

**Jornada sobre el Aceite de Oliva: Patrimonio agronómico,  
cultural, social y ambiental. Amenazas y oportunidades,  
(Madrid, 24/05/2017)**

**La Verticilosis del olivar, una experiencia para afrontar las  
nuevas amenazas de naturaleza fitopatológica**

**Rafael M. Jiménez Díaz**  
**Catedrático Emérito de Patología Vegetal**

<http://www.ias.csic.es/rmjimenez/>



Real Academia de  
Doctores de España



Inst. Agric. Sostenible  
CSIC



ETSIAM  
Universidad de Córdoba



Real Academia de Córdoba

**“La complejidad etiológica y epidemiológica de la Verticilosis  
del olivo requiere el uso de variedades resistentes como  
elemento clave para su gestión integrada”**

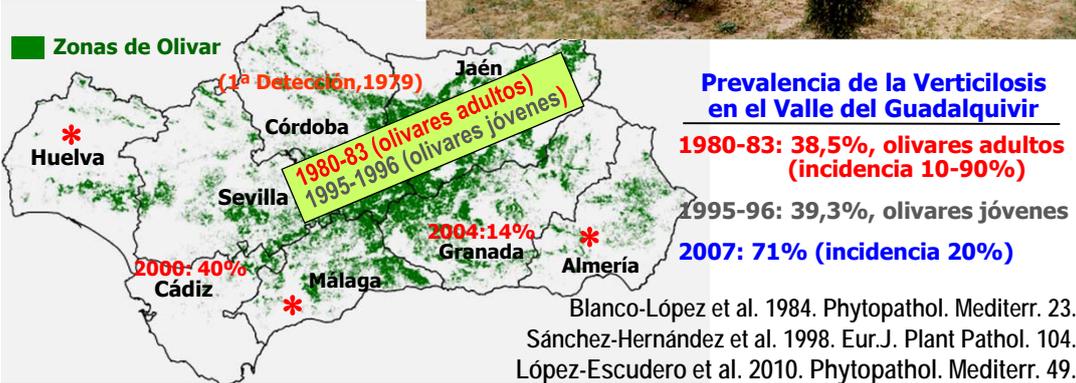
**Índice**

- Extensión y prevalencia de la Verticilosis del olivo en Andalucía
- Elementos de complejidad: El agente causal. Su diversidad genética (patotipos), ecología y biología
- Variación patogénica en *Verticillium dahliae*: relación entre linajes, patotipos y razas patogénica
- Patrones resistentes a los patotipos y razas de *Verticillium dahliae*
- Protección contra la Verticilosis de variedades susceptibles injertadas sobre patrones resistentes: Vertirés®

## Expansión de la Verticilosis del olivo en Andalucía

### Verticilosis del olivo en CC AA

Diagnosticada también en otras CC AA. Ej.: Aragón, Cataluña, Castilla-La Mancha, Extremadura, Islas Baleares, Navarra, Valencia (Jiménez Díaz et al., 2003. Vida Rural 176.)



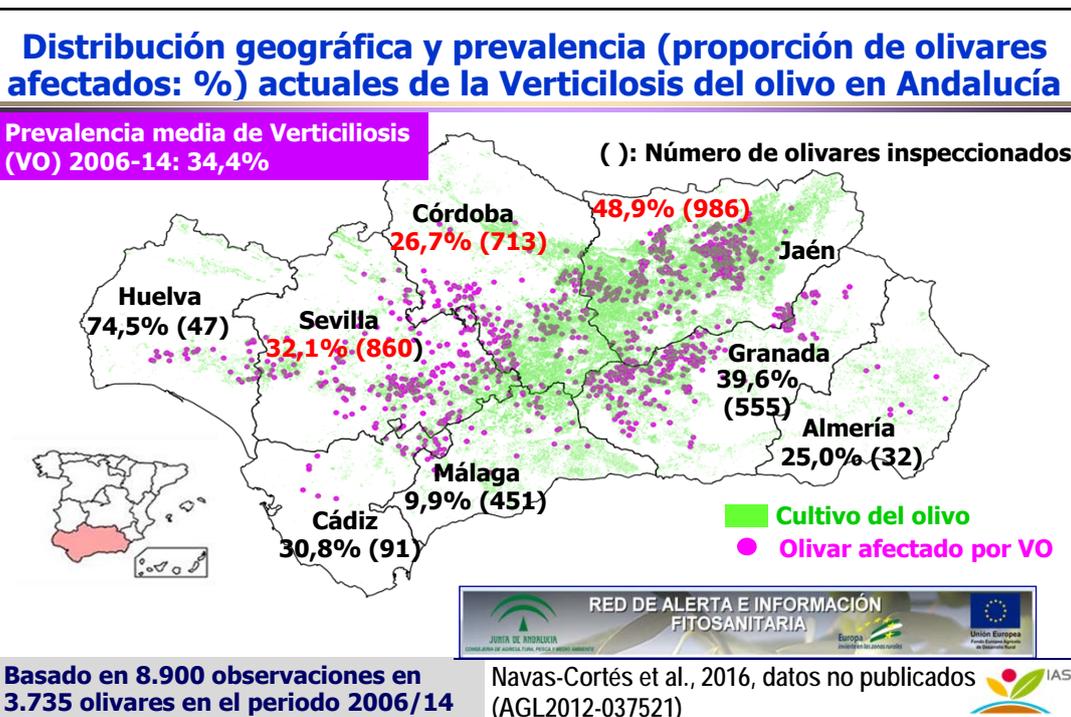
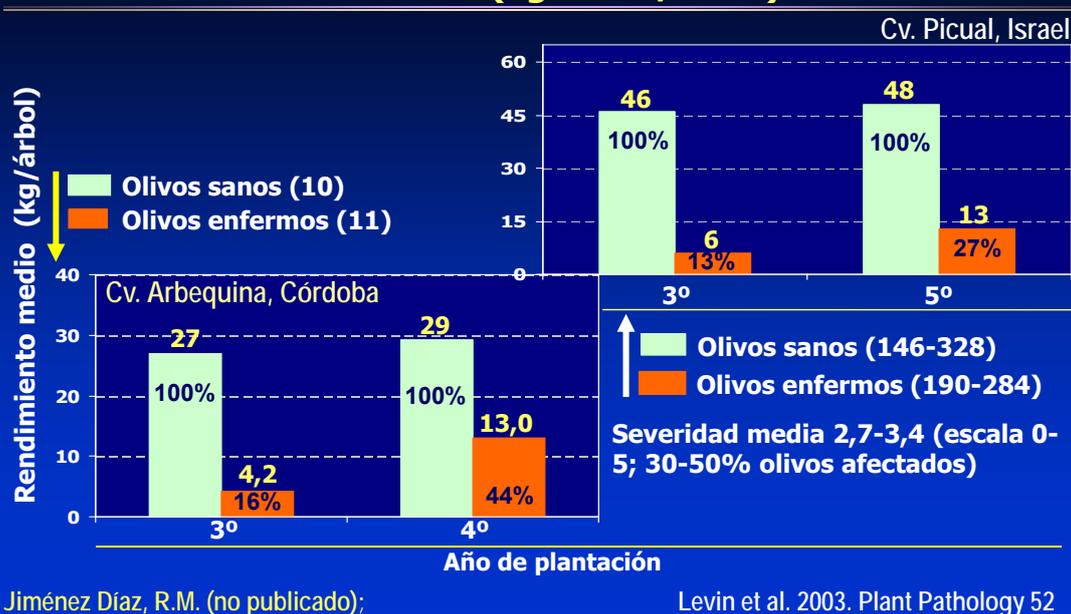
## Síndrome no-defoliante de la Verticilosis del olivo (1980)

