Evaluación de resistencia a *Verticillium dahliae* de variedades del Banco de Germoplasma Mundial de Olivo de Córdoba

G.M. García-Ruiz (IFAPA, Centro Alameda del Obispo. Córdoba. E-mail: g22garug@gmail.com).
C. Trapero y F.J. López-Escudero (Dpto. Agronomía, Universidad de Córdoba – Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario CeiA3, Campus Universitario de Rabanales, Córdoba).

El uso de resistencia es la principal medida de lucha contra la Verticilosis del olivo en una estrategia de control integrado. En este trabajo se ha evaluado la resistencia de 37 variedades de olivo al aislado defoliante de *Verticillium dahliae*. La incubación en invernadero permitió evaluar un número elevado de genotipos, pero ocasionó un desarrollo de síntomas menos severo que cuando la evaluación se realiza en cámara de ambiente controlado o en campo sobre suelos infestados. Se han preseleccionado varios genotipos de resistencia similar o superior a 'Frantoio', como 'Majhol-1059', 'Lastovka' o 'Suca'. La repetición de las inoculaciones en cámara y campo permitirá seleccionar los más idóneos. Más de la mitad de las variedades evaluadas mostraron susceptibilidad moderada-extrema a las infecciones.

INTRODUCCIÓN

La Verticilosis del olivo (VO), causada por *Verticillium dahliae*, está considerada la enfermedad más devastadora del cultivo del olivo (*Olea europaea* L.), afectando a casi todas las áreas cultivadas. La enfermedad causa una elevada mortalidad, particularmente en suelos ocupados por aislados de alta virulencia (defoliantes) (López-Escudero y Mercado-Blanco, 2011; Jiménez-Díaz y col., 2012). Para el control de la VO es necesaria la aplicación de una estrategia de lucha integrada, usando todas las medidas disponibles y, en particular, genotipos resistentes (López-Escudero y Mercado-Blanco, 2011). El olivo es una especie cultivada con una gran diversidad genética, estimándose la existencia de más de 1.200 variedades (Bartolini y col., 2005). Por ello, en los países afectados de la cuenca Mediterránea, numerosos grupos de trabajo de instituciones públicas y privadas han emprendido la identificación de genotipos resistentes a partir de las variedades cultivadas en sus propios países, o de las conservadas en colecciones de germoplasma (Bartolini y col., 2005; Caballero y col., 2006). Desde 1994, el Grupo AGR-216 del Departamento de Agronomía de la Universidad de Córdoba, lleva a cabo un programa de evaluación de la resistencia de olivo a la VO de los genotipos del BGMO (Banco de Germoplasma Mundial de Olivo) de Córdoba (Proyecto conjunto de la Junta de Andalucía, Universidad de Córdoba y el Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera de Andalucía). Esta colección cuenta actualmente con 500 variedades identificadas procedentes de 24 países, 272 de ellas españolas (Belaj, 2014). Hasta el momento se han evaluado más de 120 variedades de este Banco, nacionales o extranjeras (López-Escudero y col., 2004; 2007; Martos-Moreno y col., 2006; García-Ruiz y col., 2014). Las variedades preseleccionadas por su resistencia se han incluido como genitores en el Programa de Mejora genética de olivo de la Universidad de Córdoba (Rallo y col., 2007; Trapero y col., 2013). En este trabajo se aborda la evaluación de la resistencia de una nueva partida de 37 variedades de olivo del BGMO a *V. dahliae* en condiciones de invernadero.

Materiales y métodos

Plantas autoenraizadas de 37 variedades de olivo del BGMO (Foto 1, Tabla 1) se multiplicaron por estaquillado semileñoso (Foto 2) y se inocularon con el aislado V117 (defoliante) de *V. dahliae* mediante la inmersión de su raíz desnuda en una suspensión de conidias según López-Escudero y col. (2004) (Foto 3). Las plantas se trasplantaron a macetas con sustrato estéril y se incubaron en invernadero con una disposición en bloques al azar (Foto 4). Las variedades 'Picual' (susceptible) y 'Frantoio' (resistente) se usaron como controles. Las plantas se evaluaron semanalmente, mediante una escala de 0 a 4, según el porcentaje de tejido vegetal afectado, obteniéndose el Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPEP). Junto a este parámetro, los valores de Severidad Media Final (SMF), Porcentaje de Plantas Muertas (PPM), y recuperación de los síntomas se usaron para determinar la resistencia de cada genotipo de acuerdo a López-Escudero y col. (2007) (Tabla 2). Los datos del ABCPEP se analizaron mediante el análisis de la varianza, comparando las medias con el test de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) protegido de Fisher.

Foto 1. Banco de Germoplasma Mundial de Olivo de Córdoba.

Foto 2. Propagación de variedades del BGMO.

