

RESISTENCIA DE LOS DISTINTOS CULTIVARES EN CONDICIONES DE CAMPO Y EN CONDICIONES CONTROLADAS

# Avances en la resistencia del olivo a la verticilosis causada por *Verticillium dahliae*

La búsqueda e identificación de resistencia en genotipos de olivo es una de las líneas de investigación más esperanzadoras dentro de una estrategia de control integrado para lograr reducir las pérdidas causadas por la VO, y al mismo tiempo permite mantener los recursos de desarrollo de la olivicultura dentro de una estrategia sostenible.

Por ello, muchos de los esfuerzos actuales de los grupos de investigación Patología agroforestal (AGR-216) y Pomología (AGR-649) del departamento de Agronomía de la Universidad de Córdoba, así como de otros grupos de investigación que trabajan sobre el olivo en España y otros países, se están dirigiendo a este fin.

Trapero, C.<sup>1</sup>; Birem, F.<sup>1</sup>; Abho-Sheker, F. M.<sup>1</sup>; Caballero, J.<sup>2</sup>; Mercado, J.<sup>3</sup>; Del Río, C.<sup>2</sup>; Trapero A.<sup>1</sup>; Martos-Moreno, C.<sup>1</sup>; Raya-Ortega, M. C.<sup>1</sup>; Arquero, O.<sup>2</sup>; Serrano, N.<sup>2</sup>; Molina, M.<sup>1</sup>; Alcántara E.<sup>1</sup>; Muñoz-Díez, C.<sup>1</sup>; Rallo, L.<sup>1</sup>; Barranco, D.<sup>1</sup>; Roca, L.<sup>1</sup>; Moral, J.<sup>1</sup>; Blanco-López, M. A.<sup>1</sup> y López-Escudero, F.J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Agronomía, ETSIAM, Universidad de Córdoba. Córdoba.

<sup>2</sup> IFAPA Centro Alameda del Obispo. Córdoba.

<sup>3</sup> Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC. Córdoba.

mientras que tolerancia hace referencia a que determinados genotipos pueden soportar cierto grado de infección en los tejidos sin mostrar síntomas, o con síntomas moderados, pero sin promover acciones contra el patógeno.

En olivo hay disponible una variabilidad genética muy amplia, que podría permitir la identificación de genotipos resistentes tanto en individuos preservados en colecciones (bancos de germoplasma) como en poblaciones naturales de acebuche. Asimismo, se cuenta con proge-

nies de diferentes genitores de cruzamientos y clones avanzados de los programas de mejora actualmente en curso. Los genotipos resistentes seleccionados podrían ser usados directamente como nuevos cultivares, para reemplazar plantas muertas en plantaciones afectadas por la enfermedad, como patrones para las variedades de interés ya existentes, o para ser incorporados como genitores en los programas de mejora que se están desarrollando en algunos de los principales países productores.

**E**l uso de cultivares resistentes es uno de los métodos más efectivos para el control integrado de la verticilosis del olivo (VO), y constituye la principal herramienta de control en el momento de la plantación, además de ser una medida económicamente viable y respetuosa con el medio ambiente. En esta revisión hemos considerado más conveniente emplear el término resistencia en lugar de tolerancia, que en ocasiones es usado de forma arbitraria. La resistencia supone la puesta en marcha por parte de la planta de mecanismos que restringen el desarrollo de la colonización interior de la planta por el patógeno,



## Resistencia de cultivares en condiciones de campo

Las primeras investigaciones sobre resistencia del olivo a VO en campo las realizó Ruggieri en 1946, que informó de la susceptibilidad de varios cultivares, como Bella di Spagna, Nocellara y Ogliarola en Italia. Más tarde, Wilhelm y Taylor (1965) observaron en California que los cultivares Manzanillo, Redding Picholine, varios patrones enanizantes y las especies *Olea ferruginea* y *O. chrysophylla* eran susceptibles a la infección por *V. dahliae* en suelos infestados, encontrando resistencia en algunas plantas de la especie *O. verrucosa*. Más tarde, Wilhelm (1981) resaltó la susceptibilidad de los cultivares Manzanillo, Mission, Obliza y Sevillano. Simultáneamente, investigaciones en Grecia indicaban la susceptibilidad de Konservolia, Kalamon, Manaki, Koutsourelia, Matolia o Megaritiki (Thanassouloupoulos *et al.*, 1979). Recientemente, prospecciones realizadas en algunos de los países de la cuenca mediterránea han informado de la incidencia y severidad de la enfermedad en los principales cultivares de los respectivos países (Erten y Yildiz, 2008; Derwis *et al.*, 2010; Sesli *et al.*, 2010).