• **Apoplejía (forma aguda):** Final de invierno a principio de primavera. Muerte rápida de brotes y ramas; hojas necróticas adheridas a las ramas afectadas

• **Decaimiento lento (crónica):** Primavera: necrosis y momificado de inflorescencias, clorosis y necrosis de hojas, desecación de frutos, necrosis de brotes



## Reducción de cosecha en olivos afectados por la Verticilosis (kg. fruto/árbol)

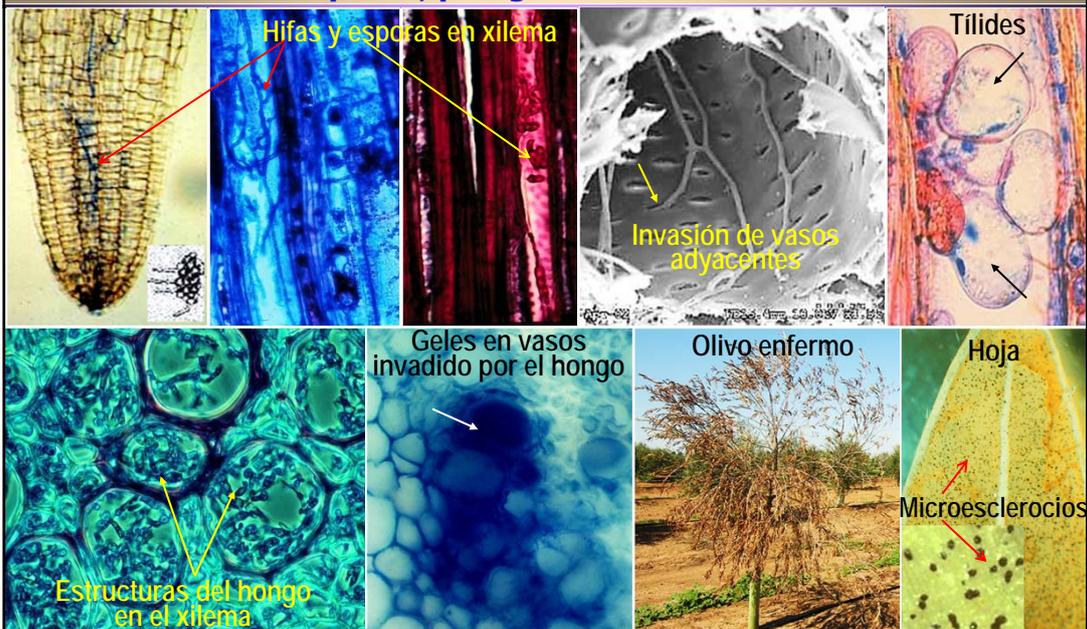


## “La complejidad etiológica y epidemiológica de la Verticilosis del olivo requiere el uso de planta resistente como elemento clave para su gestión integrada”

### Índice

- Extensión y prevalencia de la Verticilosis del olivo en Andalucía
- **Elementos de complejidad: El agente causal. Su diversidad genética (patotipos), ecología y biología**
- Variación patogénica en *Verticillium dahliae*: relación entre linajes, patotipos y razas patogénica
- Patrones resistentes a los patotipos y razas de *Verticillium dahliae*
- Protección contra la Verticilosis de variedades susceptibles injertadas sobre patrones resistentes: Vertirés®

### Biología y ecología de *Verticillium dahliae*: supervivencia en el suelo, numerosos huéspedes, patogénesis circunscrita en el xilema



## Elementos de complejidad: Versatilidad en los medios de dispersión de *Verticillium dahliae* (I)

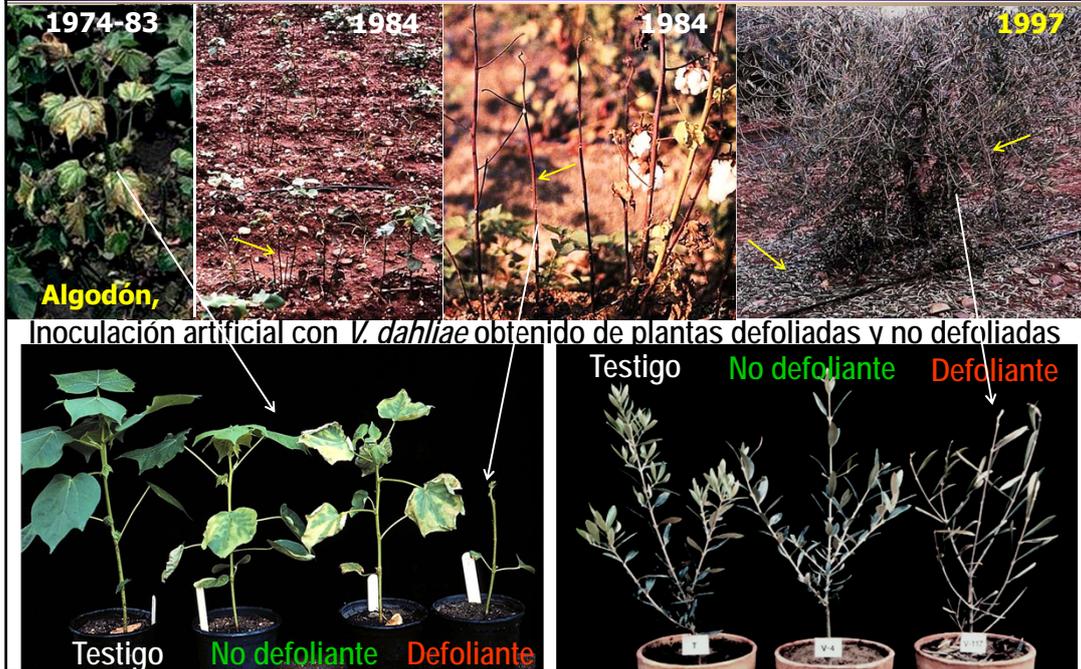
- **Distribución de sustratos infestados: cosechas y restos de cultivos afectados, desechos o residuos de almazaras, estiércol infestado**
- **Desplazamiento de suelo infestado (agua, aperos, maquinaria, etc.)**
  - \* *V. dahliae* en agua de riego muestreada al final de **surcos** en patata regada por inundación (301.290 propágulos/L) y en **balsas** con agua de riego recuperada para reutilización (15.000 propágulos/L), WA, EE UU (Easton et al. 1969. Phytopathology 59)
- **Agua de riego: aporte periódico de inóculo al sistema radical**
  - \* *V. dahliae* detectado en agua de **riego por goteo de embalses o de pozo** (3.160 propágulos/m<sup>3</sup>) en 28 de 33 olivares afectados muestreados en Jaén y Sevilla (Rodríguez y Bejarano. 2007. Bol. San. Veg. Plagas 33).
  - \* **Microesclerocios (ms) viables en sedimentos y en agua de estaciones de bombeo de comunidades de regantes (2,7 a 6,7 ms/g), y en agua de riego (3,7 ms/m<sup>3</sup>)** (García-Cabello et al. 2012. Eur. J. Plant Pathol. 133.)