Resultados

Las plantas testigo no mostraron síntomas y comenzaron a crecer 6 semanas después de la inoculación. Los síntomas de la enfermedad fueron clorosis, defoliación (Foto 5), decaimiento, abarquillamiento y necrosis de hojas, desecación de brotes y tallos, y ausencia o disminución del crecimiento de las plantas respecto a las testigo (Foto 6). En 'Picual', el patógeno produjo síntomas en el 100% de las plantas, con una mortalidad del 33,3%, y valores de SMF de 2,8 y ABCPEP del 43,8%. En 'Frantoio', no hubo mortalidad y los valores de SMF (0,6) y ABCPEP (9,6%) fueron significativamente menores que en 'Picual' (Tabla 1). 'Blanqueta', 'Bosana', 'Lucques' y 'Belluti' se consideraron extremadamente susceptibles, por sus valores de SMF superiores a 3,0, y por diferir significativamente de los valores del ABCPEP respecto a 'Frantoio'. Las variedades, 'Picholine', 'Doebli', 'Safrawi' y 'Pavo' resultaron susceptibles (PPM medio = 30,6%). Un grupo de 11 genotipos fue considerado moderadamente susceptible (media de ABCPEP = 24,6%). Por último, 18 variedades se consideraron resistentes, como 'Majhol-1059', 'Lastovka' o 'Suca', con valores del ABCPEP significativamente inferiores a los de 'Picual' y ninguna planta muerta (Tabla 1).

Discusión

La inoculación mediante inmersión radicular en una suspensión de conidias de *V. dahliae* fue muy eficaz en producir síntomas consistentes. El uso de invernadero permitió la evaluación conjunta de un mayor número de cultivares. A pesar de esto, el desarrollo de la enfermedad en estas condiciones se retrasó y fue más lento respecto a los estudios en cámaras de cultivo, debido probable-

VARIEDAD	R[1]	ORIGEN[2]	IMPORT.[3]	ABCPEP[4]	SMF[5]	PPM[6]	NR[7]
'Blanqueta'	11	España	Principal	62,4–	3,3	75,0	ES
'Bosana'	1170	Italia	Principal	53,2–	3,3	50,0	ES
'Lucques'	322	Francia	Principal	52,0–	3,1	20,0	ES
'Belluti'	689	Turquía	Sec/local	50,9·	3,5	83,3	ES
'Picholine'	70	Francia	Principal	50,0–	2,9	10,0	S
'Picual'	9	España	Principal	43,8–	2,8	33,3	S
'Doebli'	1044	Siria	Principal	38,6·	2,3	37,5	S
'Safrawi'	1116	Siria	Sec/local	38,2–	2,4	37,5	S
'Pavo'	1462	España	Sec/local	31,5	2,0	37,5	S
'Zard'	1140	Irán	Principal	29,7	2,1	25,0	MS
'Zaity'	1108	Siria	Principal	28,4	1,4	25,0	MS
'Lechín de Sevilla'	138	España	Principal	28,3	1,6	12,5	MS
'Uslu'	95	Turquía	Principal	27,6	1,4	12,5	MS
'Sinop'	685	Turquía	Sec/local	27,4	1,4	25,0	MS
'Uovo di Piccione'	860	Italia	Sec/local	23,7	1,9	37,5	S
'Sevillana'	1483	España	Sec/local	23,5	1,3	16,7	MS
'Cirujal'	136	España	Sec/local	21,5	1,8	28,6	MS
'Caninese'	77	Italia	Sec/local	20,2-	1,3	12,5	MS
'Gemlik'	684	Turquía	Principal	19,8-	1,1	14,3	MS
'Morrut-607'	607	España	---	19,6-	1,3	25,0	MS
'Barnea'	711	Israel	Principal	16,9-	1,0	0,0	R
'Selvatico'	893	Italia	Sec/local	16,2-	1,0	0,0	R
'Majhol-152'	152	Siria	Sec/local	15,3-	0,7	0,0	R
'Majhol-1063'	1063	Siria	Sec/local	13,4-	1,1	0,0	R
'PlementaBjelica'	705	Croacia	Sec/local	11,6-	0,8	0,0	R
'PicholineMarocaine'	101	Marruecos	Principal	9,6-	0,9	0,0	R
'Frantoio'	80	Italia	Principal	9,5-	0,6	0,0	R
'Majhol-1059'	1059	Siria	Sec/local	9,3-	0,5	0,0	R
'Redondilla de Logroño'	16	España	Sec/local	8,5-	0,7	0,0	R
'Olea Ferruginea'	110	Paquistán	---	8,3-	0,7	0,0	R
'Aglandau-170'	170	Francia	Principal	7,8-	0,8	0,0	R
'Kallmet'	1151	Albania	Sec/local	7,1-	0,4	0,0	R
'Manzanilla de San Vicente'	1134	México	Sec/local	6,9-	0,5	0,0	R
'Manzanilla de Lorca-1816'	1816	España	Sec/local	6,9-	0,7	0,0	R
'Verdial de Badajoz'	759	España	Principal	5,0-	0,5	0,0	R
'Manzanillo Cordobés de Cabra'	1818	España	Sec/local	4,4-	0,3	0,0	R
'Lastovka'	704	Croacia	Principal	3,9-	0,3	0,0	R
'Suca'	996	Chile	Sec/local	2,4-	0,2	0,0	R
'Chorrou de Castro del Río'	1170	España	Sec/local	1,5-	0,3	0,0	R

