

Aplicación de la solarización para el control de la verticilosis del olivo en plantaciones establecidas

F. J. LÓPEZ ESCUDERO, M. A. BLANCO LÓPEZ

Se han realizado 4 experimentos de solarización en 3 plantaciones comerciales de olivo infestadas con *Verticillium dahliae* en Andalucía. En 3 de los experimentos la solarización se aplicó a filas de árboles y, en el cuarto, a árboles individuales. Las plantaciones mostraban inicialmente diferentes densidades de inóculo del patógeno en el suelo. Los estudios previos indicaron que en el Experimento I, localizado en Marinaleda, se hallaban presentes aislados del patógeno altamente virulentos (defoliantes), por lo que este estudio representa la primera cita de este tipo de aislados afectando olivares comerciales de Europa. Los tratamientos de solarización se aplicaron a las líneas de árboles durante un año (solarización única) o dos años consecutivos (solarización doble). La solarización redujo significativamente la población del patógeno en los primeros 20 cm del suelo durante los 3 años de estudio en relación con las parcelas testigo. La reducción del patógeno después de la solarización única enmascaró los efectos del tratamiento de solarización doble. La reducción de la densidad de inóculo en el suelo mediante solarización no se correspondió con una reducción similar de la enfermedad. No obstante, la severidad de la enfermedad se redujo significativamente en las plantaciones con medias o altas densidades de inóculo iniciales. El segundo tratamiento de solarización no mejoró el efecto de la solarización única en el control de la verticilosis. En plantaciones con bajas densidades de inóculo, la solarización no resultó en diferencias significativas en la incidencia y severidad de la enfermedad, pero mejoró la recuperación de los árboles frente a la enfermedad. Las parcelas solarizadas se mantuvieron libres de malas hierbas y los árboles solarizados no mostraron un incremento significativo en su crecimiento medido en función del perímetro de tronco.

F. J. LÓPEZ ESCUDERO, Y M.A. BLANCO LÓPEZ, Departamento de Agronomía, ETSIAM, Universidad de Córdoba, Apdo. 4240, 14080 Córdoba.

Palabras clave: *Verticillium dahliae*, solarización, olivo, verticilosis.

INTRODUCCIÓN

La Verticilosis del Olivo (VO), causada por *Verticillium dahliae* Kleb., fue observada por primera vez en España en 1975 (8). Desde esta fecha, la enfermedad se ha extendido al tiempo que aumentaba la superficie de cultivo (7, 18, 30). El principal factor que ha contribuido al incremento de la verticilosis ha sido el establecimiento de las plantaciones en suelos previamente cultivados con huéspedes del patógeno (1, 5, 10, 34, 39, 48), sin que se le pueda restar importancia a

otros medios de transmisión del agente, como el uso de plantones infectados, el agua de riego o los aperos de labranza infestados (11, 33, 38, 40). La extensión de los aislados defoliantes de las Marismas del Guadalquivir a otras zonas en el Valle del Guadalquivir (3) representa una grave amenaza para las nuevas plantaciones de olivo que están estableciéndose en esta área.

La solarización es una técnica efectiva para reducir la densidad de inóculo (DI) de *V. dahliae* y otros patógenos de suelo y controlar la marchitez causada por este

Tabla 1.—Características agronómicas de las parcelas experimentales en las plantaciones de olivo.

Características	Parcela experimental (localización)		
	Exp. I (Marinaleda)	Exp. II y IV (Zambra)	Exp. III (Lora)
Fecha de plantación	1993	1991	1987
Cultivar	Hojiblanca	Picual	Picual
Marco	8x8	7x7	7x7
Material de plantación	plantas del propio agricultor	plantas de vivero	plantas de vivero
Cultivos previos	Trigo-girasol (rotación hasta 1989), algodón (1990-92)	Espárrago, ajo (hasta 1991); patata (entre olivos 1991-1992)	Alfalfa 1985-87
Textura	Arcilloso-limoso	Arcilloso	Franco-arenoso
Sistema de riego	A pie, 5 a 6 veces/año 100 a 200 litros por árbol	A pie/aspersión	Goteo 1 vez/sem; de 15 litros por árbol (Febrero) a 60 litros/árbol (Junio)
Inicio síntomas	Febrero 1994	Abril 1994	Octubre 1994
Incidencia inicial	21 %	15 % (variable)	30 a 40 %
Cultivos vecinos	Algodón, trigo, girasol	Olivo, cultivos hortícolas	Pistacho, encina, alcornoque, pastos

agente en huéspedes herbáceos (19, 25, 27, 34). También se ha aplicado en huéspedes leñosos afectados tanto por *V. dahliae* (2, 36, 42) como por otros hongos de suelo (24, 37). La eficacia de esta técnica parece ser, sin embargo, inferior en huéspedes leñosos que en herbáceos, debido principalmente al inóculo residual que permanece viable tras la aplicación de los plásticos (2, 42). Aunque existen numerosos experimentos para investigar el efecto a corto y a largo plazo de la solarización sobre enfermedades (2, 12, 13, 14, 20, 21, 42, 44, 45), no hay información disponible acerca de su aplicación de una forma consecutiva. Por ello, en este trabajo se presentan resultados sobre la eficacia de la solarización aplicada en un año (solarización única) o en dos años consecutivos (solarización doble) para el control de la VO en plantaciones de olivo ya establecidas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Parcelas experimentales y tratamientos de solarización

Se han realizado 4 experimentos (I a IV) durante los años 1994 a 1997 en 3 planta-

ciones localizadas en Andalucía: Marinaleda (Exp. I) en la provincia de Sevilla, Nacimiento de Zambra (Exp. II y IV) en la provincia de Córdoba, y Lora del Río (Exp. III) en la provincia de Sevilla. Las características agronómicas de las plantaciones aparecen en la Tabla 1. Los Exp. I, II y III consistieron en la solarización de filas de árboles y los tratamientos consistieron en solarización única o doble. La solarización se aplicó la primera vez durante el verano de 1994 en los Exp. I y II, y de 1995 en el Exp. III. En cada experimento, la solarización se aplicó al azar en la mitad de las filas de árboles que componían la parcela experimental. La segunda solarización se aplicó al siguiente año sobre la mitad de los árboles que habían sido solarizados el año anterior, tomados dentro de cada fila, de forma consecutiva.

Los experimentos fueron en bloques al azar desequilibrados en relación con el número de árboles tratados (5 a 12 árboles por bloque) con 5 (Exp. II) o 6 (Exp. I y III) repeticiones. El Exp. IV consistió en la solarización de árboles individuales, y se realizó en 2 zonas a ambos lados del Exp. II, en la misma plantación, seleccionando los árboles con diferentes niveles de severidad. En este experimento, la solarización sólo se aplicó

una vez, en el verano de 1995, sobre 34 árboles. Independientemente del experimento, la solarización tuvo lugar durante un período de 5 a 8 semanas, a partir de julio.

Solarización

Las superficies de las parcelas experimentales se limpiaron mecánicamente de malas hierbas, restos vegetales y piedras para evitar que las láminas de plástico resultaran dañadas. Paralelamente y a 3 m de las filas de árboles que iban a ser solarizadas y, según los experimentos, se realizó un surco a mano, con vertedera simple o motocultor (Fig. 1). Antes de solarizar, las parcelas se regaron con una dosis media de 30-40 l/m² usando el sistema de riego instalado en cada plantación (riego por aspersión en los Exp. I y II; riego por goteo en el Exp. III). En el Exp. IV, los árboles se regaron a pie con una dosis de 500 litros por árbol.

