

RESUMEN

La Verticilosis del olivo (VO), causada por el hongo *Verticillium dahliae*, es una de las enfermedades que mayor importancia ha adquirido en los últimos años en Andalucía y en otras zonas de cultivo de esta especie. Las características del patógeno limitan la eficacia de las medidas de lucha, principalmente químicas, que se han mostrado hasta el momento ineficaces. Entre los factores que limitan el control de la VO cabe destacar la persistencia prolongada del patógeno en el suelo a través de sus estructuras de supervivencia (microsclerocios), su localización en el xilema del huésped y su variabilidad patogénica. Para su control se aconseja la aplicación de una estrategia de lucha integrada en la que la resistencia genética desempeña un papel fundamental. En la búsqueda de resistencia en cualquier especie vegetal es imprescindible disponer de amplia variabilidad genética. Los trabajos de investigación realizados en olivo en este sentido reflejan que existe suficiente variabilidad en esta especie. Sólo en España se han identificado más de 250 variedades de olivo y existe una colección mundial de 356 variedades, procedentes de 17 países en el Banco Mundial de Germoplasma de Olivo (IFAPA, CIFA Alameda del Obispo, Córdoba). En 1994 en el Departamento de Agronomía de la Universidad de Córdoba se inició un programa de investigación dirigido principalmente a la evaluación de la resistencia a VO de los cultivares procedentes de este Banco. En el marco de este programa hemos realizado parte del presente trabajo, cuyos objetivos fueron evaluar la resistencia de un grupo de cultivares de olivo por inmersión radical al aislado defoliante de *V. dahliae*. Además, en un segundo objetivo se estudió la influencia de las infecciones y del progreso de la enfermedad sobre algunos parámetros fisiológicos en dos de los cultivares, 'Frantoio' (moderadamente resistente) y 'Picual' (extremadamente susceptible) al aislado defoliante de *V. dahliae*. El progreso de los síntomas provocados por el aislado defoliante (V117) de *V. dahliae* se investigó en plantas de 9 meses de edad de los siguientes 'Arbequina', 'Arbosana', 'Blanqueta', 'Carrasqueño de Alcaudete', 'Farga', 'Frantoio', 'Gordal Sevillana', 'Koroneiki', 'Lechín de Sevilla' y 'Picual'. Además se incluyeron como cultivares control 'Frantoio' (moderadamente resistente) y 'Picual' (muy susceptible). Las plantas se inocularon por inmersión del sistema radical en una suspensión de conidias del patógeno. Los síntomas de defoliación, marchitez, clorosis y necrosis se evaluaron mediante una escala de 0-4. Los daños en plantas inoculadas o testigos por el proceso de inoculación y trasplante fueron elevados, ocasionando una mortalidad media del 35.7% de las plantas. Estos daños afectaron

particularmente de forma muy severa a las plantas de ‘Carrasqueño de Alcaudete’, ‘Gordal Sevillana’ y ‘Lechín de Sevilla’, por lo que la evaluación de resistencia de estos tres cultivares se tuvo que realizar empleando un método alternativo de inoculación, por inyección al tronco. En los experimentos de evaluación de resistencia, los síntomas de VO aparecieron de forma consistente a partir de las 4-5 semanas después de la inoculación. La reacción de los cultivares de referencia fue la esperada, mostrándose ‘Picual’ con elevada susceptibilidad (severidad media de 3.9, área bajo la curva de progreso de la enfermedad de 61.6% y 100% de plantas muertas) y ‘Frantoio’ con moderada resistencia (con valores de 1.1, 10.5% y 60%, para los respectivos parámetros mencionados). Los ocho cultivares evaluados mediante inmersión radical o inyección al tronco, “Arbequina”, “Arbosana”, “Blanqueta”, “Carrasqueño de Alcaudete”, “Farga”, “Gordal Sevillana”, “Koroneiki” y “Lechín de Sevilla”, mostraron niveles de resistencia algo variables a las infecciones causadas por el aislado defoliante de *Verticillium dahliae*, pero siempre correspondientes a reacciones de susceptibilidad o extremada susceptibilidad. Los cultivares ‘Arbequina’ y ‘Koroneiki’, de los que ya se disponía de información previa, resultaron con similar o mayor susceptibilidad respecto al cultivar control susceptible ‘Picual’, respectivamente, a la observada en estudios anteriores. Los parámetros fisiológicos fueron evaluados solamente en los dos cultivares de referencia (‘Frantoio’ y ‘Picual’). El contenido de clorofila en las hojas se estimó por un método no destructivo (SPAD), las hojas basales mostraron un contenido de clorofila similar en las plantas testigos que en las inoculadas. Sin embargo, el contenido de clorofila en las hojas apicales mostró una ligera pero significativa reducción en plantas inoculadas respecto a los testigos, que fue similar para ambos cultivares y que aparece a partir de la 8^a semana después de la inoculación. El consumo de agua fue menor en las plantas inoculadas con respecto al control. Sin embargo, entre la 3^a y la 6^a semana después de la inoculación que coincidió con la primera fase de desarrollo de síntomas, el efecto fue similar para ambos cultivares, y podría estar relacionado con la concentración de los tilides y gomas en los vasos del xilema para evitar la colonización del patógeno. Desde la 9^a de semana después de la inoculación, el efecto fue más pronunciado en ‘Picual’ y podría estar relacionado con la alta defoliación. Esta defoliación se asoció con un aumento en etileno. Se redujo el crecimiento de las plantas inoculadas en ambos cultivares, pero la reducción fue mucho más importante en ‘Picual’. El peso fresco de las plantas inoculadas de ‘Picual’ fue 60.3% inferior a los testigos, debido a un menor crecimiento de la raíz, la ausencia de nuevos brotes, y la desecación y defoliación severa. Por el contrario, en las plantas inoculadas de ‘Frantoio’ la reducción del peso