España las primeras referencias corresponden a las observaciones realizadas por Caballero *et al.* (1980) en parcelas del Banco Mundial de Germoplasma de Olivo (BMGO) de Córdoba (IFAPA, Alameda del Obispo), en las que los cultivares Kilis Yagliik, Verdial de Huelva, Verdale, Cornicabra y Salonenque mostraron las incidencias más elevadas, aunque los niveles de severidad de la enfermedad detectados fueron variables. Posteriormente, prospecciones sistemáticas en plantaciones de olivo en Andalucía (Blanco-López *et al.* 1984) revelaron la alta susceptibilidad de Picual, Hojiblanca y Manzanilla. Asimismo, observaciones periódicas en una plantación experimental establecida en 1998 en el término de Écija (Córdoba), en un campo con alta densidad de inóculo del patógeno, han permitido confirmar la extrema susceptibilidad de los cultivares Cornicabra, Picual y Picudo; mientras que las reacciones de los cultivares Changlot Real, Empeltre, Frantoio y Oblonga corroboran los niveles elevados de resistencia encontrados en inoculaciones artificiales (**cuadro I**). Sin embargo, aunque el cultivar Arbequina ha sido incluido en el grupo de cultivares susceptibles de acuerdo a su reacción en inoculaciones artificiales con un aislado defoliante (alta virulencia) (López-Escudero *et al.*,

### CUADRO I.

Resistencia de cultivares de olivo al patotipo defoliante de *Verticillium dahliae* en inoculaciones artificiales realizadas por el grupo de investigación Patología Agroforestal del departamento de Agronomía de la Universidad de Córdoba.<sup>a</sup>

Nivel de resistencia <sup>b</sup>	Cultivar <sup>c, d</sup>
<b>Resistente</b>	Changlot Real (3), Dolze Agogia, Empeltre (3), Frantoio (>20), Grosal de Albocafer <sup>1</sup> , Kato Drys <sup>1</sup> , Manzanilla Picúa <sup>1</sup> , Oblonga (8)
<b>Moderadamente resistente</b>	Aggezi Shami-1, Aloreña-1 <sup>1</sup> , Bodoquera <sup>1</sup> , Carrasqueño de Porcuna <sup>1</sup> , Chemlali, Cipresino, Corneja <sup>1</sup> , De Sal <sup>1</sup> , Jlot <sup>1</sup> , Kiti <sup>1</sup> , Koroneiki (4), Maelia <sup>1</sup> , Negrillo de Andujar <sup>1</sup> , Pajarera <sup>1</sup> , Sevillena, Verdial de Vélez-Málaga-1 <sup>1</sup>
<b>Susceptible</b>	Amigdaloia, Arbosana (2), Ascolana Tenera, Athalassa <sup>1</sup> , Azapa, Blanqueta, Carrasqueño de Alcaudete <sup>1</sup> , Coratina, Dokkar, Escarabajuelo de Úbeda, Farga, Figueretes <sup>1</sup> , Flasou <sup>1</sup> , Gordal Sevillana <sup>1</sup> , Kalamon, Kalogerida, Lechín de Sevilla <sup>1</sup> , Llumeta, Lucques, Maurino, Mission Nyeland <sup>1</sup> , Moraiole, Moraiole T. Corsini, Negrillo de Arjona, Nevadillo Negro, Pico Limón de Grazalema, Vallesa, Zarza
<b>Extremadamente susceptible</b>	Arbequina (4), Ayalik, Azul, Borriolenca, Bouteillan, Callosina, Cañivano Negro-1 <sup>1</sup> , Carolea, Carrasqueño de Lucena, Cipresino, Chalchali-1 <sup>1</sup> , Chemlal de Kabilye, Chorrío de Castro del Río, Cobrancosa, Corbella, Cordobés Arroyo de la Luz <sup>1</sup> , Cornicabra, Dulzal, Dulzal de Carmona, Fulla de Zalce, Gordal de Hellín, Hendeño, Hojiblanca, Imperial de Jaén, Leccino, Lechín de Granada, Lucio, Macho de Jaén <sup>1</sup> , Manzanilla, Manzanilla de Jaén, Manzanilla Cacerena, Manzanilla del Piquito, Manzanilla de Sevilla, Megaritiki, Meski, Mission Moojeski <sup>1</sup> , Mollar de Cieza, Morisca, Morona, Nabali, Negral, Negro del Carpio, Nevadillo Blanco de Jaén, Nevado Azul, Ocal, Pajarero, Pendolino, Picholine Marocaine, Picual (>20), Picudo, Rapasayo, Redondilla de Logroño, Royal de Cazorla (3), Valanolia, Verdial de Alcaudete, Villalonga

<sup>a</sup> Fuentes bibliográficas: López-Escudero *et al.*, 2004 y 2007; Martos-Moreno *et al.*, 2006; Raya-Ortega, 2005; Birem, 2009; Abo Shkeers, 2010.