En todos los casos se alcanzó un humedecimiento del perfil cercano a la capacidad de campo. Después de 2 días de oreo, se extendieron a ambos lados de las filas de árboles 2 láminas de polietileno transparente de 3 m de anchura y 50 µm (200 galga) de espesor y una densidad de 112.5 gr/m² (Fig. 2 y 3). Las 2 láminas, solapadas en el centro de cada fila de árboles, se cosieron con grapas entre sí y a la base del tronco (Fig. 3 y 4). Por último, los laterales de la banda de plástico se fijaron al suelo mediante aporcado, en las zanjas o surcos practicados a los lados de las filas de árboles, para asegurar los plásticos y mantener la temperatura y la humedad (Fig. 5). En el Exp. IV, se extendieron 2 láminas de 3x6 m a ambos lados de cada árbol (Fig. 6), y fueron grapadas y fijadas de la misma forma que se ha descrito anteriormente. Con el fin de reducir la mezcla de suelo entre las parcelas acolchadas y los testigos sin solarizar, después del período de solarización el suelo se aró sólo cuando fue necesario. Con el mismo propósito, las malas hierbas se controlaron mediante herbicida (glifosato 2-4 l/ha) en otoño y/o primavera cuando su población fue elevada.



Fig 1.-Surcos practicados con motocultor para fijar los laterales de las láminas de plástico al terreno.



Fig 2.-Fila de árboles tras el riego preparada para la aplicación de las láminas de polietileno.



Fig 3.-Láminas de polietileno completamente extendidas, cosidas entre sí y fijadas al cuello de los árboles. Los márgenes de éstas se introducen en el surco y se entierran.

Temperatura del suelo

La temperatura del suelo fue registrada durante la solarización dos veces al día, mediante un termómetro simple de aguja a la profundidad de 20 cm. Las lecturas se realizaron entre las 7 y 8 h, por la mañana, y en-



Fig 4.-Grapado de las láminas de plástico en el sentido perpendicular a las filas de árboles.



Fig 5.-Solarización de filas de árboles en el Exp.II de Nacimiento de Zambra.

tre las 13,30 y 18 h, por la tarde, dependiendo del experimento. En el Exp. III durante la segunda solarización en 1996, las temperaturas se midieron continuamente utilizando un registrador automático de datos (modelo Licor LI-1000), provisto de 8 termistores para tomar 2 lecturas en cada tratamiento a las profundidades de 15 y 30 cm.

Densidad de inóculo de *V. dahliae* en el suelo

En todos los experimentos se determinaron las poblaciones del patógeno antes (julio) e inmediatamente después de la solarización (septiembre). Se tomaron muestras de suelo de 200 g de los primeros 25 cm de suelo a lo largo de las filas de árboles a 30 cm del tronco utilizando una barrena cilíndrica. En el Exp. IV, las submuestras se reco-



Fig 6.-Solarización individual de árboles.

gieron de cada uno de los 34 árboles solarizados individualmente, y de un número similar de árboles no solarizados situados junto a los primeros. Las submuestras de cada fila en las parcelas experimentales se desmenuzaron manualmente y se mezclaron, obteniendo una muestra por bloque y se trataron. Las muestras de suelo se secaron durante 4 semanas a temperatura ambiente. Cada muestra se cribó a través de un tamiz de 0.8 mm para eliminar los restos orgánicos y partículas de mayor tamaño, y el residuo se mezcló manualmente y se secó 1 semana más a temperatura ambiente. La DI de *V. dahliae* se estimó mediante una modificación de la técnica del Tamizado Húmedo (23). La DI de cada muestra se determinó como el número de colonias obtenidas de *V. dahliae*, asumiendo que cada una de éstas se forma a partir de la germinación de un microesclerocio presente en la muestra, expresándose el resultado final en microesclerocios por gramo de suelo seco (MSpgs).

Progreso de la enfermedad, crecimiento de los árboles y caracterización del patógeno

La incidencia y la severidad de síntomas se estimó utilizando una escala de 1 a 5 de acuerdo al porcentaje de tejido afectado por alguno de los siguientes síntomas: clorosis, necrosis y/o defoliación (1=ausencia de síntomas; 2=1-33%; 3=34-66%; 4=67-99%; 5=planta muerta). Al final de los experimentos, se estimó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) como un porcentaje respecto al máximo valor posible

Tabla 2.-Efecto de los tratamientos de solarización en la temperatura del suelo en los diferentes experimentos.

		Registro de temperaturas ^a			Temperaturas máximas ^b		Diferencia de temperatura ^c	
		Profundidad						
Año	Exp.	(cm)	período	Hora	Solarizado	No solarizado	Mínima	Máxima
1994	I	15	28 Jul-19 Ago	7.30/15.00 h	36.3	29.9	4.5	7.9
	II	15	27 Jul-9 Sep	8.00/18.00 h	45.0	33.9	8.0	12.0
1995	I	15	2-19 Ago	7.00/13.30 h	39.0	32.8	5.0	8.0
	II	15	3-17 Ago	8.00/18.00 h	42.7	33.3	8.5	10.3
	III	15	3 Ago-16 Sep	7.00/17.00 h	43.5	34.9	5.1	9.0
	IV	15	3-17 Ago	8.00/18.00 h	42.7	33.1	8.9	10.1
1996	III	15	19 Jul-9 Sep	Continuo	40.7	33.7	2.3	9.2
		30	19 Jul-9 Sep	Continuo	35.6	31.6	1.6	6.3

^a La temperatura (°C) fue registrada a 15 cm de profundidad, dos veces diarias durante diferentes periodos. En el Exp. III, en 1996, las temperaturas se registraron continuamente a 15 y 30 cm de profundidad mediante un registrador de datos.

^b Las temperaturas (°C) son valores máximos registrados en las parcelas solarizadas y los valores correspondientes en las parcelas no solarizadas, a la misma hora de registro

^c Los valores representados son las diferencias máximas y mínimas (°C) entre valores de temperaturas en parcelas solarizadas y no solarizadas a la misma hora de registro.

en el período considerado, de acuerdo con la fórmula basada en Campbell y Madden (9).

$$ABCPE = [t/2 * (s_1 + 2*s_2 + \dots + 2*s_{i-1} + s_i) / 5 * n] * 100$$

(t = intervalo en días entre observaciones; s_i = severidad media final; 5 = máximo valor de severidad; n = número de observaciones)

El crecimiento de los árboles se estimó cada 4 meses midiendo el perímetro del tronco a 30 cm sobre el nivel del suelo. La infección de las plantas se confirmó durante el período de observación mediante aislamientos del patógeno de brotes afectados, y de todas las plantas muertas. Los aislados así obtenidos se caracterizaron, analizando la morfología de los microesclerocios sobre el medio de cultivo agar agua (3, 32). Además, estos aislados se confirmaron molecularmente como defoliantes o no defoliantes mediante RAPD-PCR (26) y mediante pruebas de patogenicidad realizadas sobre cultivares de algodónero (6,7).