## Elementos de complejidad: un síndrome defoliante en la Verticilosis del olivo (1997)

- **Desarrollo de síntomas desde final de otoño y principio de invierno**
  - **Caída de hojas verdes infectadas por el patógeno**
  - **Defoliación sectorial o completa de la copa del árbol**
  - **Muerte de ramas o del árbol**

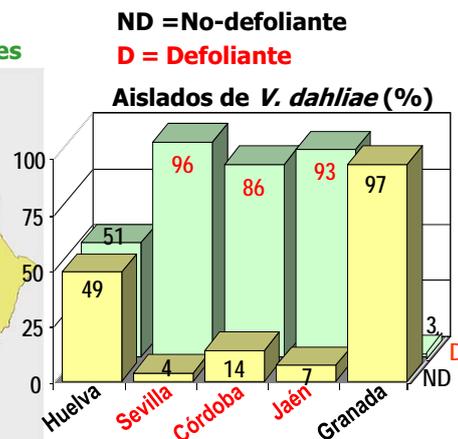
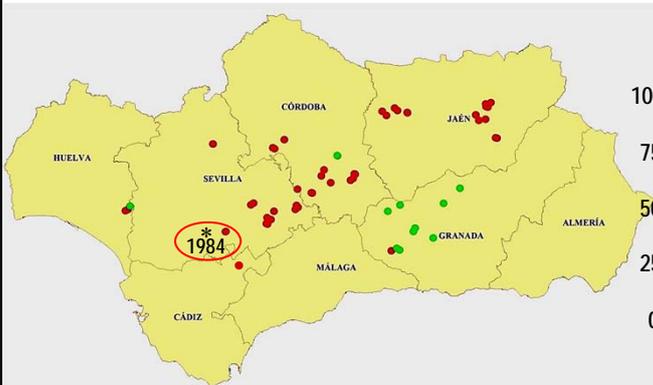


## Elementos de complejidad: Dos patotipos de *Verticillium dahliae*



## Distribución y prevalencia de los patotipo D y ND de *Verticillium dahliae* que infectan olivo en Andalucía (2005-2006)

- Defoliante: 78% de los aislados de *V. dahliae*  
83% de los olivares,
- No-defoliante: 22% de aislados ; 17% de olivares



Basado en 637 aislados de *V. dahliae* de 433 olivos en 65 olivares

Proyecto Fundación Ramón Areces. Jiménez Díaz et al. 2011. Phytopathology 101: 304-315.

## Distribución geográfica de los patotipos D y ND de *Verticillium dahliae* que infectan olivo en Andalucía (2017)



Basado en 427 olivares elegidos arbitrariamente en 123 municipios en Andalucía:  
El patotipo D se encuentra en el 80,9% de los campos

Variabilidad genética en una muestra de 145 aislados de algodón y olivo a lo largo de 350 km en el Valle del Guadalquivir durante el periodo 1984-2012:

- Los aislados son genéticamente muy similares (SNPs, microsátélites), y en su naturaleza genética no se diferencian entre sí por la planta de origen, el año de muestreo o la zona de procedencia (Milgroom et al. 2016. *Phytopathology* 106: 1038-1046; Rafiei et al., 2017. *Plant Pathology*. En prensa)



**El patotipo D es la diana principal para el control de la Verticilosis del olivo**

Navas-Cortés et al. 2016, no publicado (AGL2012-037521); Jiménez-Díaz et al. 2011. *Phytopathology* 101.

## Medios de dispersión de *Verticillium dahliae* (II): Plantones de olivo asintomáticos infectados y/o sustrato de propagación infestado (viveros establecidos en zonas infestadas)

### \* Italia:

Substratos de propagación (arena, turba, pomice) infestados (11-22.6% muestras) en 50% de 29 viveros de Apulia (sur Italia) (Nigro et al. 2005. *J. Plant Pathol.* 87.)

### \* Andalucía (2006-2007)

- Inspecciones (Dir. Gral. Produc. Agraria, Junta de Andalucía) de 714 viveros registrados (categoría CAC): 106 (15%) viveros con plantones (Arbequina, Hojiblanca, Picual) asintomáticos infectados por *V. dahliae*.
- La producción viverista CAC (Obligatoria en la UE: Mínima exigencia de calidad para la comercialización de material vegetal propagativo basada en la ausencia de síntomas visuales) no es garantía contra la infección por *V. dahliae*. ¡El material de plantación debe ser certificado sanitariamente!

¿Y los numerosos viveros de olivo no registrados? Denuncia por Asociaflor denuncia la proliferan los viveros ilegales de almendro en Andalucía (> 45 denuncias, abril 2017)

**Repercusiones de la prevalencia del patotipo D de *V. dahliae* sobre el control de la Verticilosis del olivo (I): variedades resistentes al patotipo ND son susceptibles al D**

Variedad	Reacción al patotipo	
	Defoliante	No-defoliante
Cornicabra	Muy Susceptible	Muy Susceptible
Hendeño, Hojiblanca, Manzanilla, Negral, Nevadillo Blanco, Picual	Muy Susceptible	Susceptible
Leccino, Lechín Granada, Meski, Pajarero, Picudo	Muy Susceptible	Mod. Susceptible
Arbequina, Cipresino, Koroneiki, Sevillanca	Moder. Susceptible	Resistente
Changlot Real, Empeltre, Frantoio	Moder. Resistente	Muy Resistente

López-Escudero et al. 2004. Eur. J. Plant Pathol. 110; Martos et al. 2006. HorstSci. 41; Trapero et al. 2013. Plant Dis. 97.