<sup>b</sup> El nivel de resistencia se determinó en función del área bajo la curva de progreso de la enfermedad, el porcentaje de plantas muertas a las 12 semanas después de la inoculación y otros criterios complementarios (forma de la Curva de Progreso de la Enfermedad y recuperación de la enfermedad).

<sup>c</sup> Número entre paréntesis = número de experimentos en los que se ha confirmado el nivel de resistencia en experimentos diferentes. Si no se indica, ésta fue sólo una.

<sup>d</sup> En la mayoría de los casos el método de inoculación se realizó mediante inmersión del sistema radical desnudo de las plantas en una suspensión de  $10^7$  con/ml del patógeno. En los casos en los que se empleó inyección al tronco de una masa de micelio y/o conidias se ha advertido con la llamada "i".

2004), en los árboles de Arbequina en este campo no se ha observado mortalidad ni disminución de cosecha, aunque muestran clorosis generalizada. Esto corrobora que este cultivar en condiciones de campo (presión de enfermedad inferior a la que se someten los cultivares en inoculaciones artificiales) es más resistente que Picual, o el resto de susceptibles, de los que sobreviven actualmente muy pocos individuos.

Otros experimentos de campo en curso corresponden a la colaboración que desarrolla el Grupo Patología Agroforestal con investigadores del IFAPA (Alameda del Obispo, Córdoba) en el marco de la Red Andaluza de Experimentación Agraria. En este sentido, se han establecido recientemente dos extensas parcelas experimentales en los términos de Lebrija (Sevilla, octubre 2009) y Arjona (Jaén, marzo 2010) sobre suelos altamente infestados por *V. dahliae*. En ellos se han plantado catorce cultivares de olivo, en su mayoría españoles, aunque también al-

gunos italianos y griegos, de amplia difusión y de los que ya se tenía información del nivel de resistencia tras su inoculación artificial en condiciones controladas. El objetivo es confirmar la resistencia o susceptibilidad en condiciones de campo y, adicionalmente, obtener información epidemiológica del progreso de la enfermedad. Aunque el tiempo transcurrido desde el establecimiento de estas plantaciones es escaso, los primeros datos de incidencia de la enfermedad en el campo de Lebrija reflejan diferencias entre cultivares que confirman los resultados de inoculaciones artificiales.

## Resistencia de cultivares en condiciones controladas

Los primeros datos acerca de la evaluación de la resistencia de olivo a *V. dahliae* en condiciones artificiales fueron aportados por Hartman



Material vegetal evaluado: estaquillas enraizadas (A), o plántulas de semilla (B), procedentes de cultivares del Banco Mundial de Germoplasma de Olivo (IFAPA, Córdoba) (C), acebuches (D), o semillas de cruzamientos de genotipos de olivo de interés comercial y de *Olea* spp.

et al. (1971) que informaron de la resistencia de Oblonga a un aislado defoliante y de la susceptibilidad de Manzanillo tanto a éste como a otro aislado no defoliante del patógeno. En Italia, Pennisi et al. (1993) confirmaron la moderada susceptibilidad de Carolea y Cipressino, mientras que Cassanese, Nocellara del Belice, Nocellara Etna, Tonda Iblea y Uovo di Piccione resultaron muy susceptibles. En este mismo país se confirmó en inoculaciones similares la resistencia de Frantoio, Coratina y Fragivento en comparación con la extrema susceptibilidad de Ascolana, Cellina y Leccino (Cirulli y Montemurro, 1976). Recientemente, otras investigaciones realizadas en Grecia han demostrado la susceptibilidad moderada de Kalamon y la alta susceptibilidad de Amfissis cuando plantas de dos años de edad eran inoculadas mediante inyección al tronco con un aislado altamente virulento de *V. dahliae* (Antonou et al., 2001). En estos trabajos, Koroneiki, uno de los principales cultivares griegos, ha resultado moderadamente resistente tras ser inoculado por inyección al tronco, aspecto que ha sido confirmado mediante otros métodos de inoculación.

En España, la evaluación a las infecciones

por *V. dahliae* en cultivares de olivo en condiciones controladas ha sido el primer paso en la búsqueda de resistencia. Por ello, durante los últimos quince años, los esfuerzos de nuestros grupos de investigación, con la colaboración de otros grupos de investigación de la Universidad de Córdoba, del IFAPA Alameda del Obispo y del Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), se han dirigido hacia dicho objetivo. La mayor parte de estos trabajos se han centrado en el material del BMGO del IFAPA de Córdoba (Caballero y del Río, 2008), que ha estado continuamente disponible para estas investigaciones. Las primeras evaluaciones las realizó Rodríguez-Jurado (1993) que detalló en la interacción planta-patógeno la susceptibilidad de Picual, al patotipo defoliante (D) y al patotipo no-defoliante (ND) del patógeno, mientras que Oblonga mostraba altos niveles de resistencia a ambos patotipos. Posteriormente, se han evaluado las reacciones de 110 cultivares, nacionales o extranjeros, de interés agrícola y comercial (cuadro I). Los principales resultados muestran altos niveles de resistencia en Empeltre, Frantoio, Oblonga y Changlot Real, cultivares en los que se observa un retraso en el inicio de la epidemia, recuperación de la enfermedad y un

bajo porcentaje de plantas muertas, lo que ha propiciado el uso de estos cultivares por parte de los agricultores en plantaciones con riesgo de infección. No obstante, la gran mayoría de los restantes cultivares evaluados han mostrado un elevado nivel de susceptibilidad a las infecciones por el patógeno, incluyendo las variedades principales españolas como Picual, Hojiblanca, Cornicabra y Arbequina.

