

TESIS DOCTORAL

“*Castanea sativa* Mill. ante *Phytophthora cinnamomi*, estrés hídrico y otros factores del cambio global”

DOCTORANDO: Álvaro Camisón Caballero (Centro Universitario de Plasencia, Universidad de Extremadura)

DIRECTOR: Dr. D. Alejandro Solla Hach, Catedrático de la Universidad de Extremadura

CODIRECTORA: Dra D^a María Ángela Martín Cuevas, Profesora Titular de la Universidad de Córdoba

FECHA Y LUGAR DE LECTURA: 30 de octubre de 2020 en el Centro Universitario de Plasencia (Universidad de Extremadura)

RESUMEN

El castaño europeo (*Castanea sativa* Mill.) es una especie multipropósito autóctona de Europa relevante por su producción de castañas y valor ecológico. Sin embargo, la especie padece el impacto de la enfermedad de ‘la tinta’ causada por el oomiceto invasor *Phytophthora cinnamomi* (*Pc*) y del estrés hídrico creciente derivado del actual cambio climático. Las respuestas y bases fisiológicas de la resistencia a *Pc* y la tolerancia al estrés hídrico en *C. sativa* aún no son bien entendidas, lo cual es importante para la mitigación de los impactos de *Pc* y el cambio climático sobre la especie, y para ayudar en programas de mejora genética. En *C. sativa* se desconoce el efecto de los eventos climáticos extremos sobre los hidratos de carbono no estructurales y el papel de las hormonas vegetales para la resistencia a *Pc* y la tolerancia a la sequía. Los efectos maternos intergeneracionales y el injertado suponen cambios fenotípicos en los árboles incluyendo cambios en la susceptibilidad al estrés biótico y abiótico, pero se desconoce si los efectos maternos pueden afectar a la susceptibilidad de *C. sativa* ante *Pc* y estrés hídrico y cómo la resistencia al patógeno y la tolerancia a la sequía se ven afectadas por el injertado. Con un enfoque multidisciplinario, esta tesis abordó los aspectos arriba mencionados realizando experimentos de invernadero complementados con análisis bioquímicos en el laboratorio.

En el objetivo primero se estudió la dinámica de hidratos de carbono no estructurales en plántulas de castaño sometidas a sequía y encharcamiento prolongado. Las dinámicas de carbohidratos en las plantas fueron diferentes entre tratamientos, evidenciando distintas estrategias de uso del carbono. Durante la sequía, la movilización de almidón y el mantenimiento de altas concentraciones de azúcares solubles en el tallo son indicativos de la relativa tolerancia a la sequía de la población de *C. sativa* estudiada. Por el contrario, la progresiva acumulación de hidratos de carbono en tallos y raíces observada en las plantas encharcadas podría indicar incapacidad de usar el carbono y ser una de las bases de la intolerancia al encharcamiento de la especie. Ni la sequía ni el encharcamiento indujeron una disminución en el contenido de carbohidratos en órganos en relación al control.

En el objetivo segundo se evaluó si la infección de árboles madre de *C. sativa* por *Pc* influye en la tolerancia de la descendencia al patógeno y al estrés hídrico. La descendencia de árboles madre de castaño infectados mostró un performance temprano reducido, caracterizado por un menor tamaño de planta, mediado por el aprovisionamiento de recursos a la semilla. Por otro lado, y aunque no se encontraron diferencias en la expresión de genes de defensa, las plantas de pequeño tamaño originadas de árboles infectados fueron más tolerantes a *Pc* que las originadas de árboles sanos, confirmando la existencia de efectos maternos. Este efecto 'priming' estuvo probablemente mediado por mecanismos epigenéticos. En la naturaleza, el menor tamaño de las plantas más tolerantes a *Pc* puede originar presiones selectivas contrarias que limiten el éxito de la regeneración de la especie.

En el tercer objetivo se exploró la relación de las hormonas defensivas y otros metabolitos con la resistencia a *Pc* en *Castanea* spp. De forma previa y 5 días después de la inoculación con *Pc*, clones de castaño susceptibles (*C. sativa*) y resistentes (*C. sativa* x *C. crenata*) mostraron diferencias en el perfil hormonal de hojas y raíces. El clon resistente tuvo un mayor contenido constitutivo de SA radicular y la hormona JA-Ile fue detectada solo en hojas del clon resistente. Tras la infección, se observó una respuesta más dinámica de hormonas y metabolitos en hojas y raíces en el clon resistente, el cual explica la susceptibilidad de *C. sativa* al patógeno y la resistencia del clon híbrido. En particular, la resistencia podría estar asociada a la inducción de JA-Ile y ABA en raíces tras la infección. La hormona JA-Ile podría ser un biomarcador constitutivo de resistencia en *Castanea* spp.