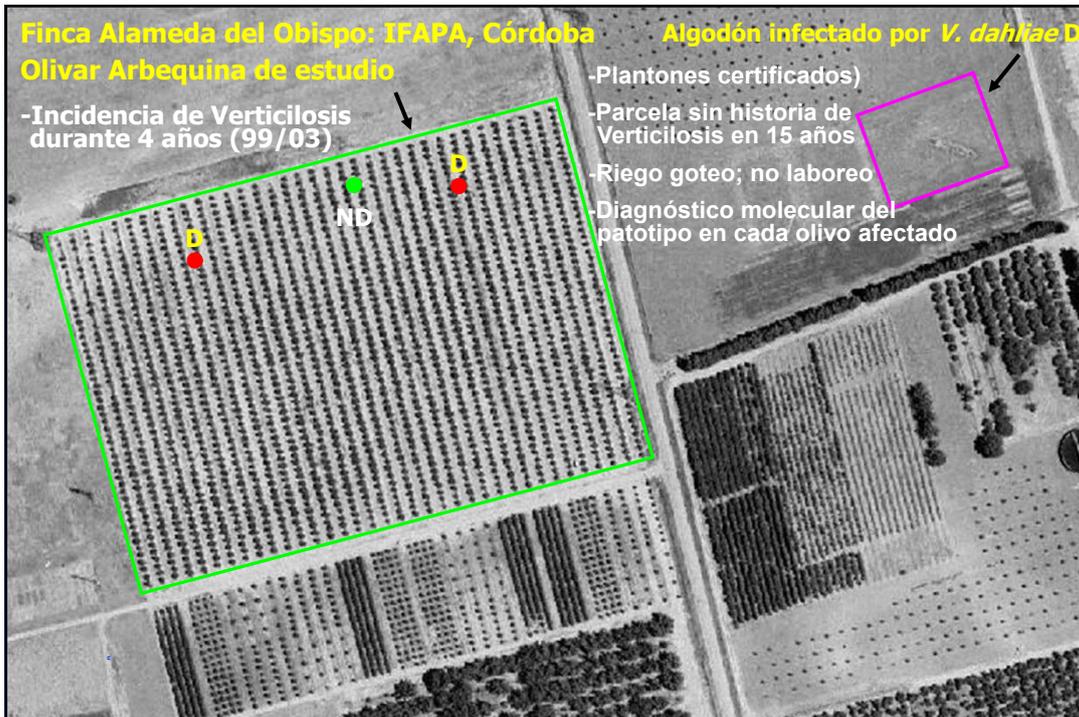
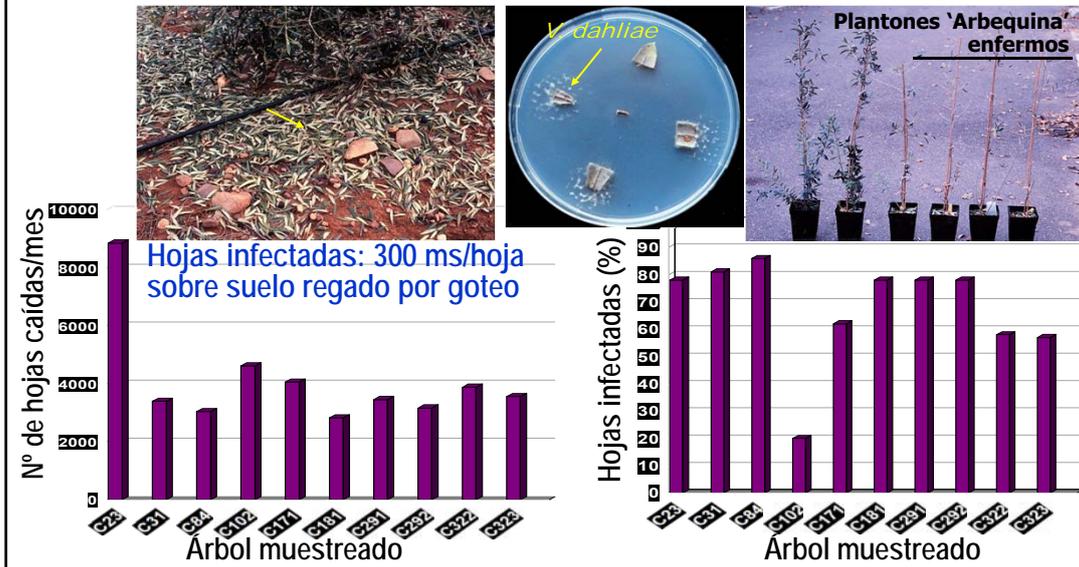
**Repercusiones de la prevalencia del patotipo D de *V. dahliae* sobre el control de la Verticilosis del olivo. Inóculo con mayor potencial para causar enfermedad y capacidad de dispersión (II)**

	Cultivar	No Defol.	Plantas afectadas (%)	
			D (ms./g. suelo)	
			5	21
• Reducción del umbral de cantidad de inóculo D en el suelo para desarrollo de Verticilosis en Picual: umbral 3 ms/g suelo; 64% de plantas enfermas con 10 ms./g suelo). No enfermedad con igual densidad de inóculo ND	Cornicabra	MS	75	100
	Picual	S	54,2	100
• Incremento de riesgo en vars. resistentes con el incremento de inóculo en suelo	Hojiblanca	S	8,3	87,5
	Arbequina	S	8,3	83,3
• Óptimo térmico para la infección superior (16°-24°C) al del patotipo ND (16-20 °C)	Frantoio	R	8,3	72,2
	Empeltre	R	4,2	52,1
• Incremento del inóculo, y mayor facilidad de dispersión dentro y entre olivares, mediante hojas infectadas	Changlot Real	R	33,3	54,2
	Koroneiki	R	72,2	72,2

López Escudero and Blanco López. 2007. Plant Disease 91; Martos et al. 2006. HorstScience 41; Trapero et al. 2013. Plant Disease 97. Calderón et al. 2014. PLOS ONE.

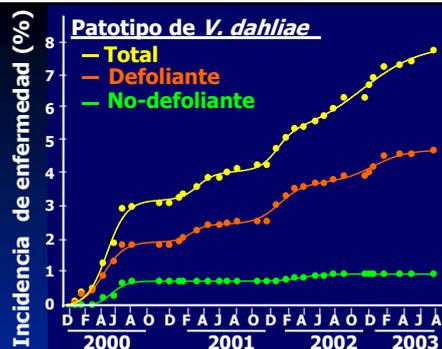
## Incremento de inóculo en el suelo por la defoliación de olivos 'Arbequina' infectados por *V. dahliae* defoliante

(Rodríguez Jurado y Jiménez Díaz. No publicado)

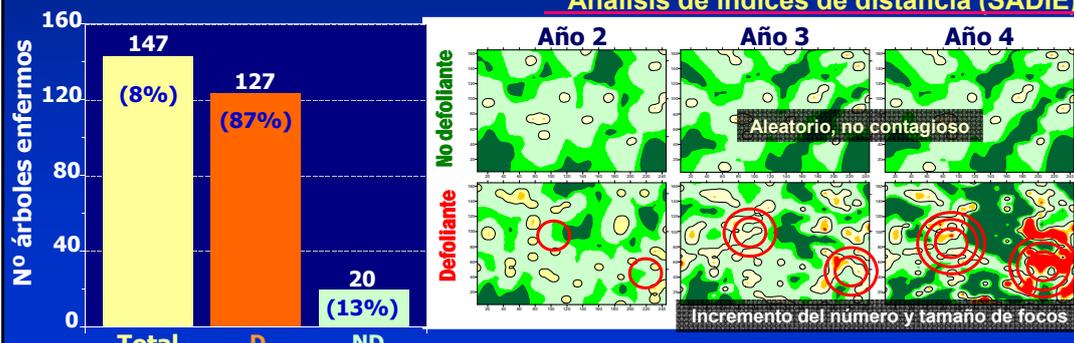


## Incremento de plantas afectadas de Verticilosis en una plantación de 'Arbequina' de no-laboreo regada por goteo: 3/1999 a 147/2003)

Los árboles enfermos se distribuyeron en focos, cuyo número y tamaño aumentó en el tiempo según un proceso contagioso (el estado de un árbol dependió del de su vecino más próximo) (Navas-Cortés, Landa y Jiménez-Díaz. 2008. Phytopathology 98: 167-180.)