En la mayor parte de estas investigaciones se ha tenido en cuenta la variabilidad en la virulencia de los aislados del patógeno, y todos los cultivares resultaron siempre más susceptibles al patotipo D que al ND. En este sentido, algunos cultivares, como Cipresino, Sevillena, Kalamon, o especialmente Koroneiki, han resultado resistentes al patotipo ND y moderadamente susceptibles al patotipo D, por lo que podrían constituir una alternativa de uso en situaciones de bajo potencial de enfermedad en el suelo (aislados no defoliantes y con densidades de inóculo moderadas o bajas) (Martos-

Moreno et al., 2006, López-Escudero et al., 2007).

## Evaluación y mejora de los métodos de inoculación

La selección para resistencia a la verticilosis del olivo, así como para cualquier otra enfermedad de una especie vegetal, es un proceso largo, al ser necesaria la evaluación de una gran cantidad de genotipos. Por ello, la validación y estandarización de métodos de inoculación que puedan proporcionar material resistente de forma fiable, ha sido uno de los principales objetivos en investigaciones recientes, comprendiendo experimentos desarrollados tanto en condiciones controladas como naturales (Blanco-López et al., 1998; López-Escudero et al., 2004; Martos-Moreno et al., 2006; Colella et al., 2008; Traperó et al., 2009; 2010).

Las mejoras más importantes alcanzadas se han centrado en el desarrollo de métodos de inoculación capaces de diferenciar, rápida y efectivamente, reacciones resistentes frente a susceptibles, proporcionar un acortamiento del período de incubación, producir una expresión de síntomas consistente, y permitir trabajar con una gran cantidad de plantas, reduciendo el

# Bioten

Primer fungicida fitosanitario registrado para la  
**verticilosis del olivo**

Inscrito en el Registro Oficial de Productos Fitosanitarios. Nº de Registro: 25.234/19



Control no tratado



Protegido con **Bioten**<sup>®</sup>

**Uso Registrado también en planta de Vivero**

Otras soluciones ISAGRO  para el olivar

**Siapton**<sup>®</sup>

**Rogor**  
L40

*Cuproflow*

  
ISAGRO ESPAÑA

ISAGRO ESPAÑA S.L.  
C/ Maldonado, 63, Esc. C, 2º izq. 28006 Madrid

consumo de espacio y tiempo necesarios para la obtención de resultados. Los resultados más importantes indican que, aunque la inoculación por inmersión de raíces en una suspensión conidial del patógeno ha sido el método más usado en los programas de evaluación de resistencia, otros métodos como el de inyección al tronco también han resultado válidos para establecer diferencias de resistencia, con buenas correlaciones con el primer método (Blanco-López *et al.*, 1998; López-Escudero *et al.*, 2007; Paplomatas y Elena, 2001).

Más recientemente, los esfuerzos han estado dirigidos a reducir el tamaño y la edad del material vegetal inoculado. Así, se han inoculado plantas de semilla muy jóvenes (de tres a cinco semanas) mediante inmersión radical en una suspensión de conidias del patógeno que ha aportado una expresión de síntomas prematura, pero al mismo tiempo muy consistente. Esta metodología está permitiendo la evaluación de grandes cantidades de material vegetal en las primeras etapas o fases del programa de mejora de olivo, lo cual ha posibilitado la selección por resistencia de una parte de este material que continuará siendo evaluado en las siguientes fases (Trapero *et al.*, 2010).

## Selección y mejora del olivo para resistencia a *Verticillium dahliae*

La mejora por resistencia a enfermedades requiere de fuentes genéticas de resistencia amplias, que podrían ser transferidas a las variedades existentes o a nuevos genotipos seleccionados en base a su valor comercial. Las colecciones de germoplasma de olivo existentes en España y otros países, han hecho posible comenzar programas de mejora para la evaluación de varios caracteres agronómicos y elaiotécnicos en olivo. Así, el Programa de Mejora de la Universidad de Córdoba, iniciado en 1991 (Rallo *et al.*, 2005) es seguramente pionero en esta materia, y recientemente ha incluido la selección de genotipos de olivo resistentes a la VO como una prioridad.