RESULTADOS

Temperatura del suelo

La solarización aumentó la temperatura del suelo en todos los experimentos en rela-

ción con los testigos no solarizados, aunque el incremento dependió de los años y de los experimentos (Tabla 2). La diferencia de temperaturas entre los valores máximos registrados en parcelas solarizadas y los correspondientes valores en parcelas no solarizadas variaron entre 1.6 a 12.0 °C (Tabla 2). Las diferencias más altas se registraron en el Experimento II en 1994 (mínimo 8.0 °C y máximo 12.0 °C), con una temperatura máxima alcanzada en las parcelas solarizadas de 45 °C. En este campo, donde se hallaban localizados los Experimentos II y IV, las temperaturas en 1995 fueron muy similares entre ellos. En el Experimento I, las temperaturas máximas alcanzadas en las parcelas solarizadas fueron más bajas (36.3 °C y 39.0 °C en 1994 y 1995, respectivamente). En el Experimento III se alcanzaron también incrementos de temperatura considerables en los tratamientos solarizados, con temperaturas máximas más altas en 1995 (43.5°C) que en 1996 (40.7 °C) a 15 cm de profundidad (Tabla 2).

Síntomas, progreso de la enfermedad y caracterización del patógeno

Los síntomas de la enfermedad fueron similares en las parcelas solarizadas y no so-

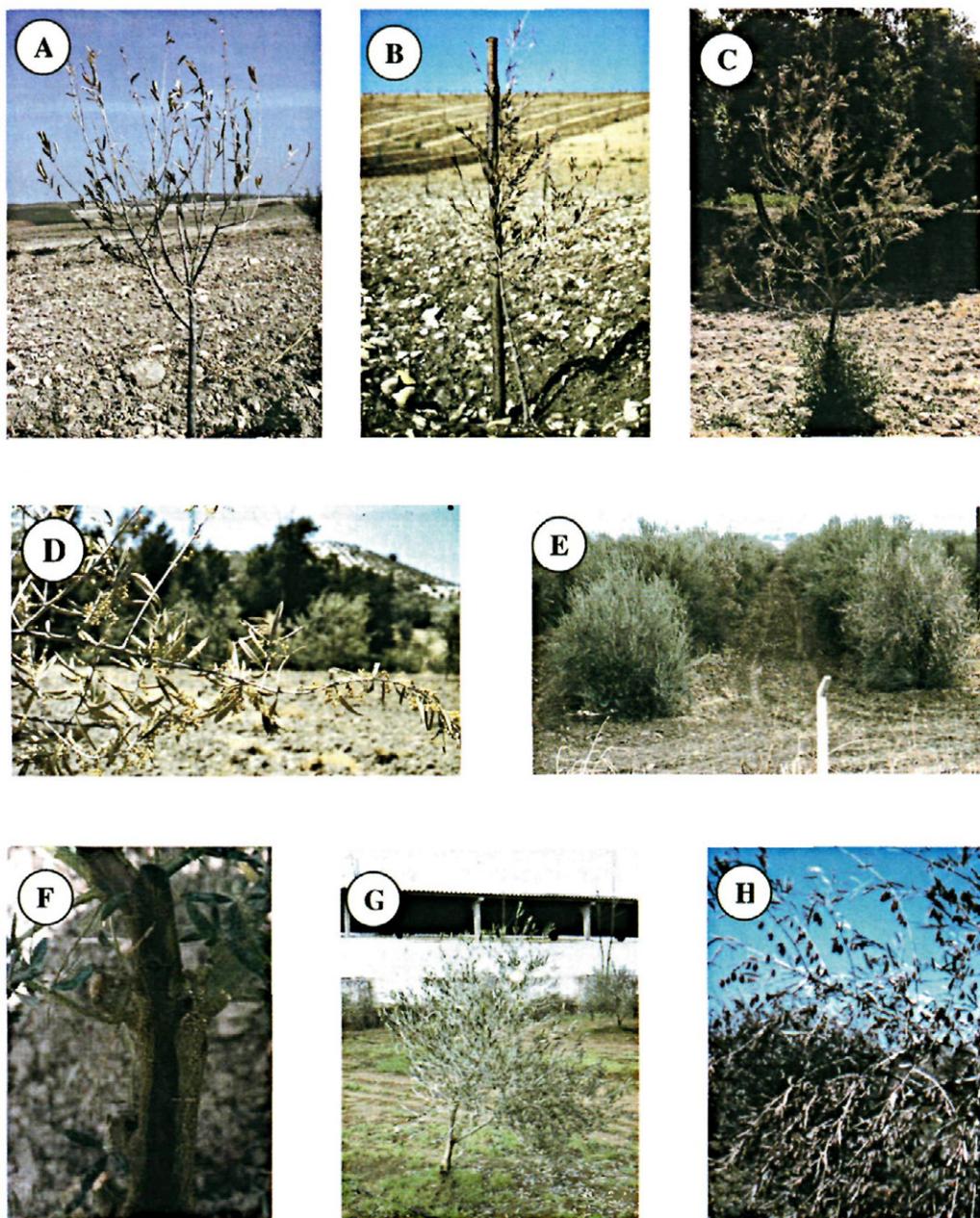


Fig. 7. Tipos de síntomas en árboles afectados por Verticilosis. (A) muerte por decaimiento lento (Exp. I) ; (B) planta con apoplejía a los 2 meses del replanteo en el Exp. I; (C) emisión de chupones tras la necrosis generalizada de la parte aérea en un árbol del Exp. II; (D) árbol con decaimiento lento (Exp. II); (E) plantación del Exp. III con árboles afectados simultáneamente por apoplejía y decaimiento lento; (F) recuperación vegetativa en un árbol infectado por el patotipo no defoliante de *V. dahliae*, con formación de nuevo sistema vascular alrededor de las lesiones necróticas antiguas del tallo principal en el Exp. II; (G) defoliación en verde (decaimiento lento) en el Exp. III; (H) necrosis rápida tardía con momificado del fruto (Exp. III).

larizadas, pero variaron con los experimentos (Fig. 7) En el Exp. I, los primeros síntomas se desarrollaron poco después de la plantación (Fig. 7A) (otoño de 1994 y en la primavera de 1995) con la muerte repentina de plantas jóvenes así como de las nuevas replantadas (Fig. 7B). En este olivar *V. dahliae* se aisló fácilmente de los tejidos afectados de las plantas. En los Exp. II y IV, la incidencia de la enfermedad fue baja durante el período experimental, y la clorosis fue el síntoma más comúnmente observado en los árboles enfermos, aunque también se observaron necrosis generalizadas (Fig. 7C) y momificado de inflorescencias (Fig. 7D). En esta plantación, la recuperación de la enfermedad fue también común, e incluyó la producción de nuevo tejido vascular alrededor de las lesiones necróticas antiguas en los árboles recuperados, con nuevos crecimientos vegetativos en los brotes y ramas que llegaban a cubrir completamente las necrosis anteriores (Fig. 7F). Numerosas plantas enfermas presentaron chupones partiendo de la base de los troncos (Fig. 7C). El progreso de la enfermedad en el Exp. III estuvo caracterizado por la presencia de los síndromes del decaimiento lento y apoplejía en el mismo árbol (Fig. 7E). En el otoño (octubre-noviembre) de 1995 y 1996, los árboles que habían mostrado un buen crecimiento la primavera anterior, resultaron afectados por la verticilosis. Los síntomas consistieron en defoliación (Fig. 7G) y necrosis foliares que afectaron parcial o totalmente a los árboles, y causaron momificado de frutos (Fig. 7H).