### Análisis de índices de distancia (SADIE)



**“La complejidad etiológica y epidemiológica de la Verticilosis del olivo requiere el uso de planta resistente como elemento clave para su gestión integrada”**

### Índice

- Extensión y prevalencia de la Verticilosis del olivo en Andalucía
- Elementos de complejidad: El agente causal. Su diversidad genética (patotipos), ecología y biología
- **Variación patogénica en *Verticillium dahliae*: relación entre linajes, patotipos y razas patogénica**
- Patrones resistentes a los patotipos y razas de *Verticillium dahliae*
- Protección contra la Verticilosis de variedades susceptibles injertadas sobre patrones resistentes: Vertirés®

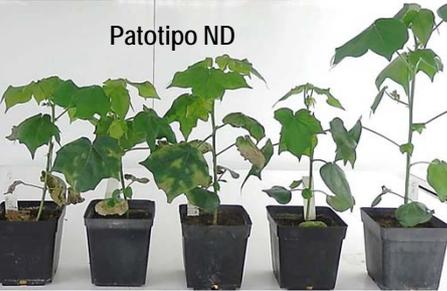
**Elementos de complejidad: *Verticillium dahliae* tiene una estructura clonal compuesta por 9 linajes en la que existen superpuestos dos tipos de variación patogénica**

(Milgroom et al. 2014. PLoS One 9; Jiménez Díaz et al. 2017. Plant Pathol. 66)

Patotipo D



Patotipo ND



Control



➤ **Patotipo defoliante (D) de algodón y olivo, circunscrito en el linaje 1A, y patotipo no defoliante (ND) comprendido en los linajes 1B, 2A, 2B<sup>334</sup>, 2B<sup>824</sup>, 2B<sup>R1</sup>, 4A, 4B y 6**

Relaciones entre linajes, patotipos y razas

Linaje	N por linaje	Patotipo	Raza
1A	110	D	2
1B	5	ND	2
2A	27	ND	1
2B <sup>334</sup>	10	ND	2
2B <sup>824</sup>	12	ND	2
2B <sup>R1</sup>	2	ND	2
4A	9	ND	2
4B	18	ND	2
6	2	ND	--

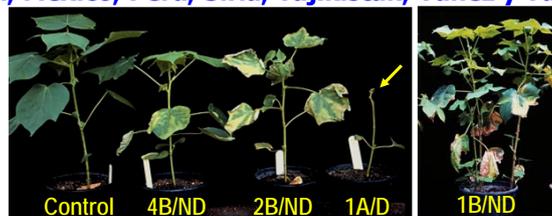
➤ **Dos razas patogénicas**

**Raza 1:** Definida por **poseer el gen *Ave1***.  
No patogénica sobre vars. con el **gen *Ve1***

**Raza 2:** Definida por **carecer de *Ave1***.  
Patogénica sobre vars. con el **gen *Ve1*** y cultivos en los que no consta uso del mismo

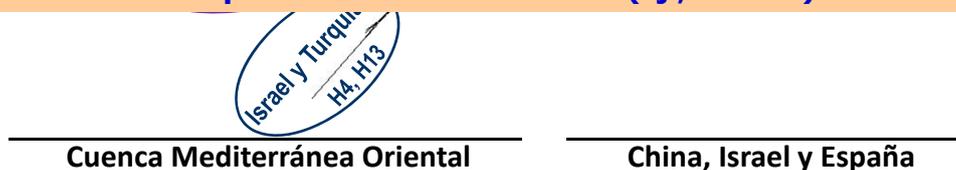
**¿Cual es el origen del patotipo D de *Verticillium dahliae* en Andalucía?, ¿derivado por mutación de una población nativa no defoliante, o de origen exótico e introducido en España?**

- El patotipo D fue primeramente identificado en algodón (1960s) y olivo (1971) en California, y se demostró predominante en Arizona, N. México y Texas (SO, USA)
- **En el SO de EE UU se produjeron los primeros ataques severos de Verticilosis en algodón de regadío en áreas vírgenes, desérticas, a principios del siglo XX** (Bell,1992. Cotton diseases).
- El patotipo D se encuentra restringido en el linaje 1A, y los aislados del linaje 1B son del patotipo ND, se han descrito solamente en EE UU y son genéticamente casi-idéntico al linaje 1A
- **En la actualidad, el patotipo D se encuentra mundialmente distribuido (China, Grecia, Irán, Israel, México, Perú, Siria, Tajikistán, Túnez y Turquía)**



El análisis genealógico y filogenético de SNPs en 91 aislados de *V. dahliae* del linaje 1A y distribución mundial identificaron 5 grupos de haplotipos correlacionados con el origen geográfico y a los originarios del SO de EE UU como haplotipos ancestrales. Migración inferida al superponer los orígenes geográficos de los haplotipos sobre su genealogía

El patotipo D se originó en los EE.UU. mediante mutaciones en un linaje antepasado ND solo identificado en ese país. Su expansión en la Cuenca Mediterránea es consecuencia de al menos cinco introducciones (¿semillas de algodón infectadas?) desde poblaciones originarias, y ejemplo de rápida expansión clonal de biotipos de hongos fitopatógenos altamente adaptados y virulentos sobre huéspedes exóticos con los que no han coevolucionado (Ej., el olivo)



Milgroom et al. 2016. *Phytopathology* 106: 1038-1046

## “La complejidad etiológica y epidemiológica de la Verticilosis del olivo requiere el uso de planta resistente como elemento clave para su gestión integrada”