En olivo hay disponible una amplia fuente genética, por lo que la selección por resistencia a *V. dahliae*, en el marco de un programa de mejora podría llevarse a cabo mediante el cruzamiento de variedades de olivo de estos bancos previamente identificadas como resistentes en experimentos en condiciones controladas y de campo. Otras fuentes cuya evaluación de la resistencia es imprescindible son poblaciones silvestres de olivo

(acebuche), y especies emparentadas de la familia *Oleaceae* (principalmente del género *Olea*), completando el *pool* de genes relativo al olivo.

Desde que la VO comenzó a considerarse una enfermedad amenazadora se han realizado importantes esfuerzos para encontrar resistencia en variedades cultivadas y acebuches. Wilhelm y Taylor (1965) obtuvieron probablemente uno de los resultados más interesantes de la evaluación de resistencia a *V. dahliae* de plantas de semilla, obtenidas de frutos procedentes de la polinización libre de diez cultivares, así como de frutos de acebuches procedentes de Rusia y norte de África. Después de tres años de evaluación en un suelo infestado, se observó una amplia variabilidad entre plantas, aunque se detectaron genotipos resistentes en las progenies de todas las variedades, incluso en ciertos individuos que provenían de parentales susceptibles como Manzanillo o Mission. Las progenies más resistentes fueron las de Frantoio y Arbequina. De hecho, un descendiente de Arbequina, llamado Allegra, mostró en pruebas posteriores altos niveles de resistencia y fue seleccionado para su posible uso como patrón en suelos infestados (Wilhelm, 1981). En cualquier caso, estos trabajos indicaron que existía una relación entre la resistencia mostrada por un cultivar determinado y la severidad media de la descendencia de las plántulas que provenían de éste y la proporción de individuos que permanecían asintomáticos. Más tarde, en Grecia, Tjamos *et al.* (1985) informaron acerca de los altos niveles de resistencia a la VO de un genotipo que provenía de la autopolinización de Oblonga.

Recientemente, Colella *et al.* (2008) observaron una importante variabilidad en la respuesta de progenies de acebuches procedentes de España e Italia, después de ser inoculados con *V. dahliae*. En algunas de las progenies, todos los individuos resultaron muertos o mostraron niveles intermedios de susceptibilidad, mientras que ciertos genotipos fueron identificados como resistentes para su posterior incorporación a un programa de mejora o como patrones.

De acuerdo con los objetivos mencionados, ya se han iniciado investigaciones para la puesta en marcha de un programa de mejora orientado principalmente a la búsqueda de material resistente a la VO. En la actualidad se están evaluando numerosas plántulas de semilla de olivo provenientes de cruzas



Los experimentos de evaluación de resistencia se desarrollan en condiciones controladas (cámaras o invernaderos) (A); en microparcelas infestadas (B), o en campos experimentales (C). En éstos se realiza la evaluación del desarrollo de la enfermedad de los diferentes genotipos y se estudia la eficacia de combinaciones patrón/injerto (D).

mientos entre variedades, acebuches y especies del género *Olea*. Uno de los resultados principales hasta la fecha ha sido la identificación de genitores de olivo que transmiten a su descendencia un nivel alto de resistencia a la enfermedad, como es el caso del cultivar Frantoio. Todos los genotipos resistentes generados en este programa de mejora serán plantados en un suelo altamente infestado por *V. dahliae*, con el objeto de ser posteriormente evaluados para seleccionar futuros patrones o variedades resistentes a esta enfermedad (Trapero *et al.*, 2010).

En España el acebuche está extensamente distribuido (19.000 ha sólo en Andalucía). Durante los últimos años se han realizado prospecciones y muestreos extensos en Andalucía, Extremadura, Castilla-La Mancha y Cataluña, en zonas que conservan individuos silvestres genuinos, así como las llamadas “formas ferales”: plantas de semilla procedentes de variedades de olivo o de cruzamientos entre material cultivado y genotipos silvestres auténticos. Este *pool* de genes tan diverso es una importante fuente para la identificación de nuevos genotipos resistentes a la VO, por lo que en la actualidad se está llevando a cabo esta búsqueda en material vegetal consistente en estaquillas enraizadas o plántulas de semilla procedentes de los muestreos de acebuche. Hasta el momento, las prospecciones de acebuche realizadas en Andalucía han permitido evaluar 109 individuos mediante estaquillas enraizadas y más de 600 plántulas de semilla, de los que se han seleccionado 126 genotipos de acebuche que han mostrado un nivel elevado de resistencia al patógeno. Asimismo, ha sido posible la identificación de genitores capaces de transmitir a su progenie un nivel elevado de resistencia (Trapero, 2009; Trapero *et al.*, 2010).