Los aislados de *V. dahliae* de plantas afectadas en agar agua mostraron una mezcla de microesclerocios alargados y redondeados (Exp. I) o sólo redondeados (Exp. II y III). Sólo los aislados del Exp. I fueron caracterizados como defoliantes de acuerdo a los análisis RAPD-PCR, mientras que los aislados de los Exp. II y III correspondieron al patotipo no defoliante. Las pruebas de patogenicidad sobre cultivares de algodónero confirmaron los resultados obtenidos mediante PCR.

Efecto de la solarización en la densidad de inóculo de *V. dahliae*

La solarización redujo la DI de *V. dahliae* a niveles no detectables o muy bajos dependiendo del experimento y del año (Fig. 8). En el Exp. I, la población del agente en los suelos no solarizados varió de 14.1 (julio 1995) a 28.6 MSpgs (septiembre 1996) (Fig. 8A). La primera solarización redujo la DI a niveles bajos (1.1 MSpgs, septiembre 1994), manteniéndose hasta el verano siguiente que incrementó a niveles considerables (Fig. 8A), en tanto que la segunda solarización en 1995 evitó el incremento detectado en los tratamientos solarizados sólo una vez y en los controles.

En el Exp. II, la dinámica de la población siguió una tendencia similar a la del Exp. I (Fig. 8B), pero los incrementos en la DI fueron evitados tanto por la solarización única como por la doble hasta el final del experimento (Fig. 8B).

En el Exp. III, el patógeno no fue detectado en el suelo antes de la solarización. Sin embargo, después de la primera solarización, la DI de las parcelas no solarizadas alcanzaron un valor muy alto de 13.3 MSpgs (Fig. 8C). No se observaron diferencias significativas entre la solarización simple o doble, y en ambos casos la DI del agente fue reducida drásticamente por la solarización a valores no detectables, y permaneció en estos niveles durante todo el período de los experimentos (Fig. 8C).

En el Exp. IV, la reducción de la DI desde julio a septiembre debido a la solarización de árboles individuales (4.2 a 0.3 MSpgs) fue consistente y significativamente diferente a la evolución entre estas dos fechas de las parcelas no solarizadas (3.2 a 5.2 MSpgs). Desde este momento, las diferencias entre ambos tratamientos comenzaron a disminuir entre árboles solarizados/no solarizados (0.5/2 en julio 1996; 0.7/2.6 MSpgs en septiembre 1996).

Efecto de la solarización sobre el progreso de la enfermedad

El efecto de la solarización sobre el desarrollo de la enfermedad no tuvo un resultado uniforme en todos los experimentos. El

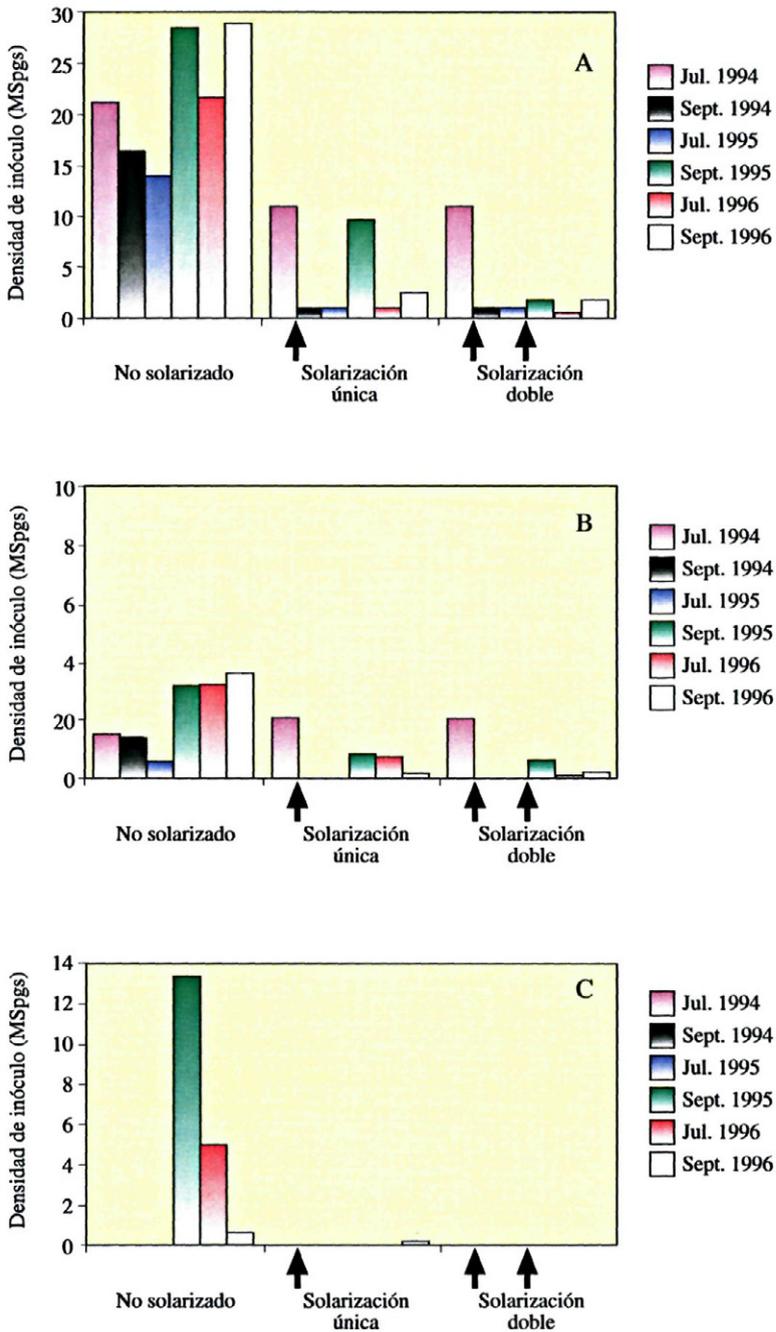


Fig. 8.—Evolución de la densidad de inóculo de *V. dahliae*, en microesclerocios por gramo de suelo seco (MSpgs), en los experimentos de solarización: A) Exp. I; B) Exp. II; C) Exp. III.

efecto reductor de la solarización sobre la DI de *V. dahliae* no se correspondió con una reducción similar en la enfermedad (Tabla 3, Fig. 9 y 10). La incidencia de la enfermedad fue reducida en menor grado que la severidad y, en el Exp. II, con valores bajos de enfermedad, la solarización no redujo ninguno de los parámetros analizados con relación al testigo (Tabla 3 y Fig. 9B y 10B). Sin embargo, en los Exp. I y III, con valores de enfermedad superiores, la incidencia y/o severidad de la enfermedad se redujo en alguno de los tratamientos de solarización (Tabla 3 y Fig. 9A, 9C, 10A, 10C).

El progreso de la incidencia de la enfermedad en el Exp. I mostró que sólo un año después de la primera solarización, la VO afectaba aproximadamente al 80% de los árboles independientemente del tratamiento (Fig. 9A). Sin embargo, en esa fecha la severidad había disminuido en las parcelas solarizadas (Fig. 10A). En el Exp. II, la incidencia de árboles afectados y su severidad de síntomas permaneció a niveles bajos durante el período de estudio y no se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 3, Fig. 9B y 10B). En el Exp. III, la incidencia de enfermedad en las parcelas no solarizadas, aumentó desde valores iniciales del 40% al 93.0% (Fig. 9C). En los tratamientos solarizados, la incidencia también aumentó, pero después de Mayo de 1996, unos 8 meses después de la primera solarización, se estabilizó, y aunque no se llegaron a observar diferencias entre una y dos solarizaciones consecutivas, los valores finales de enfermedad de la media entre ambos tratamientos de solarización si fueron diferentes estadísticamente de los testigos (Tabla 3, Fig. 9C). Igualmente, el progreso de la severidad de la enfermedad en las parcelas solarizadas fue menor que en los controles, pero no se observaron diferencias significativas entre el número de tratamientos de solarización aplicados (Tabla 3, Fig. 10C).