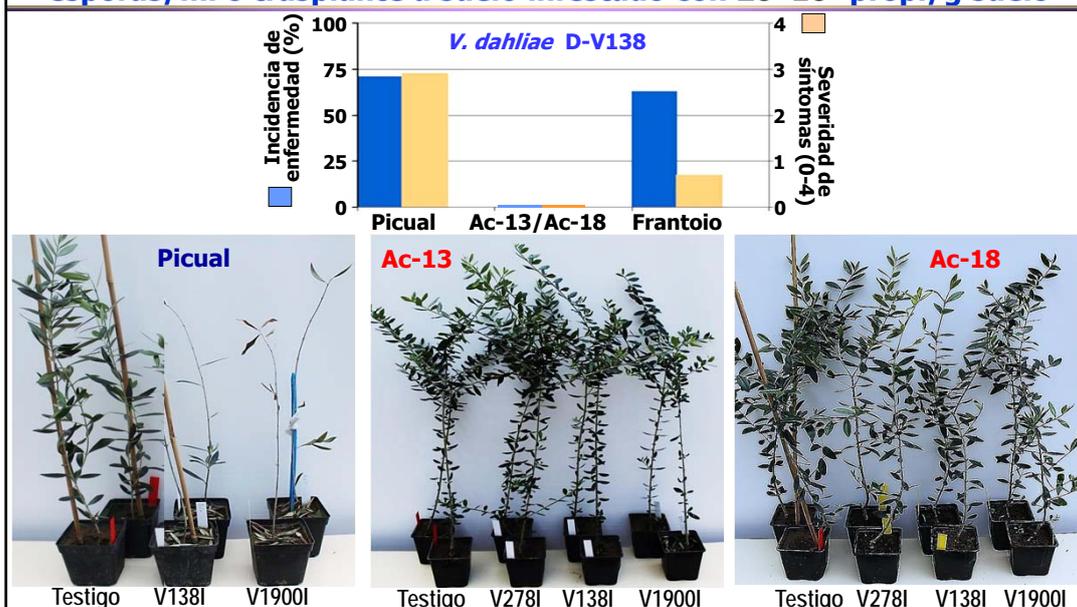
### Índice

- Extensión y prevalencia de la Verticilosis del olivo en Andalucía
- Elementos de complejidad: El agente causal. Su diversidad genética (patotipos), ecología y biología
- Variación patogénica en *Verticillium dahliae*: relación entre linajes, patotipos y razas patogénica
- **Patrones resistentes a los patotipos y razas de *Verticillium dahliae***
- Protección contra la Verticilosis de variedades susceptibles injertadas sobre patrones resistentes: Vertirés®

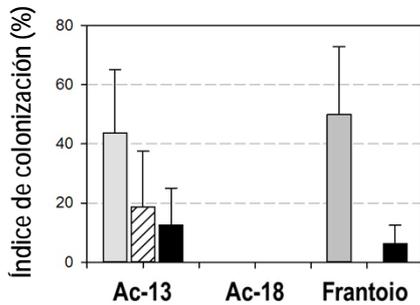
## Desarrollo de patrones altamente resistentes a los patotipos y razas de *V. dahliae* en condiciones óptimas para la Verticilosis en olivo

- Clones de acebuche (Ac-13, Ac-18) seleccionados previamente (Proyecto Fundación Ramón Areces. 2005-07)
- Plantas autoenraizadas y certificadas (Plantas Continental) de 6 a 10 meses
- Bioensayos de resistencia en condiciones experimentales controladas
- Evaluación de la resistencia por: síntomas, infección de la planta y la cuantificación del ADN de *V. dahliae* en el tallo [[qPCR, límite de detección 18 fg ( $10^{-15}$ g), inferior a 28 fg de ADN en una espora] (Gramaje et al. 2013. Phytopathology 113.)
- Factores que potencialmente pueden influir sobre la respuesta resistente:
  - \* Diversidad genética y geográfica de los aislados de *V. dahliae*: D/raza 2 (Andalucía, Israel, Turquía); ND/raza 1, ND/raza 2 (Andalucía)
  - \* Infección del sistema radical de la planta por el nematodo nodulador *Meloidogyne javanica*
  - \* Coinfección del sistema radical de la planta por micorrizas arbusculares

## Resistencia completa de los clones Ac-13 y Ac-18, a los 3 meses de la inoculación con *V. dahliae* defoliante por inmersión radical en $10 \times 10^6$ esporas/ml o trasplante a suelo infestado con $20 \times 10^6$ prop./g suelo

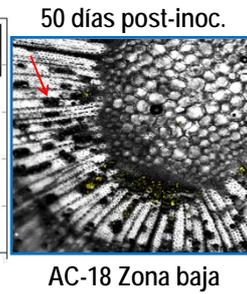
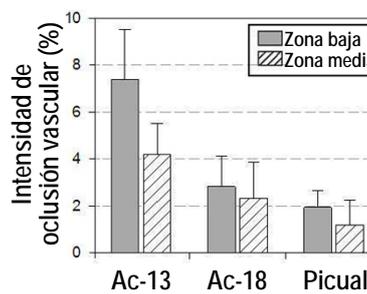
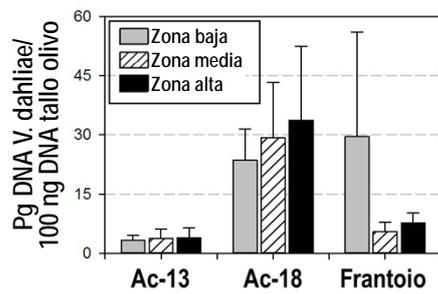


**La resistencia de los clones Ac-13 y Ac-18 reduce significativamente la infección por *V. dahliae* D** (Jiménez-Fernández et al. 2016. Plant Pathol. 166: 279)

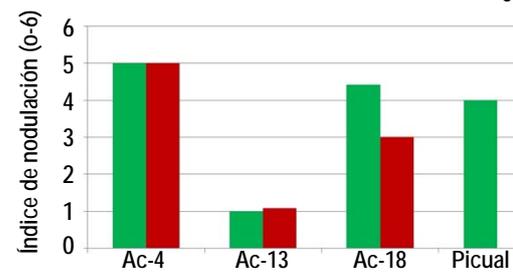
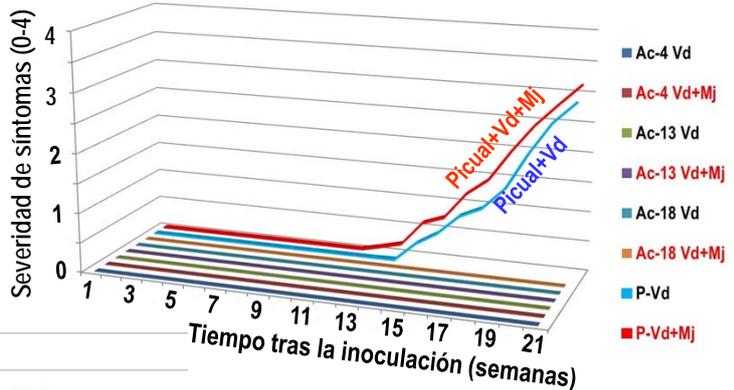


**Concentración media de ADN de *V. dahliae* D en el tallo de la planta (pg/100 ng ADN olivo)**

Olivo o clon	Total	Relativa a Picual (%)
Picual	5,532.00	100
Ac-13	3.64	0.06
Ac-18	28.89	0.52
Frantoio	14.30	0.26