fresco fue sólo de 21.9% en comparación con los testigos, principalmente debido a las diferencias en la producción de nuevos brotes.

SUMMARY

Verticillium wilt of olive (VWO), caused by the fungus *Verticillium dahliae*, is the most threatening disease that affects this crop in recent years in Andalusia and in other important olive areas. Disease control is very difficult due to the nature of infections and pathogen characteristics, being the application of single control measures, mainly chemicals, ineffective. Therefore an integrated control strategy is needed, where the use of resistant cultivars is considered to play an important role. In olive, a wide genetic variability is available (olive cultivars, progenies from breeding programs, wild olive, etc). This variability allows search for resistance. Thus, only in Spain there are identified more than 250 varieties of olive trees and there is a worldwide collection of 356 varieties from 17 countries (Olive World Germoplasm Bank, IFAPA, CIFA Alameda del Obispo, Córdoba). In 1994, in the Department of Agronomy of University of Córdoba started a research program focussed in the evaluation of cultivars preserved in this Bank. The first part of the present research work aims to this goal. Therefore the resistance to *V. dahliae* of a new group of olive cultivars have been assessed by root-dip inoculation using a defoliating isolate of the pathogen. A second objective of this work was to evaluate the influence of infections and disease progress on some physiological parameters in cultivars 'Frantoio' (resistant) and 'Picual' (susceptible). Disease progress caused by the defoliating isolate (V117) of *V. dahliae* has been investigated in nine-months-old olive cuttings of 'Arbequina', 'Arbosana', 'Blanqueta', 'Carrasqueño de Alcaudete', 'Farga', 'Gordal Sevillana', 'Koroneiki', and 'Lechín de Sevilla'. 'Frantoio' and 'Picual' were included in experiment as control cultivars. Plants were inoculated by dipping their bare root system in a conidial suspension of the pathogen. Disease progress was evaluated by assessing symptom severity (defoliation, wilt, chlorosis and necrosis) using a 0-4 scale. Susceptibility of 'Picual' was confirmed by the high values of final severity (3.9), area under the disease progress curve (61.6%) and percentage of dead plants (100%), with symptoms appreciable from the 4th week after inoculation. On the contrary, 'Frantoio' was moderately resistant, showing values of 1.1, 1.5% and 0% for the respective parameters. Eight assessed olive varieties showed some variability in their resistance reactions. However, these were in all cases susceptible or extremely susceptible to the pathogen infection, showing high values of final severity, area under the disease progress curve and percentage of dead plants. Cultivars 'Arbequina' and 'Koroneiki', for which previous information about resistance to VWO was already available,

showed similar or higher susceptibility than the susceptible control 'Picual', respectively, than those observed in previous research. The chlorophyll content in leaves was estimated by a non destructive method (SPAD). Basal leaves had similar content in inoculated and control plants. However, the content in apical expanded leaves showed a light but significant reduction in inoculated respect to the control plants, effect that was similar for both cultivars and that appear from 8th week after inoculation. Water consumption was lower in inoculated than in control plants after inoculation. However from the 3rd to the 6th week, in coincidence with the first phase of symptom development, the effect was similar for both cultivars, and could be related to the concentration of gums and tyloses in xylem vessels to avoid colonization by the pathogen. From the 9th week after inoculation, the effect was more prevalent in 'Picual' and could be related to the high defoliation it suffered. This defoliation was associated with an increase in ethylene. Plant growth was reduced in the inoculated plants of both cultivars, but the reduction was much more important in 'Picual'. The fresh weight of inoculated plants of 'Picual' was 60.3% less than in control, due to a lower growth of root, absence of new shoot growth and severe defoliation and desiccation. On the contrary, weight plant reduction in 'Frantoio' was only light 21.9% and mainly due to differences in the production of new shoot growth.