En el Exp. IV, la incidencia inicial antes de la solarización fue del 56.2%, llegando a alcanzar valores del 75% en octubre de 1995 y Mayo de 1996. Sin embargo, después de

este momento, se detectó una continua recuperación de la enfermedad hasta la primavera de 1997, reduciéndose al 41.7% los árboles que exhibían marchitez.

Efecto de la solarización en el crecimiento de los árboles y en el control de malas hierbas

La medida del perímetro de tronco no reveló diferencias significativas entre los tratamientos de solarización en ninguno de los experimentos. Sin embargo, en el Exp. III, el perímetro de tronco en las parcelas solarizadas dos años consecutivos fue 14.0% mayor que en árboles no solarizados (Tabla 3).

La solarización fue muy efectiva en el control de malas hierbas, especialmente en el Exp. I, donde el suelo permaneció libre de hierbas hasta al menos la primavera siguiente después de la primera solarización (Fig. 11). En el Exp. II, *Portulaca oleracea* y *Juncia olivaris* crecieron en grupos localizados bajo las láminas de plástico en las zonas más sombreadas, especialmente en la cara norte de los árboles.

DISCUSIÓN

Los síntomas de la VO observados en las parcelas experimentales fueron similares a los previamente descritos por otros autores (10, 31, 47), aunque su desarrollo dependió del experimento. En el Exp. I, los primeros síntomas se observaron durante el invierno de 1994, sólo unos pocos meses después de establecerse la plantación. Esta expresión temprana de síntomas podría estar motivada por alguna o varias de las siguientes razones: el uso de material de plantación previamente infectado, puesto que las plantas procedían de un vivero del propio agricultor establecido en un huerto; a la alta densidad de inóculo del patógeno en el suelo; o a la existencia del aislado defoliante (23). Sin embargo, en los otros campos, plantados en invierno de 1991 (Exp. I y IV) y octubre 1987 (Exp. III), los síntomas de la enfermedad fueron observados entre 3 y 7 años después de la plantación (Tabla 1). La presencia del pato-

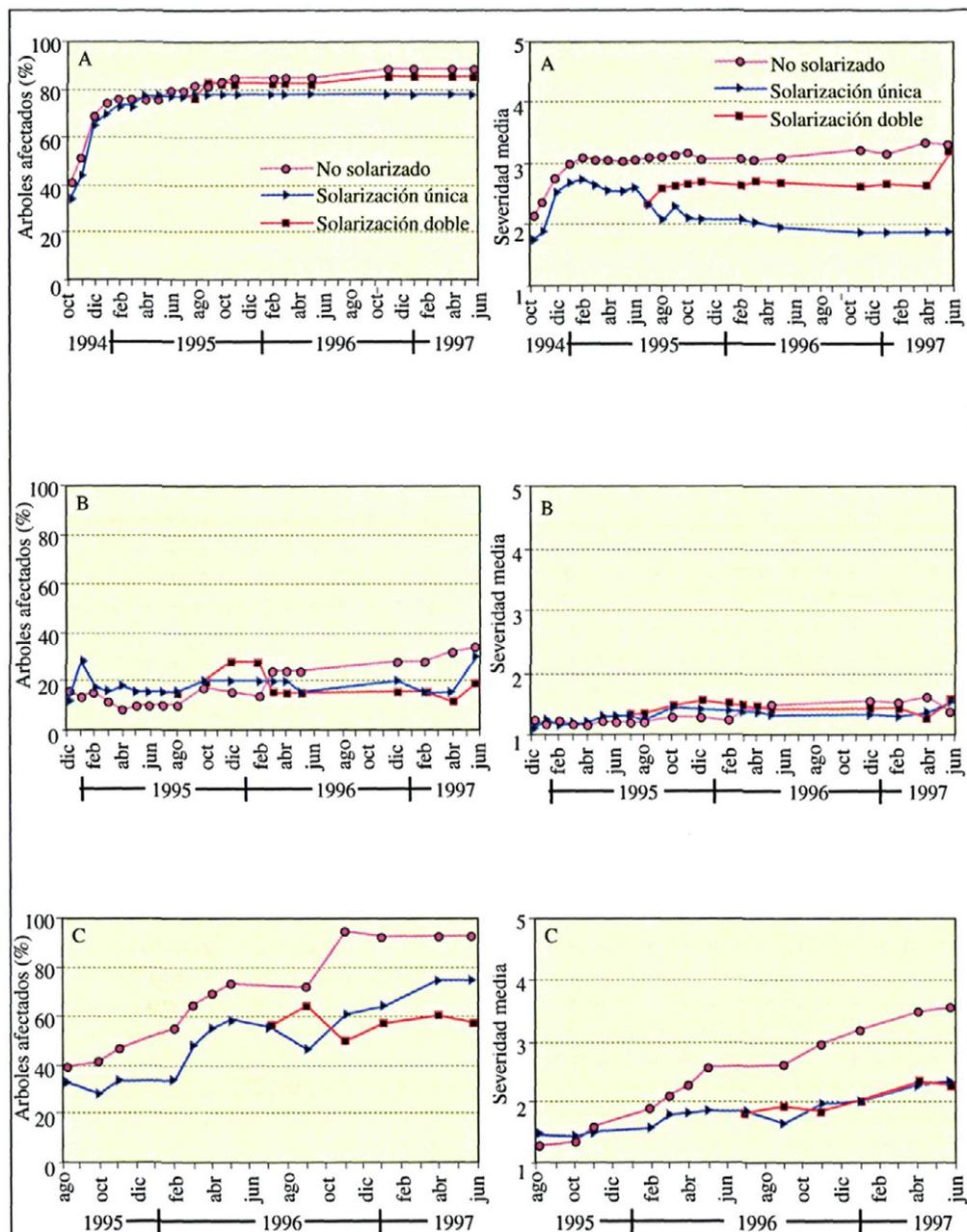


Fig. 9.—Efecto de la solarización en la incidencia de árboles afectados por la Verticilosis del Olivo: A) Exp. I; B) Exp. II; C) Exp. III.

Fig. 10.—Efecto de la solarización en la severidad de la enfermedad: A) Exp. I; B) Exp. II; C) Exp. III.

