, 708–716. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2001.00643.x>
- Ruiz Gómez, F.; Pérez-de-Luque, A.; Sánchez-Cuesta, R.; Quero, J.; Navarro Cerrillo, R.; 2018. Differences in the response to acute drought and *Phytophthora cinnamomi* Rands Infection in *Quercus ilex* L. seedlings. *Forests* 9, 634. <https://doi.org/10.3390/f9100634>
- Ruiz Gómez, F.J.; Navarro-Cerrillo, R.M.; Sánchez-Cuesta, R.; Pérez-de-Luque, A.; 2015. Histopathology of infection and colonization of *Quercus ilex* fine roots by *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathology* 64, 605–616. <https://doi.org/10.1111/ppa.12310>
- Ruiz Gómez, F.J.; Sanchez-Cuesta, R.; Navarro-Cerrillo, R.M.; Perez-de-Luque, A.; 2012. A method to quantify infection and colonization of holm oak (*Quercus ilex*) roots by *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Methods* 8, 39. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-8-39>
- Ruiz Gómez, F.J.R.; Navarro-Cerrillo, R.M.; Pérez-de-Luque, A.; Oßwald, W.; Vannini, A.; Morales-Rodríguez, C.; 2019. Assessment of functional and structural changes of soil fungal and oomycete communities in holm oak declined dehesas through metabarcoding analysis. *Scientific Reports* 9, 5315. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41804-y>
- Serrano, M.S.; Fernández-Rebollo, P.; De Vita, P.; Sánchez, M.E.; 2013. Calcium mineral nutrition increases the tolerance of *Quercus ilex* to *Phytophthora* root disease affecting oak rangeland ecosystems in Spain. *Agroforestry Systems* 87, 173–179. <https://doi.org/10.1007/s10457-012-9533-5>
- Solla, A.; García, L.; Pérez, A.; Cordero, A.; Cubera, E.; Moreno, G.; 2009. Evaluating potassium phosphonate injections for the control of *Quercus ilex* decline in SW Spain: implications of low soil contamination by *Phytophthora cinnamomi* and low soil water content on the effectiveness of treatments. *Phytoparasitica* 37, 303–316. <https://doi.org/10.1007/s12600-009-0042-7>
- Tedersoo, L.; Bahram, M.; Polme, S.; Koljalg, U.; Yorou, N.S.; Wijesundera, R.; Ruiz, L.V.; Vasco-Palacios, A.M.; Thu, P.Q.; Suija, A.; Smith, M.E.; Sharp, C.; Saluveer, E.; Saitta, A.; Rosas, M.; Riit, T.; Ratkowsky, D.; Pritsch, K.; Poldmaa, K.; Piepenbring, M.; Phosri, C.; Peterson, M.; Parts, K.; Partel, K.; Otsing, E.; Nouhra, E.; Njouonkou, A.L.; Nils-

- son, R.H.; Morgado, L.N.; Mayor, J.; May, T.W.; Majuakim, L.; Lodge, D.J.; Lee, S.S.; Larsson, K.-H.; Kohout, P.; Hosaka, K.; Hiiesalu, I.; Henkel, T.W.; Harend, H.; Guo, L.-d.; Greslebin, A.; Grelet, G.; Geml, J.; Gates, G.; Dunstan, W.; Dunk, C.; Drenkhan, R.; Dearnaley, J.; De Kesel, A.; Dang, T.; Chen, X.; Buegger, F.; Brearley, F.Q.; Bonito, G.; Anslan, S.; Abell, S.; Abarenkov, K.; 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346, 1256688–1256688. <https://doi.org/10.1126/science.1256688>
- Wong, C.M.; Daniels, L.D.; 2017. Novel forest decline triggered by multiple interactions among climate, an introduced pathogen and bark beetles. *Global Change Biology* 23, 1926–1941. <https://doi.org/10.1111/gcb.13554>

Datos de la tesis

Premio Universitario de la SECF 2018 a la mejor tesis doctoral.

Directores: Rafael María Navarro Cerrillo y Alejandro Pérez de Luque.

Centro: Instituto de Estudios de Postgrado.

Universidad: Universidad de Córdoba.

Fecha de defensa: noviembre de 2018

Publicaciones derivadas de la Tesis Doctoral:

Ruiz-Gómez, F.J.; Sánchez-Cuesta, R.; Navarro-Cerrillo, R.M.; Pérez-de-Luque, A.; 2012. A method to quantify infection and colonization of holm oak (*Quercus ilex*) roots by *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Methods* 8: 39.

Ruiz-Gómez, F.J.; Navarro-Cerrillo, R.M.; Sánchez-Cuesta, R.; Pérez-de-Luque, A.; 2015. Histopathology of infection and colonization of *Quercus ilex* fine roots by *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathology* 64: 605-616.

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* seedlings. *Forests* 9: 634.

Ruiz-Gómez, F.J.; Navarro-Cerrillo, R.M.; Pérez-de-Luque, A.; Oßwald, W.; Vannini, A.; Morales-Rodríguez, C.; 2019. Assessment of functional and structural changes of soil fungal and oomycete communities in holm oak declined dehesas through metabarcoding analysis. *Scientific reports* 9: 5315.