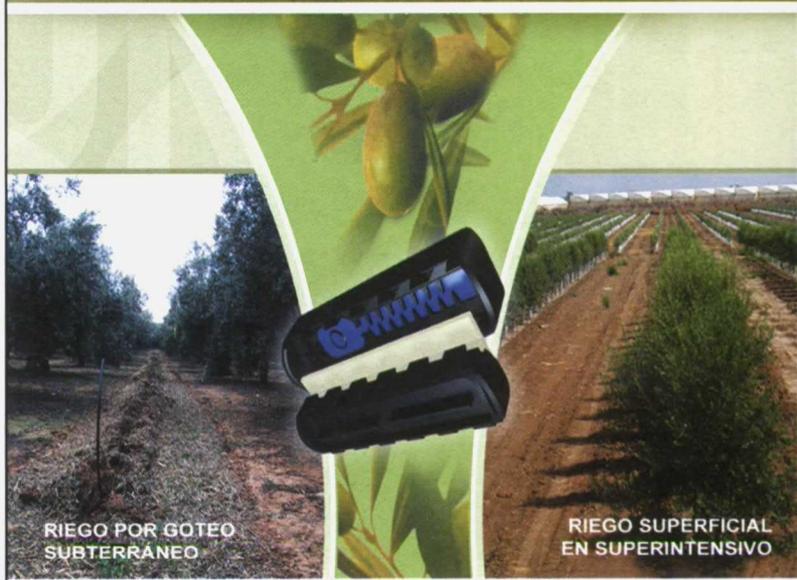
## Factores que influyen en la resistencia

### El potencial del inóculo

La resistencia del olivo está muy influida por la población del patógeno (virulencia y densidad del inóculo), por las condiciones ambientales (temperatura, humedad, tipo y composición microbiana del suelo, etc.) y por el manejo del cultivo. Por ello, la extrapolación de resultados de la resistencia expresada por diferentes genotipos en condiciones controladas o en condiciones concretas de campo debe realizarse con cautela. De hecho, la resistencia observada en alguno de estos genotipos podría resultar profundamente modificada, e incluso superada completamente, en condiciones de alta presión de enfermedad, como por ejemplo la que ocasionarían poblaciones elevadas de aislados virulentos, un ambiente favorable para el desarrollo de la enfermedad prolongado y/o un mal manejo de la plantación.

Con relación al potencial del inóculo, se han realizado experimentos en un recinto experimental de microparcelas (1 m<sup>3</sup> de capacidad) rellenas con suelo artificialmente infestado con el patógeno y plantadas con el cultivar susceptible Picual (López-Escudero *et al.* 2006; López-Escudero y Blanco-López, 2007). Estas investigaciones permitieron establecer un umbral aproximado de 1.0 microesclerocio por gramo de suelo del patotipo D a partir del cual se obtenía una respuesta de susceptibilidad en Picual. En el mismo período, no hubo incidencia de la enfermedad para ningún nivel de inóculo del patotipo ND. Es por tanto necesario establecer los niveles de riesgo en otros cultivares de interés agrícola y comercial para predecir el inicio y desarrollo de

# UniRam



Tel. 902 240 174

regaber@regaber.com

## UniRam

Asegura el riego y fertirriego de calidad y precisión en su olivar.

Asegura la máxima rentabilidad de la inversión.



 **NETAFIM™**

**Regaber**  




Métodos de inoculación: A) inmersión radical en una suspensión de conidias; B) inyección al tronco en diferentes tipos de material vegetal; C) inoculación en cultivo hidropónico; D) inmersión de contenedores completos; E) inmersión radical en una masa de micelio y conidias.

la VO dependiendo del genotipo empleado por el agricultor. En este sentido, resulta de interés el caso del cultivar Arbequina, considerado moderadamente resistente en observaciones de campo, pero que ha resultado muy susceptible al patotipo D en inoculaciones artificiales.

### La interacción patrón/injerto

El uso de patrones resistentes es una de las principales alternativas para el control de la VO, ya que podría suprimir la multiplicación y el movimiento del patógeno y proteger la variedad injertada. A este respecto, Rodríguez-Jurado (1993) mostró que la expresión de enfermedad en un cultivar de olivo susceptible podría estar relacionada con un cierto umbral de cantidad de patógeno en la parte aérea de la planta, reflejada por

la incapacidad de ésta a restringir el crecimiento o la reproducción del patógeno, mientras que las raíces podrían servir como reservorio para el patógeno.

Hartman *et al.* (1971) realizaron experimentos de campo con el propósito de evaluar la reducción de la enfermedad en:

- El cultivar Sevillano injertado sobre las especies *Olea chrysophylla*, *O. ferruginea* y *O. verrucosa*.

- Sobre plántulas de semilla de los cultivares de *O. europaea*, Mission, y Redding Picholine, sobre dos patrones clonales propagados mediante estaquillas (Armstrong A-12 y Oblonga).

- Sobre plántulas de la especie Forestiera neo-mexican, también de la familia *Oleaceae*.