Tabla 3.—Efecto de la solarización en los valores finales de las variables estimadas en los experimentos ^a

Tratamiento de suelo	Severidad media	Incidencia (%)	Plantas muertas (%)	Perímetro de tronco (cm)	ABCPE (%)
Experimento I					
no solarizado	3.2 a	87.7 m	56.1	16.94	63.1 a
sol. única	1.8 b	77.2 m	13.6	21.13	41.4 b
sol. doble	3.2 a	84.8 m	30.3	18.84	52.8 ab
Experimento II					
no solarizado	1.3 a	34.0 m	10.2	24.53	26.5 a
sol. única	1.5 a	32.0 m	8.0	24.50	25.8 a
sol. doble	1.5 a	20.0 m	12.0	25.50	26.5 a
Experimento III					
no solarizado	3.5 a	93.0 m	5.3	18.84	47.3 a
sol. única	2.3 b	75.0 mn	7.1	19.82	34.8 b
sol. doble	2.2 b	57.1 n	7.1	21.48	36.2 ab

^a Para cada experimento y variable, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente a $P=0.05$ de acuerdo con el test de mínima diferencia protegida de Fisher.

tipo defoliante de *V. dahliae* supone la primera cita en olivares comerciales en España, donde sólo se había descrito el patotipo no defoliante de virulencia moderada (8, 30). Este aislado altamente virulento ya había sido descrito en Europa restringido originalmente al área de las Marismas y, posteriormente, más extendido en cultivos de algodón en Andalucía. La existencia de este tipo de aislado en el Exp. I, localizado a 150 km de su área de origen, las Marismas, muestra la capacidad de dispersión del agente y representa una seria amenaza para las nuevas plantaciones de olivo, por la elevada susceptibilidad de los cultivares usados en Andalucía a esta cepa (23, 30).

La solarización del suelo es una técnica efectiva para reducir la población de patógenos de suelo, en particular *V. dahliae*, y controlar las marchiteces que causa este patógeno en numerosos cultivos herbáceos (19, 27, 35). Sin embargo, las referencias en huéspedes leñosos son muy escasas (42). En nuestros experimentos, la solarización incrementó consistentemente la temperatura del suelo en relación con los valores alcanzados en las parcelas testigo, aunque este incremento varió con los experimentos. Dado que no se usaron instrumentos de registro continuo en 1994 y 1995, las diferencias de temperaturas recogidas entre las parcelas solarizadas y no solarizadas no fueron

probablemente los valores máximos reales (Tabla 2). En cualquier caso, se obtuvieron incrementos de 6.3-12.0 °C dependiendo de los experimentos. Estos valores son similares a los aportados por TJAMOS *et al.* (42), que variaron entre 9 y 12 °C en los suelos alrededor de árboles solarizados individualmente en Grecia. Sin embargo, las temperaturas máximas citadas por estos autores fueron más altas (48°C) que en nuestro estudio (45°C). En 1996, las temperaturas fueron en general más bajas que en años previos (máximos de 40.7°C a 15 cm y 35.6°C a 30 cm) pero cercanos al rango efectivo de temperaturas necesario para reducir significativamente las poblaciones de *V. dahliae* en el suelo de acuerdo a los valores publicados por varios autores (19, 28, 35).

La solarización redujo las poblaciones de *V. dahliae* en los primeros 20 cm de suelo en un amplio rango de DI: alto (Exp. I), medio (Exp. III) y bajo (Exp. II y IV). En todos los experimentos la solarización mantuvo al menos durante los 3 años de estudio la población del patógeno en niveles significativamente más bajos que en las parcelas experimentales. Sin embargo la eliminación del patógeno no fue completa y, posteriormente, incluso tras la segunda solarización, se detectaron ciertos incrementos de la DI. Las poblaciones residuales del agente pudieron ser las causantes de la regeneración del



Fig 11.—Control de malas hierbas en las parcelas solarizadas del Exp. I (otoño, tras aplicar la primera solarización en 1994) y Exp. IV (primavera siguiente a la aplicación de la segunda solarización en 1995).

inóculo, y quizás debidas a las temperaturas más bajas registradas en las zonas sombreadas (2, 24, 42), o al escape de microesclerocios en la rizosfera, en capas más profundas del suelo (2, 42) o en el borde de las parcelas (15, 29). También las malas hierbas, especialmente en el Exp. III, podrían haber permitido el incremento o mantenimiento del patógeno en el suelo como ha sido descrito por otros autores (16, 22, 40, 46). La baja DI del patógeno observada después de la primera solarización enmascaró el efecto de la segunda solarización, a partir de la cual también se detectaron poblaciones residuales del agente. Aunque no hay información disponible acerca del efecto de dos solarizaciones consecutivas, podría haber tenido lugar una selección de aislados termorresistentes de *V. dahliae* que podrían haber superado parcialmente la segunda solarización.

A pesar de los elevados valores de incidencia de enfermedad observados en el Exp. III, la no detección del patógeno en el suelo al comienzo del experimento está en línea con las observaciones realizadas por Blanco-López (datos no publicados), que encontró incidencias de enfermedad bajas o medias en olivares con valores muy bajos e incluso en ausencia de detección del patógeno en el suelo. En general, en las parcelas no solarizadas, se detectó un notable incremento de la densidad de inóculo después del verano. Este incremento en las poblaciones de *V. dahliae* tras los meses de calor intenso de verano ya ha sido descrito por Melero Vara

et al. (25) en campos de algodón infestados. Tales incrementos podrían ser explicados por la liberación de los microesclerocios de restos infectados y por las temperaturas más favorables para el crecimiento del patógeno.

Las poblaciones naturales del patógeno mostraron variaciones temporales y espaciales. Así, la densidad de inóculo en las parcelas no solarizadas varió entre 14.1 a 28.6, 0.5 a 3.6 y 0 a 13.3 MSpgs en los Exp. I, II-IV y III, respectivamente. Este hecho ya ha sido observado en suelos no cultivados (3) y en plantaciones establecidas de olivo (41) donde las poblaciones del patógeno mostraron ser fluctuantes. Sin embargo, los modelos de distribución para *V. dahliae* son escasos, y los estudios realizados por Bejarano-Alcázar y Jiménez-Díaz (4) en áreas cultivadas de algodón en el Sur de España demostraron que los modelos no se ajustaban a distribuciones estándar.

El efecto de la solarización sobre la VO no ha tenido la eficacia que sobre la densidad de inóculo del patógeno. La solarización única redujo la severidad media en los Exp. I y III, mientras que la solarización doble sólo la redujo en el Exp. III (Tabla 3, Fig. 10). La incidencia de la enfermedad sólo se redujo mediante la doble solarización en el Experimento III (Tabla 3, Fig. 9C). La eficacia de la solarización sobre la VO puede quedar reflejada de forma más clara sobre el ABCPE puesto que este es el parámetro único que mejor engloba el desarrollo de una enferme-

dad. La solarización única redujo el ABCPE en los Exp. I y III y la doble solarización mantuvo estos parámetros en valores intermedios en el testigo (Tabla 3). La efectividad de la solarización parece depender de la densidad de inóculo, del patotipo del agente y del tipo de suelo. Así, en el Exp. I, con alta densidad de inóculo y el aislado defoliante presente, la solarización única redujo la severidad de las infecciones (severidad media y ABCPE). Sin embargo, la reducción significativa de la densidad de inóculo mediante la primera solarización (de 11 a 1.1 MSpgs) no trajo consigo una reducción de la incidencia de la enfermedad, presumiblemente porque los árboles estaban ya infectados antes de la solarización. Si bien, tampoco se puede descartar que hubiera infecciones posteriores a la solarización debidas al inóculo residual no destruido (2, 42).

La reducción de la densidad de inóculo en los suelos solarizados durante el verano debió reducir el número de subsecuentes infecciones en el otoño y, consecuentemente, la severidad observada la primavera siguiente como también ha sido observado en cultivos herbáceos (17). Sin embargo, en el Exp. II, con baja densidad de inóculo en el suelo y baja incidencia de enfermedad, el efecto de la solarización fue escasamente apreciable.