[1]Número de registro en el BGMO; [2]País de origen de la variedad; [3]Importancia de la variedad: Principal, Secundaria local; [4]ABCPEP. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad porcentual. Valores seguidos por un signo "-" fueron significativamente mayores que el control 'Frantoio', y signo "-" significativamente menores que el control 'Picual'; [5]SMF. Severidad media final de las variedades; [6]PPM. Porcentaje de plantas muertas por el patógeno; [7]NR. Nivel de resistencia de la variedad. ES = extremadamente susceptible; S = susceptible; MS = moderadamente susceptible; R = resistente.

Tabla 1. Valores finales de los parámetros fitopatológicos evaluados en las variedades de olivo inoculadas con el aislado defoliante de *Verticillium dahliae*.

Foto 3. Inoculación de variedades de olivo por inmersión radicular en una suspensión de conidias de *Verticillium dahliae*.

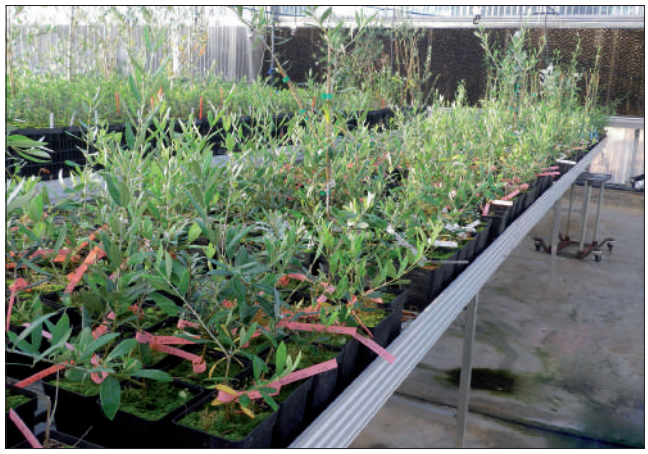

Foto 4. Disposición de bloques de plantas inoculadas en el invernadero.

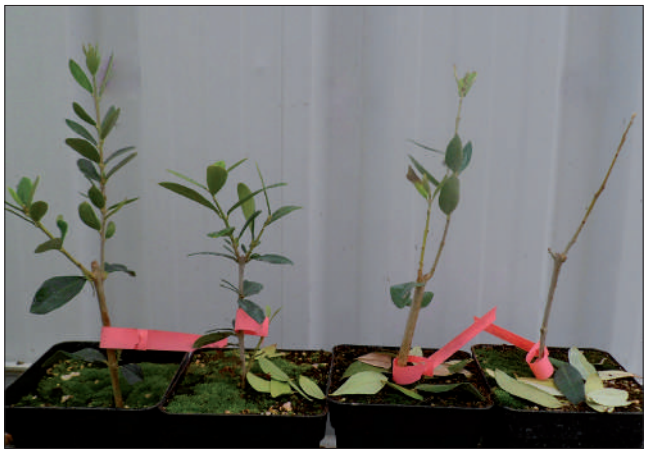

Foto 5. Progreso de síntomas de defoliación en plantas inoculadas: planta sana (derecha) - defoliación completa (izquierda).

Foto 6. Síntomas de la enfermedad: detención del crecimiento en planta afectada.

mente a las fluctuaciones de temperatura y luz, como sugiere Garcia-Ruiz y col. (2014). En general, los valores de enfermedad finales resultaron algo menores que los normalmente observados en cámara de ambiente controlado. Así, en los estudios de López-Escudero y col., (2004) y Martos-Moreno y col., (2006), en los que se evaluaron 54 variedades en ocho experimentos en cámara de cultivo, los valores medios en las variedades control fueron superiores, con ABCPEP, SMF y PPM de 65,6%, 3,9 y 95,1% para 'Picual' y 23,8%, 1,0 y 6,2% para 'Frantoio', respectivamente. Sin embargo, los valores de estos parámetros en este trabajo han sido claramente inferiores y muy similares a los obtenidos en invernadero por García-Ruiz y col (2014), con valores de 42,0%, 2,7 y 33,3% para 'Picual' y 9,4%, 1,0 y 0,0% para 'Frantoio'. Esto ha ocasionado la preselección de numerosos ge-

Nivel Resistencia [1]	ABCPEP [2]	SMF [3]	PPM [4]
R	0 – 30	0.0 – 1.5	0
MS	31 – 50	1.5 – 2.5	0 – 30
S	51 – 70	2.5 – 3.0	31 – 50
ES	71 – 100	3.0 – 4.0	51 – 100

[1]Nivel de resistencia. ES = extremadamente susceptible; S = susceptible; MS = moderadamente susceptible; R = resistente; [2]ABCPEP: Área bajo la curva de progreso de la enfermedad porcentual; [3]SMF: Severidad media final de las variedades; [4]PPM: Porcentaje de plantas muertas por el patógeno.