En dichos experimentos, todos los árboles in-

jertados sobre Oblonga permanecieron libres de síntomas durante los dieciséis años de evaluación, lo que sugería que el patógeno no se transmitía a través del injerto. El resto de las combinaciones evaluadas oscilaron de extremada a moderada susceptibilidad. Igualmente, Tjamos *et al.* (1985) indicaron que plantas de Conservolia injertadas sobre un clon de Oblonga mostraban resistencia a la infección por *V. dahliae*, basándose en la ausencia de síntomas y la incapacidad para aislar el patógeno de los tejidos de la planta.

En España, se han realizado observaciones periódicas en el campo experimental de Écija, establecido en 1998. En dicho campo, los injertos realizados con material vegetal de varios cultivares susceptibles (Hojiblanca y Lechín de Granada) o altamente susceptibles (Cornicabra y Picudo) sobre Oblonga, Frantoio o Empeltre presentan después de doce años una incidencia muy baja (<5%), mientras que los mismos cultivares susceptibles sobre su propio pie han alcanzado niveles de enfermedad superiores al 80%.

Por otra parte, en inoculaciones artificiales realizadas en condiciones controladas, existen pocos estudios que confirmen la reducción de la enfermedad en cultivares susceptibles cuando se injertan sobre cultivares resistentes. Uno de estos trabajos sugiere que el patrón Oblonga confiere resistencia al cultivar Cornicabra en inoculaciones por inmersión radical con un aislado defoliante del patógeno (Porras Soriano *et al.*, 2003).

### La recuperación natural de las plantas enfermas

Otro de los aspectos que tiene un papel relevante en la resistencia en condiciones de campo es el fenómeno natural de la recuperación, que ocurre habitualmente en árboles que han desarrollado síntomas temporalmente durante una estación de crecimiento. En olivo, la recuperación natural se ha observado en campo en plantaciones comerciales o experimentales en diversos países (Wilhelm y Taylor, 1965; Vigouroux, 1975; Blanco-López *et al.*, 1990; Tjamos *et al.*, 1991; López-Escudero y Blanco-López, 2001). Igualmente se ha evaluado y cuantificado en plantones de olivo de un año de edad inoculados en condiciones controladas (López-Escudero y Blanco-López, 2005).

La recuperación se ha explicado por la respuesta activa del árbol, en el que la compartimentalización del xilema, y la actividad cambial, posibilitan la producción de nuevas capas de tejido para reemplazar el xilema antiguo o enfer-



# BROTOMAX

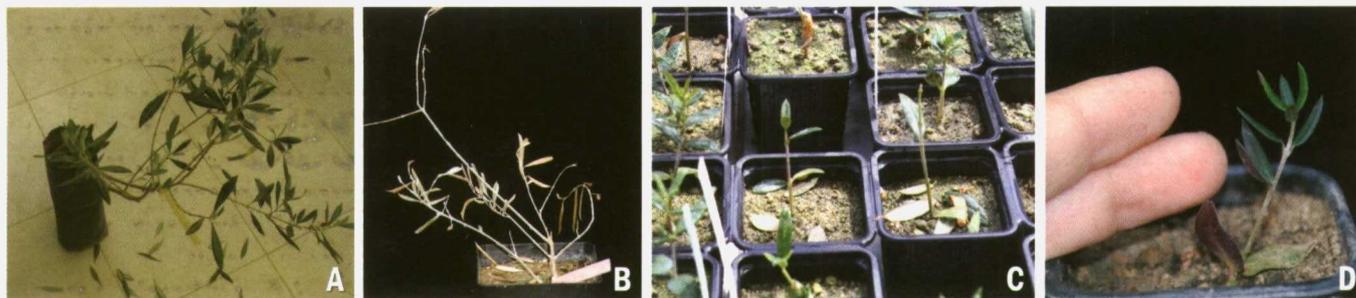
**INDUCTOR DE AUTODEFENSAS**

más de  
**25**  
años  
acercando  
la investigación  
al agricultor



**AGROMÉTODOS, S.A.**

TEL.: 91 352 43 96 • [www.agrometodos.com](http://www.agrometodos.com)



Síntomas en plantas de olivo tras su inoculación en experimentos de evaluación de resistencia: defoliación de estaquillas enraizadas de un año (A, B) y marchitez, defoliación y desecación de plántulas jóvenes de semilla (C, D).

mo y facilitar la recuperación de la planta (Shigo, 1984). En este sentido, Wilhelm y Taylor (1965) y Tjamos *et al.* (1991), indicaron que la parte aérea de los árboles de olivo afectados por la VO están sometidos a infecciones estacionales y transitorias por *V. dahliae*, lo que podría suponer que para que ocurra un nuevo desarrollo de síntomas tras un periodo de recuperación serían necesarias nuevas infecciones.