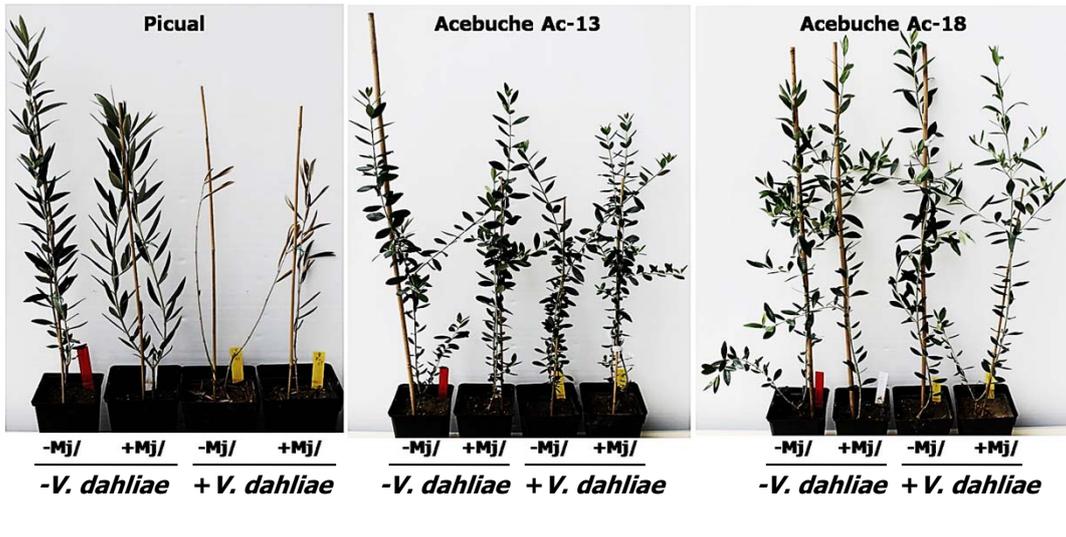


**La resistencia de los clones Ac-13 y Ac-18 a *V. dahliae* D V-781 ( $20 \times 10^6$  propag./g suelo) no es modificada por la coinfección con *Meloidogyne javanica* (Mj) ( $10^4$  huevos+J2s/ml)**

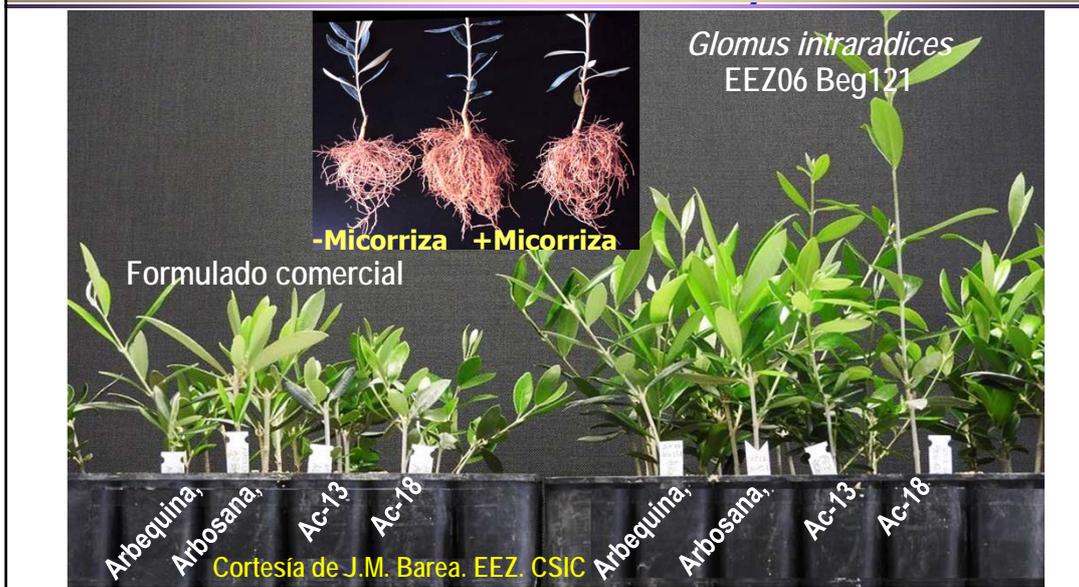


● *Meloidogyne javanica* + *V. dahliae*  
● *Meloidogyne javanica*

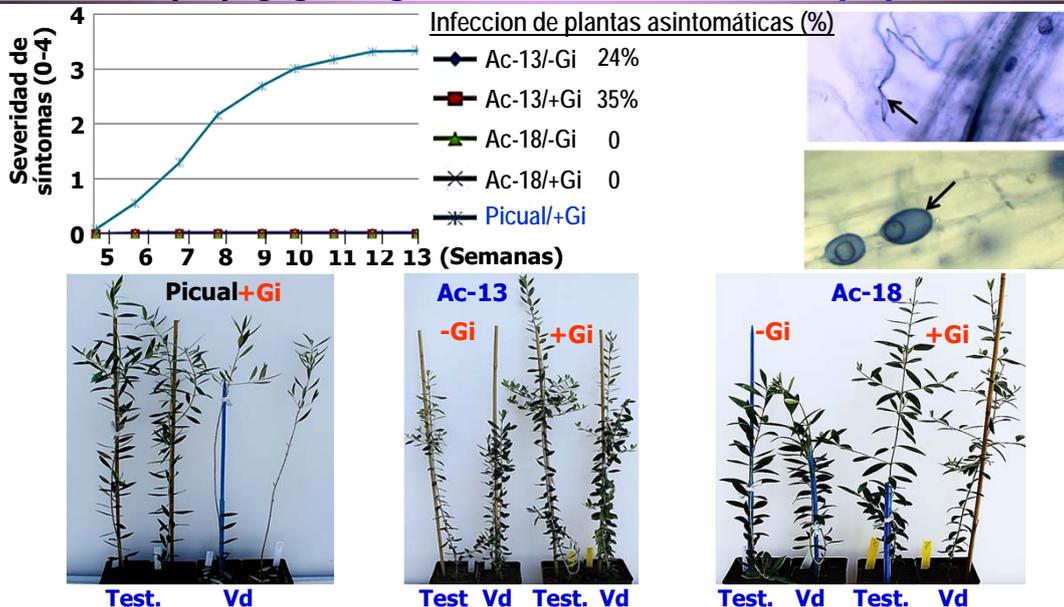
**Resistencia completa de los clones Ac-13 y Ac-18, 3 meses después de la inoculación simultánea con  $10^4$  huevos+J2s/ml de *Meloidogyne javanica* (Mj) y  $20 \times 10^6$  propag./g suelo de *V. dahliae* D V-781**



**La micorrización con estirpes de *Glomus intraradices* seleccionadas de la rizosfera de olivo promueven el crecimiento de los clones Ac-13 y Ac-18**



**La micorrización con *Glomus intraradices* Beg 121 (Gi) no modifica la resistencia de los clones Ac-13 y Ac-18 en suelo infestado con  $60 \times 10^6$  propagágulos/g suelo de *V. dahliae* D V-138 (Vd)**



**“La complejidad etiológica y epidemiológica de la Verticilosis del olivo requiere el uso de planta resistente como elemento clave para su gestión integrada”**