El efecto de la segunda solarización fue también interesante y sorprendente en algunos casos. A pesar de la reducción de la densidad de inóculo respecto a los controles no solarizados y, en ocasiones, respecto a los tratamientos solarizados una vez, este efecto no estuvo asociado a una reducción similar de la enfermedad. Este hecho podría explicarse por el efecto activador de la solariza-

ción sobre la población antagonista de *V. dahliae* (42, 43), que sería anulado o reducido por la doble solarización. En general la doble solarización tuvo un efecto intermedio y no significativo con relación a la solarización única y los testigos no solarizados, por lo que no puede ser recomendada como práctica de control contra la enfermedad. La solarización además contribuyó a incrementar la recuperación natural de árboles de la enfermedad y su vigor, particularmente en los Exp. I y III.

La solarización se recomienda como una técnica complementaria para el control integrado de la Verticilosis del Olivo, especialmente al inicio de la epidemia, reduciendo no sólo la severidad de las infecciones, sino la extensión del patógeno en la plantación, en tanto que la doble solarización no supone un beneficio adicional que justifique su aplicación.

AGRADECIMIENTOS

Las investigaciones han sido financiadas por los Proyectos AGF93-0740-CO2-02 y AGF97-0546 de la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) y, parcialmente por una beca concedida al primer autor por el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Agradecemos a la DRA. PÉREZ-ARTÉS (IAS- CSIC, Córdoba) su asistencia técnica en PCR, y a los propietarios de las plantaciones de olivar, D. FRANCISCO BORREGO, D. ADRIANO REDONDO Y D. FERNANDO PARLADÉ haber permitido que los experimentos se llevaran a cabo en olivares de su propiedad.

ABSTRACT

F. J. LÓPEZ-ESCUDERO and M. A. BLANCO-LÓPEZ. Application of soil solarization for controlling *verticillium* wilt in established olive orchards.

Four soil solarization experiments were completed in 3 commercial olive orchards infested with *Verticillium dahliae* in Andalucía (southern Spain). Three of the experiments used lines of trees and one used individual plants. Plantations showed different initial inoculum densities of the pathogen. Initial studies indicated that highly virulent (cotton defoliating) isolates of the pathogen were present in Marinaleda (Experiment I), and it represents the first record of such isolates affecting olive trees in Europe. Solarization treatments were applied to lines of trees for either one (single) or two consecutive (double) years. Solarization significantly reduced pathogen populations in the top 20 cm of soil for at least three years in relation to control plots. Pathogen reduction after the single solarization obscured effects of the second solarization treatment. Decrease of inoculum density in soil by solarization did not correspond to a similar reduction in disease severity. Disease severity was reduced only in orchards with medium or high initial inoculum densities. A second soil solarization treatment did not improve the effect of single solarization on *Verticillium* wilt control. In orchards with low inoculum densities, soil solarization did not result in significant differences in disease incidence and severity, but improved recovery of trees from the disease. Soil solarized plots remained free of weeds and solarized trees did not show significant growth increase measured by trunk perimeter.

Key words: *Verticillium dahliae*, solarization, olive, *Verticillium* wilt.

REFERENCIAS

- AL-AHMAD, M. A., AND MOSLI, M. N. 1993. *Verticillium* wilt of olive in Syria. EPPO Bull. 23:521-529.
- ASHWORTH, L. J., AND GAONA, S. A. 1982. Evaluation of clear polyethylene mulching for controlling *Verticillium* wilt in established pistachio nut groves. Phytopathology 72:243-246.
- BEJARANO-ALCÁZAR, J., BLANCO-LÓPEZ, M. A., MELERO-VARA, J. M., AND JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 1996. Etiology, importance and distribution of *Verticillium* wilt of Cotton in southern Spain. Plant Dis. 80:1233-1238.
- BEJARANO-ALCÁZAR, J., AND JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 1997. Analysis of the spatial distribution pattern of *Verticillium dahliae* in soil of cotton fields. Page 87 in: Proc. 7th Int. *Verticillium* Symp. Cape Sounion, Athens, Greece.
- BLANCO-LÓPEZ, M. A., BEJARANO-ALCÁZAR, J., MELERO-VARA, J. M., AND JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 1989. Current status of *Verticillium* wilt of cotton in southern Spain. Pathogen variation and population in soil. Pages 123-132 in: Vascular Wilt Diseases of Plants. E. C. Tjamos and C. H. Beckman, eds., NATO ASI Series H: Cell Biology, vol. 28. Springer-Verlag, New York.
- BLANCO-LÓPEZ, M. A., JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M., MELERO-VARA, J. M., AND BEJARANO-ALCÁZAR, J. 1992. Integrated control of *Verticillium* wilt of cotton by soil solarization and tolerant cultivars. Pages 63-67 in: Biological Control of Plant Diseases. E. C. Tjamos, G. C. Papavizas and R. J. Cook, eds. Plenum Press, New York.
- BLANCO-LÓPEZ, M. A., MELERO-VARA, J. M., BEJARANO-ALCÁZAR, J., AND JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 1986. Distribution and pathogenicity of *Verticillium dahliae* isolates infecting cotton in Andalucía, southern Spain. In: Proc. 4th Int. *Verticillium* Symp., Guelph, Ontario, Canada.
- CABALLERO, J. M., PEREZ-HERNÁNDEZ, J., BLANCO-LÓPEZ, M. A., AND JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 1980. Olive, a new host of *Verticillium dahliae* in Spain. Page 50 in: Proc. 5th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Patras, Greece.
- CAMPBELL, C. L., AND MADDEN, L. V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley and Sons, New York.
- CIRULLI, M., AND MONTEMURRO, G. 1976. A comparison of pathogenic isolates of *Verticillium dahliae* and sources of resistance in olive. Agricul. Consp. Scien. 39:469-476.
- EASTON, G. D., NAGLE, M. E., AND BAILEY, D. L. 1969. A method of estimating *Verticillium albo-atrum* propagules in field soil and irrigation water. Phytopathology 59:1171-1172.
- ELAD, Y., KATAN, J., AND CHET, I. 1980. Physical, biological and chemical control integrated for soil-borne diseases in potatoes. Phytopathology 70:418-422.
- FREEMAN, S., SZTEJNBERG, A., SHABI, E., AND KATAN, J. 1990. Long-term effect of soil solarization for the control of *Rosellinia necatrix* in apple. Crop Prot. 9:312-316.
- GREENBERGER, A., YOGEV, A., AND KATAN, J. 1987. Induced suppressiveness in solarized soils. Phytopathology 77:1663-1667.
- GRINSTEIN, A., KRITZMAN, G., HETZRONI, A., GAMLIEL, A., MOR, M., AND KATAN, J. 1995. The border effect of soil solarization. Crop Prot. 14:315-320.
- HEALE, J. B. 1988. *Verticillium* spp., the cause of vascular wilt diseases in many species. Pages 291-