Este fenómeno ocurre frecuentemente en plantaciones comerciales en España y parece jugar un papel importante en la superación estacional de las infecciones por el patógeno, especialmente en plantaciones de árboles jóvenes (Blanco-López *et al.*, 1990, López-Escudero y Blanco-López, 2001). En estos estudios se observó con frecuencia una remisión estacional de los síntomas, que además se veía claramente favorecida por la aplicación de solarización del suelo alrededor de los árboles con el objetivo de reducir el inóculo del patógeno.

Por otra parte, se ha observado que la recuperación depende marcadamente de la virulencia de los aislados del patógeno en el suelo, siendo más prevalente en suelos con bajas densidades de inóculo de aislados no defoliantes. Asimismo, en inoculaciones artificiales el porcentaje de plantas recuperadas inoculadas con un aislado no defoliante fue mucho más alto (62,7%), que en las inoculadas con el defoliante (18,3%) (López-Escudero y Blanco-López, 2005). La recuperación natural también ha sido asociada con el nivel de resistencia del cultivar empleado. Este hecho es particularmente importante en Andalucía, ya que el control integrado y la predicción del riesgo de la VO están basados principalmente en el uso de cultivares resistentes, cuyo éxito estaría profundamente condicionado por la presencia y extensión de aislados defoliantes en las nuevas plantaciones (López-Escudero y Blanco-López, 2001; López-Escudero *et al.*,

2004). En cualquier caso, la recuperación es difícil de evaluar ya que está ligada a infecciones asintomáticas y a variaciones discontinuas y estacionales en la facilidad para aislar al patógeno de los tejidos de las plantas infectadas. Así, en olivo, la variabilidad en los aislamientos del patógeno con el tiempo indica que, en ausencia de infecciones continuas, el patógeno puede resultar confinado en el tejido vascular y presumiblemente inactivado o muerto (Wilhelm y Taylor, 1965; Rodríguez-Jurado, 1993; López-Escudero y Blanco-López, 2005).

## Naturaleza de la resistencia

Las verticilosis son enfermedades vasculares en las que el patógeno coloniza el xilema de las plantas e impide la translocación de agua y nutrientes. La infección dentro del xilema puede estar limitada por mecanismos de resistencia de tipo estructural (deposiciones de lignina, geles, gomas y tilosas) y/o bioquímico (fitoalexinas, compuestos fenólicos, etc.), que previenen la colonización por el patógeno de forma parcial o completa. Estos mecanismos son casi desconocidos en el caso de la VO.

Recientemente, se han iniciado estudios sobre la relación entre la anatomía del xilema y la resistencia. Así, Molina (2010) ha descrito diferencias anatómicas relacionadas con el transporte de agua o la posible interferencia con la colonización del patógeno en el xilema, en plantas sin inocular de diferente nivel de resistencia a la VO. Entre los parámetros estudiados, Frantoio (resistente) presenta una mayor área conductora en el tejido xilemático que Picual (susceptible), debido fundamentalmente al aumento del número de vasos y su superficie. Este hecho podría explicar en parte la resistencia y recuperación natural que manifiesta este cultivar a la enfermedad. En

cualquier caso, estas diferencias anatómicas constitutivas, y aquellas otras que puedan inducirse en las plantas durante las infecciones, deberán ser investigadas en futuros trabajos que incluyan la inoculación con el patógeno.

Otro aspecto de la resistencia a la VO cuyo estudio se ha iniciado recientemente es la inducción de resistencia mediante compuestos químicos o microorganismos. En 2003, Del Río *et al.* demostraron que la aplicación de Brotomax en plantas produce un incremento de los compuestos fenólicos en hojas y brotes. Además, los compuestos fenólicos de plantas de Picual infectadas naturalmente por *V. dahliae* presentaron actividad antifúngica (Báidez *et al.*, 2007). En cualquier caso, se desconoce por el momento si cultivares de olivo con diferente nivel de resistencia a *V. dahliae* muestran diferencias en sus perfiles cualitativos y cuantitativos de compuestos fenólicos. También se han descrito aislados no patogénicos de *V. dahliae* que protegen a plantones de olivo, interfiriendo o induciendo resistencia frente a la infección posterior con aislados más virulentos. Como consecuencia, se produce una menor cantidad de enfermedad que en las plantas no inoculadas previamente (Martos-Moreno, 2003). En la actualidad, en colaboración con el departamento de Protección de Cultivos del IAS-CSIC, estamos realizando experimentos de control biológico que incluyen estudios de inducción de resistencia a la VO mediante la inoculación con cepas de *Pseudomonas* spp.

Otros aspectos fisiológicos relacionados con la resistencia de olivo a *V. dahliae* que están siendo estudiados comprenden alteraciones fisiológicas durante el progreso de la enfermedad en condiciones de ambiente controlado en plantas de cultivares con diferente nivel de resistencia (Frantoio, resistente, y Picual, susceptible) inoculadas con un aislado defoliante del patógeno (Birem, 2009). ●