RESUMÉ

La Verticilosis de l'olivier causé par le champignon *Verticillium dahliae*, est une maladie qui a acquis la plus grande importance ces dernières années en Andalousie et d'autres zones cultivant cette culture. Les caractéristiques du pathogène ont limité l'efficacité des mesures de contrôle, principalement les produits chimiques, qui se sont révélés inefficaces jusqu'à présent. Ces facteurs comprennent: la persistance prolongée de l'agent pathogène dans le sol par leurs structures de survie (microsclerocios), sa localisation dans le xylème et la variabilité de l'hôte pathogène. Avec les stratégies de control intégré dans lequel la recherche de résistance dans toutes les espèces végétales est essentielle pour avoir une variabilité génétique large. Les travaux de recherche effectués dans ce sens sur l'olivier reflète qu'il ya suffisamment de variabilité chez cette espèce. Seulement en Espagne ont identifié plus de 250 variétés d'oliviers et il ya une collection mondiale de 356 variétés de 17 pays. Au Département d'Agronomie de l'Université de Córdoba a commencé un programme de recherche visant principalement à évaluer la résistance des variétés de la Banque Mondial de Germoplasma de l'Olivier CIFA de Córdoba. Dans ce programme, nous avons entrepris ce travail, dont les objectifs étaient d'évaluer la résistance des variétés d'olivier pour immersion radicale avec l'isolant défoliant (V117) de *V. dahliae* et d'étudier l'influence de la progression de la maladie sur quelques paramètres physiologiques pour les deux variétés de référence 'Frantoio' (moyennement résistant) et 'Picual' (extrêmement sensible) à l'isolant défoliant de *V. dahliae*. La progression des symptômes de l'isolant défoliant (V117) de *V. dahliae* a été étudié chez les variétés d'olive que sont: 'Arbequina', 'Arbosana', 'Blanqueta', 'Carrasqueño de Alcaudete', 'Farga', 'Frantoio', 'Gordal Sevillana', 'Koroneiki', 'Lechin de Sevilla' et 'Picual' pour des plantes de 9 mois d'âge, avec des variétés de référence 'Frantoio' (moyennement résistante) et 'Picual' (extrêmement sensible) à l'isolant défoliant de *V. dahliae*. Les plantes ont été inoculées par trempage des racines dans une suspension de conidies de l'agent pathogène. Témoins des plantes ont été traités de la même manière sans l'agent pathogène. La progression de la maladie a été évaluée par l'évaluation de la sévérité des symptômes (défoliation, flétrissement, chlorose et nécrose), en utilisant une échelle de 0-4. La susceptibilité de 'Picual' été confirmé par les valeurs élevées de la sévérité finale (3.9), l'aire sous la courbe de progression de la maladie et le pourcentage (61.6%) et le pourcentage des plantes mortes (100%), avec des symptômes appréciables à la 4^{ème} semaine après inoculation. En revanche, 'Frantoio' été

modérément résistante, avec des valeurs de (1.1, 10.5% y 0%) pour ces paramètres respectivement. Le reste des variétés évaluées sont sensibles à l'isolant défoliant de *V. dahliae*, ce qui est confirmé par les valeurs élevées de la sévérité final, l'aire sous la courbe de progression de la maladie et le pourcentage de plantes mortes. Les paramètres physiologiques ont été évalués que pour les (2) variétés de référence ('Frantoio' et 'Picual'). Teneur en chlorophylle des feuilles a été estimée par une méthode non destructive (SPAD), les feuilles basales montrent une teneur en chlorophylle similaires dans les plantes témoins et inoculés. Toutefois, la teneur en chlorophylle dans les feuilles apicales a montré une légère mais une réduction significative des plantes inoculées, qui est semblable pour les deux variétés et qui est apparu à la 8^{ème} semaine après l'inoculation. La consommation d'eau était plus faible chez les plantes inoculées que chez les plantes contrôles. Cependant, à partir de la 3^{ème} à la 6^{ème} semaine, que coïncidant avec la première phase du développement des symptômes, l'effet est similaire pour les deux variétés, et pourrait être liée à la concentration des thylls, Gommose dans les vaisseaux vasculaires du xylème pour éviter la colonisation de l'agent pathogène. À la 9^{ème} semaine après l'inoculation, l'effet était plus prononcé pour 'Picual' et pourrait être relié à la défoliation élevée. Cette défoliation était associée à la concentration élevée de l'éthylène. La croissance des plantes inoculées a diminué pour les deux variétés, mais cette baisse a été beaucoup plus importante pour 'Picual'. Le poids frais des plantes inoculées était de 60.3% inférieur aux plantes témoins de 'Picual', celui-ci est attribué à la baisse de la croissance des racines des plantes inoculées, l'absence de nouvelles pousses, le dessèchement et la défoliation sévère. En revanche, pour les plantes inoculées de 'Frantoio', la réduction du poids frais était seulement de 21.9% par rapport aux plantes témoins, en raison de différences dans la production de nouvelles pousses.