- 312 in: *Advances in Plant Pathology*. D. S., Ingram and P. M., Williams eds., vol. 6. Academic Press, New York.
17. HUISMAN, O. C., AND GERIK, J. S. 1989. Dynamics of colonization of plant roots by *Verticillium dahliae* and other fungi. In: *Vascular Wilt Diseases of Plants*. Pages 1-17 in: E. C. Tjamos and C. H. Beckman, eds., NATO ASI Series H: Cell Biology, vol. 28. Springer-Verlag, New York.
 18. JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M., BLANCO-LÓPEZ, M. A., CABALLERO-REIG, J. M. 1984. La verticilosis del olivo en Andalucía. Agente, sintomatología y distribución. Com. Agr. Ser. prot. Vegetal n°1, 32 pp.
 19. KATAN, J. 1980. Solar pasteurization of soil for disease control: status and prospects. *Plant Dis.* 64:450-454.
 20. KATAN, J., DEVAY, J. E., AND GREENBERGER, A. 1989. The biological control induced by soil solarization. In: *Vascular wilt diseases of plants*. Pages 493-499 in: E. C. TJAMOS AND C. H. BECKMAN, eds., NATO ASI Series H: Cell Biology, vol. 28. Springer-Verlag, New York.
 21. KATAN, J., FISHLER, G., AND GRINSTEIN, A. 1983. Short- and long-term effects of soil solarization and crop sequence on Fusarium wilt and yield of cotton in Israel. *Phytopathology* 73:1215-1219.
 22. LACY, M. L., AND HORNER, C. E. 1966. Behavior of *Verticillium dahliae* in the rhizosphere and on roots of plants susceptible, resistant, and immune to wilt. *Phytopathology* 56:427-430.
 23. LÓPEZ-ESCUADERO, F. J. 1999. Evaluación de la resistencia de olivo a las variantes patogénicas de *Verticillium dahliae* y eficacia de la solarización en el control de la verticilosis. Ph. D. Thesis, Univ. Córdoba, Spain.
 24. LÓPEZ-HERRERA, C. J., PÉREZ-JIMÉNEZ, R. M., ZEBONILLA, T., BASALLOTE-UREBA, M. J., AND MELERO-VARA, J. M. 1998. Soil solarization in established avocado trees for control of *Dematophora necatrix*. *Plant Dis.* 82:1088-1092.
 25. MELERO-VARA, J. M., BLANCO-LÓPEZ, M. A., BEJARANO-ALCÁZAR, J. AND JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 1995. Control of *verticillium* wilt of cotton by means of soil solarization and tolerant cultivars in southern Spain. *Plant Pathol.* 44:250-260.
 26. PEREZ-ARTÉS, E., GARCÍA-PEDRAJAS, M. D., BEJARANO-ALCÁZAR, J. AND JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 2000. Differentiation of cotton-defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* by RAPD and specific PCR analyses. *European Journal of Plant Pathology* 106: 507-517.
 27. PULLMAN, G. S., DEVAY, J. E., AND GARBER, R. H. 1981a. Soil solarization and thermal death: a logarithmic relationship between time and temperature for four soilborne plant pathogens. *Phytopathology* 71:959-964.
 28. PULLMAN, G. S., DEVAY, J. E., GARBER R. H. AND WEINHOLD, A. R. 1979. Control of soilborne fungal pathogens by plastic tarping of soils. Pages: 439-446 in: *Soilborne Pathogens*. B. Schippers and W. Gams, eds. Academic Press. New York.
 29. PULLMAN, G. S., DEVAY, J. E., GARBER, R. H., AND WEINHOLD, A. R. 1981b. Soil solarization: effects on *Verticillium* wilt of cotton and soil-borne populations of *Verticillium dahliae*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* and *Thielaviopsis basicola*. *Phytopathology* 71:954-959.
 30. RODRÍGUEZ-JURADO D., BLANCO-LÓPEZ, M. A., RAPPOPORT, H. F., AND JIMÉNEZ-DÍAZ R. M. 1993. Present status of *Verticillium* wilt of olive in Andalucía (southern Spain). *EPPO Bull.* 23:513-516.
 31. SAYDAM, C., AND COPCU, M. 1972. *Verticillium* wilt of olives in Turkey. *J. Turk. Phytopath.* 1:45-49.
 32. SCHNATHORST, W. C. 1973. Additional strains of *Verticillium dahliae* from cotton in California. Pages 22-23 in: *Proc. Beltwide Cotton Production Research Conf.*, National Cotton Council of America, Memphis, TN.
 33. SCHNATHORST, W. C., AND STIBBET, G. S. 1971. The relations of strains of *Verticillium albo-atrum* to severity of *Verticillium* wilt in *Gossypium hirsutum* and *Olea europaea* in California. *Plant Dis. Rep.* 55:780-782.
 34. SERRHINI, M. N. AND ZEROUAL, A. 1995. La Verticilosis del olivo en Marruecos. *Olivae* 58:58-61.
 35. STAPLETON, J. J., AND DEVAY, J. E. 1986. Soil solarization: a non-chemical approach for management of plant pathogens and pest. *Crop Prot.* 5:190-8.
 36. STAPLETON, J. J., PAPLOMATAS, E. J., WAKEMAN, R. J., AND DEVAY, J. E. 1993. Establishment of apricot and almond trees using soil mulching with transparent (solarization) and black polyethylene film. Effects on *Verticillium* wilt and tree health. *Plant Pathol.* 42:333-338.
 37. SZTEJNBERG, A., FREEMAN, S., CHET, I., AND KATAN, J. 1987. Control of *Rosellinia necatrix* in soil and in apple orchards by solarization and *Trichoderma harzianum*. *Plant Dis.* 71: 365-369.
 38. THANASSOULOPOULOS, C. C. 1993. Spread of *Verticillium* wilt by nursery plants in olive groves in the Halkidiki (Greece). *EPPO Bull.* 23:517-520.
 39. THANASSOULOPOULOS, C. C., BIRIS, D. A., AND TJAMOS, E. C., 1979. Survey of *Verticillium* wilt of olive trees in Greece. *Plant. Dis. Rep.* 63:936-940.
 40. THANASSOULOPOULOS, C. C., BIRIS, D. A., AND TJAMOS, E. C. 1981. Weed host as inoculum source of *Verticillium* in olive orchards. *Phytopathol. Mediterr.* 20:164-168.
 41. TJAMOS, E. C. 1983. Prospects for controlling wilt of olive trees by soil solarization. Page 15 in: *Hellenic Congress on Plant Diseases and Pests*, Athens, Hellas.
 42. TJAMOS, E. C. 1991. Recovery of olive trees with *Verticillium* wilt after individual application of soil solarization in established olive orchards. *Plant Dis.* 75:557-562.
 43. TJAMOS, E. C. AND FRAVEL, D. R. 1995. Detrimental effects of sublethal heating and *Talaromyces flavus* on microsclerotia of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 85:388-392.
 44. TJAMOS, E. C., AND PAPLOMATAS, E. J. 1987. Effect of soil solarization on the survival of fungal antagonist of *Verticillium dahliae*. *EPPO Bull.* 17:643-653.

45. TJAMOS, E. C., AND PAPLOMATAS, E. J. 1988. Long-term effect of soil solarization in controlling *Verticillium* wilt of globe artichokes in Greece. *Plant Pathol.* 37:507-515.
46. VARGAS-MACHUCA, R., MARTÍN, C., AND GALÍNDEZ, W. 1987. Recovery of *Verticillium dahliae* from weed plants in farmers fields in Peru. *Plant Dis.* 71:756-758.
47. VIGOUROUX, A. 1975. *Verticillium dahliae*, agent d'un dépérissement de l'olivier en France. *Ann. Phytopathol.* 7: 37-44.
48. WILHELM, S., AND TAYLOR J. B. 1965. Control of *Verticillium* wilt in olive through natural recovery and resistance. *Phytopathology* 55:310-316.

(Recepción: 19/10/01)

(Aceptado: 22/11/01)