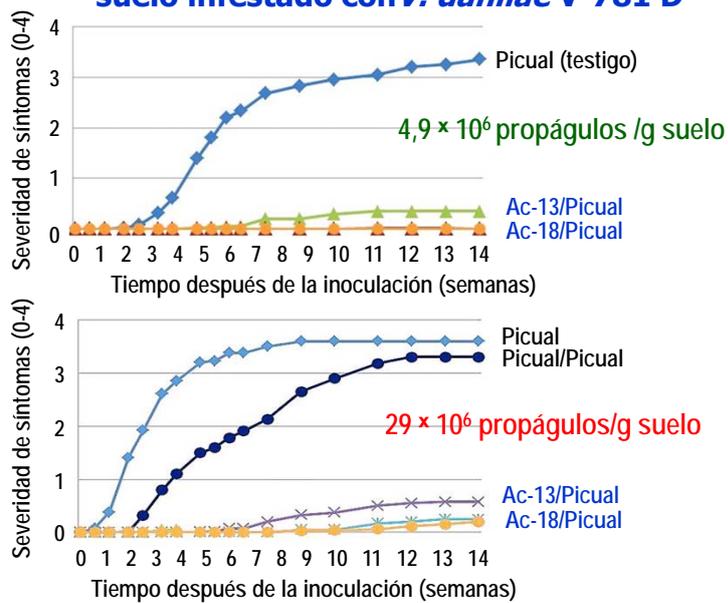
**Índice**

- Extensión y prevalencia de la Verticilosis del olivo en Andalucía
- Elementos de complejidad: El agente causal. Su diversidad genética (patotipos), ecología y biología
- Variación patogénica en *Verticillium dahliae*: relación entre linajes, patotipos y razas patogénica
- Patrones resistentes a los patotipos y razas de *Verticillium dahliae*
- **Protección contra la Verticilosis de variedades susceptibles injertadas sobre patrones resistentes: Vertirés®**

**Desarrollo asintomático de olivo Picual injertado sobre los patrones Ac-13 y Ac-18 pre-infectados por *V. dahliae* D**



**Resistencia a la Verticilosis en Picual injertado sobre patrones Ac-13 y Ac-18 (pre-infectados por *V. dahliae* D pero asintomáticos) en suelo infestado con *V. dahliae* V-781 D**



**Resistencia a la Verticlosis de Picual injertado sobre patrones Ac-13 y Ac-18 (pre-infectados por *V. dahliae* D pero asintomáticos) tras 14 semanas de crecimiento en suelo infestado con *V. dahliae* V-781 D**

4,9 millones de propágulos/g suelo

29 millones de propágulos/gramo suelo



Ac-13 Ac-18 Ac-13 Picual ← Patrones → Ac-13 Ac-18 Ac-13 Picual

**Desarrollo asintomático de Picual injertado sobre patrones Ac-13 y Ac-18 (pre-infectados por *V. dahliae* D pero asintomáticos), tras 15 meses de crecimiento en suelo infestado con  $4,9 \times 10^6$  o  $29 \times 10^6$  propágulos/g suelo de *V. dahliae* D V-781**



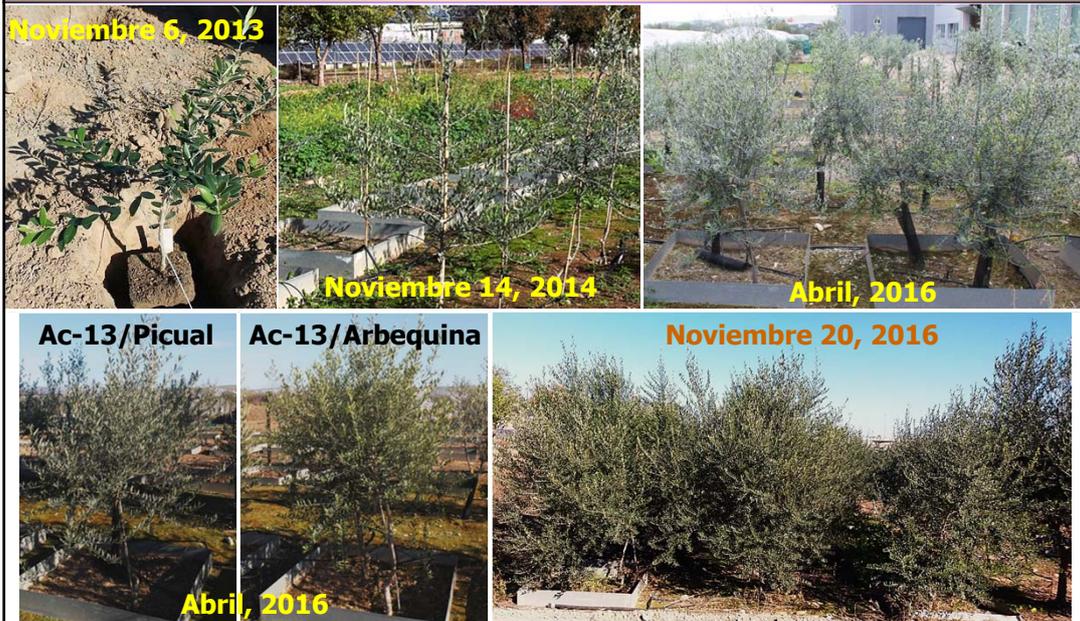
Inoculados

Testigos

**Resistencia a la Verticilosis de Arbequina y Picual injertados sobre los patrones Ac-13 y Ac-18, tras 11 semanas de crecimiento en suelo infestado con  $50 \times 10^6$  propágulos/g suelo de *V. dahliae* D V-781**



**Crecimiento asintomático de Arbequina y Picual injertados sobre los patrones Ac-13 y Ac-18 y trasplantados a suelo con el cepellón infestado con  $22 \times 10^6$  o  $50 \times 10^6$  propaq./g suelo de *V. dahliae* V-1900I o V-781I**



## Desarrollo de olivos 'Arbequina' y 'Picual' autoenraizados o injertados sobre los clones 'Ac-13' y 'Ac-18', plantados en IAS/CSIC, Córdoba, el 1/10/2014

18 meses después de la plantación



## Conclusiones

- La Verticilosis es un problema fitopatológico actual e importante para la sostenibilidad del olivar en Andalucía, y a su vez ejemplo de las repercusiones negativas que pueden derivarse del fallo en la aplicación en tiempo y forma de las acciones para el control de enfermedades que recomienda la Ciencia Fitopatológica
- La amplia distribución y prevalencia del patotipo D de *V. dahliae* en Andalucía confieren al manejo de la Verticilosis una dificultad adicional a la inherente por la complejidad de la enfermedad
- Los patrones Ac-13 y Ac-18 proporcionan una medida de control clave para la gestión integrada de la Verticilosis del olivo, porque son altamente resistentes a todos los patotipos y razas de *V. dahliae* conocidos hasta ahora, incluso ante coinfecciones por nematodos noduladores y por micorrizas arbusculares que estimulan el desarrollo radical de la planta
- Los patrones Ac-13 y Ac-18 son compatibles con las vars. Arbequina y Picual, a las que confieren protección contra poblaciones elevadas del patotipo D (y por extensión al ND). Estos patrones han sido registrados por la Universidad de Córdoba en la CPVO y licenciados a Plantas Continental, S.A. para el producto Vertirés®

**Jornada sobre el Aceite de Oliva: Patrimonio agronómico,  
cultural, social y ambiental. Amenazas y oportunidades,  
(Madrid, 24/05/2017)**

**Rafael M. Jiménez Díaz  
Catedrático Emérito de Patología Vegetal**

**¡Muchas gracias por su amable atención!**

Fundación Ramón Areces

Consejería de Innovación, Ciencia  
y Empresa; J.A.: P10-AGR 6082

Ministerio de Economía y  
Competitividad : AGL2011-24935



PAIDI: AGR 136 Sanidad Vegetal