En el objetivo cuarto se evaluó la importancia relativa del patrón y la púa injertada controlando la resistencia a *Pc* y si el injertado puede condicionar la susceptibilidad al patógeno. El patrón controló totalmente la resistencia a *Pc*, y no se encontró evidencia de un efecto sistémico de la púa injertada. Además, el patrón controló el perfil hormonal de hojas y raíces. Sin embargo, las plantas injertadas tendieron a tener una ligera mayor mortalidad que los controles no injertados, probablemente debido a un efecto herida en la unión del injerto.

En el quinto objetivo, se evaluó el potencial de los patrones de castaño tolerantes al estrés hídrico para mejorar la tolerancia de genotipos susceptibles, y si el injertado puede condicionar la tolerancia a la sequía. La tolerancia a la sequía se vio afectada tanto por la púa como por el patrón usado siendo la importancia de este último mayor. Los castaños intolerantes a la sequía injertados sobre patrones tolerantes soportaron mejor el estrés, apuntando al uso de patrones de castaño adaptados a la sequía para mitigar el impacto del cambio climático en *C. sativa*. Los resultados obtenidos en esta tesis aportan novedades en relación a los mecanismos de respuesta del castaño ante *Pc*, la sequía y el encharcamiento, abriendo nuevas posibilidades de investigación en la especie.

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

Álvaro Camisón, M. Ángela Martín, F. Javier Dorado, Gerardo Moreno, Alejandro Solla (2020). Changes in carbohydrates induced by drought and waterlogging in *Castanea sativa*. *Trees* 34:579–591.

Álvaro Camisón, M. Ángela Martín, Jonás Oliva, Malin Elfstrand, Alejandro Solla (2019). Increased tolerance to *Phytophthora cinnamomi* in offspring of ink-diseased chestnut (*Castanea sativa* Miller) trees. *Annals of Forest Science* 76:119.

Álvaro Camisón, M. Ángela Martín, Paloma Sánchez-Bel, Victor Flors, Francisco Alcaide, David Morcuende, Gloria Pinto, Alejandro Solla (2019). Hormone and secondary metabolite profiling in chestnut during susceptible and resistant interactions with *Phytophthora cinnamomi*. *Journal of Plant Physiology* 241: 153030.

OTRAS PUBLICACIONES DEL DOCTORANDO PARALELAS A LA TESIS

Antonio Gazol, Jesús Julio Camarero, Sergio M. Vicente-Serrano, Raúl Sánchez-Salguero, Emilia Gutiérrez, Martín de Luis, Gabriel Sangüesa-Barreda, Klemen Novak, Vicente Rozas, Pedro A. Tíscar, Juan C. Linares, Natalia Martín-Hernández, Edurne Martínez Del Castillo, Montserrat Ribas, Ignacio García-González, Fernando Silla, Álvaro Camisón, Mar Génova, José M. Olano, Luis A. Longares, Andrea Hevia, Miquel Tomás Burguera, J. Diego Galván (2018) Forest resilience to drought varies across biomes. *Global Change Biology* 24:2143–2158.

Fernando Silla, Álvaro Camisón, Andrea Solana, Héctor Hernández, Guillermo Ríos, Miguel Cabrera, Dámaris López, Albert Morera-Beita (2018) Does the persistence of sweet chestnut depend on cultural inputs? Regeneration, recruitment, and mortality in Quercus and Castanea-dominated forests. *Annals of Forest Science* 75:95.

Francisco Alcaide, Alejandro Solla, Marcello Cherubini, Claudia Mattioni, Beatriz Cuenca, Álvaro Camisón, M. Ángela Martín (2020) Adaptive evolution of chestnut forests to the impact of ink disease in Spain. *Journal of Systematics and Evolution* 58:504–516.



Fotografía del acto de lectura y defensa. De izquierda a derecha, Alejandro Solla Hach (director de tesis), Rafael Zas Arregui (vocal del tribunal, Misión Biológica de Galicia-CSIC), Álvaro Camisón Caballero (doctorando), Rita Lourenço Costa (presidenta del tribunal, INIAV, Portugal), Fernando Silla Cortés (secretario del tribunal, Universidad de Salamanca) y M^a Ángela Martín Cuevas (codirectora de tesis). La tesis obtuvo la calificación Sobresaliente Cum Laude y la mención internacional en el título de doctor.