Tabla 2. Categorías de resistencia de genotipos de olivo al aislado defoliante de *V. dahliae* (Según López-Escudero y col., 2007).

notipos con parámetros fitopatológicos similares o inferiores a los de 'Frantoio', como es el caso de las variedades principales 'Verdial de Badajoz', 'Aglandau-170' o 'Lastovka', o las secundarias o locales como 'Suca' o 'Kallmet'. Para confirmar su nivel de resistencia, estas variedades deben ser sometidas a condiciones de inoculación en las que el ambiente sea más favorable para las infecciones (cámara de cultivo) y/o que estén expuestas al patógeno en campo sobre suelos naturalmente infestados durante un periodo más prolongado. El nivel de resistencia de algunas de las variedades de las que se conocía información previa coincide con la asignada en este trabajo, como en el caso de la variedad 'Gemlik' (moderadamente susceptible). Asimismo, este trabajo confirma que el olivo es un huésped de susceptibilidad elevada a *V. dahliae* en el que las infecciones pueden provocar una importante mortalidad. Finalmente, consideramos necesario la continuación del programa de evaluación del resto de variedades conservadas en el BGMO, lo que permitirá identificar nuevas fuentes genéticas de resistencia.

Agradecimientos: Financiación: FEDER-INIA (RTA 2010-00013-C02-01, RFP 2009-00008-C02-01 y RFP 2012-00005); Ministerio de Ciencia e Innovación, cofinanciados por el programa Europeo FEDER (AGL 2011-30137).

BIBLIOGRAFÍA

Bartolini, G., Prevost, G., Messeri, C., Carignani, G., 2005. *Olive germplasm: cultivars and world-wide collections*. FAO. Roma.

Belaj, A., 2014. *Las colecciones de germoplasma del Banco Mundial de Olivo*. Jornada Técnica "El Banco de Germoplasma y la producción de planta de olivo certificada en Andalucía". Córdoba, Junio 2014. Centro IFAPA Alameda del Obispo.

Caballero, J.M., Del Río, C., Barranco, D., Trujillo, I., 2006. *The olive world germplasm bank of Córdoba, Spain*. Olea, 25: 14–19.

Garcia-Ruiz, G.M., Trapero, C., Del Rio, C., Lopez-Escudero, F.J., 2014. *Evaluation of resistance of Spanish olive cultivars to Verticillium dahliae in inoculations conducted in greenhouse*. Phytoparasitica, 42 (2): 205–212.

Jiménez-Díaz, R.M., Cirulli, M., Bubici, G., Jiménez-Gasco, M.D., Antoniou, P.P., Tjamos, E.C., 2012. *Verticillium wilt, a major threat to olive production: current status and future prospects for its management*. Plant Dis., 96 (3): 304–329.

López-Escudero, F.J., Blanco-López, M.A., Del Río Rincón, C., Caballero Reig, J.M., 2007. *Response of olive cultivars to stem puncture inoculation with a defoliating pathotype of Verticillium dahliae*. HortScience, 42: 294–298.

López-Escudero, F.J., Del Río, C., Caballero, J.M., Blanco-López, M.A., 2004. *Evaluation of Olive Cultivars for Resistance to Verticillium dahliae*. Eur. J. Plant Pathol., 110: 79–85.

López-Escudero, F.J., Mercado-Blanco, J., 2011. *Verticillium wilt of olive: A case study to implement an integrated strategy to control a soil-borne pathogen*. Plant Soil, 344 (1): 1–50.

Martos-Moreno, C., López-Escudero, F.J., Blanco-López, M.A., 2006. *Resistance of olive cultivars to the defoliating pathotype of Verticillium dahliae*. HortScience, 41: 1313–1316.

Rallo, L., Barranco, D., De la Rosa, R., León, L., 2007. *The olive breeding program of Cordoba, Spain*. HortScience, 42: 988.

Trapero, C., Serrano, N., Arquero, O., Trapero, A., López-Escudero, F.J., 2013. *Field resistance to Verticillium wilt in selected olive cultivars grown in two naturally infested soils*. Plant Dis., 97: 668–674.