

Resumen:

El presente TFM se centra en las enfermedades del Chancro de ramas y la Lepra en olivo, causadas por distintas especies de hongos. El chancro de ramas está causado por especies de la familia de hongos Botryosphaeriaceae (*Neofusicoccum mediterraneum* y *Neof. parvum*), mientras que la especie *Phlyctema vagabunda* causa la Lepra. El objetivo principal de este estudio es evaluar la resistencia de distintas variedades de olivo a los principales agentes causantes del Chancro y Lepra, y estudiar su impacto ecofisiológico. Asimismo, se evalúa el crecimiento micelial de los agentes fitopatógenos bajo diferentes condiciones de temperatura (0°C a 40°C) y la disponibilidad de agua en el medio de cultivo. En este último ensayo, *Neof. mediterraneum* y *Neof. parvum* mostraron un crecimiento máximo a 25°C, siendo este nulo a temperaturas $\geq 35^\circ\text{C}$. La especie *P. vagabunda* mostró un óptimo de temperatura a 25°C y un crecimiento nulo a temperaturas $\geq 30^\circ\text{C}$. Para evaluar el efecto de la disponibilidad de agua en el crecimiento de los hongos se utilizó glicerol, creando diferentes niveles de potencial hídrico (-0,62 MPa a -14,93 MPa) en medio de cultivo agar patata dextrosa (PDA). El caso de las especies de *Neofusicoccum*, la máxima tasa de crecimiento micelial ocurrió con un potencial hídrico de -4,04 MPa. La adición de polvo de rama de olivo al medio de cultivo en el crecimiento de los patógenos estimuló el crecimiento micelial de las especies de *Neofusicoccum*, pero no de *P. vagabunda*.

En la segunda parte del estudio, se llevó a cabo la inoculación en campo utilizando diferentes aislados de los hongos *Neof. mediterraneum* y *Neof. parvum*. Para ello, se seleccionaron 10 variedades de olivo, incluyendo ‘Gordal sevillana’ como control susceptible. Las variedades están repartidas en los tres bloques con cuatro olivos como una unidad experimental. De cada unidad experimental se seleccionaron dos árboles y se inocularon tres ramas por especie fúngica-aislado. Los primeros síntomas (chancros y decoloración) se observaron a las dos semanas de la inoculación, midiéndose longitud del chancro y determinándose si el hongo llegaba a anillar completamente las ramas. La longitud media del crecimiento del chancro causado por *Neof. mediterraneum* varió entre 5,7 cm para ‘Hojiblanca’ y 4,2 cm para ‘Manzanilla cacereña’. Por su parte, los chancros causados por *Neof. parvum* oscilaron entre 8,0 cm para ‘Gordal Sevillana’ y 3,2 cm para ‘Cornicabra’. En general, *Neof. parvum* causó un porcentaje de ramas anilladas (22,2%) ligeramente superior que al causado por *Neof. mediterraneum* (20,6%).

Ambas especies de *Neofusicoccum* causaron una disminución del crecimiento vegetativo de la planta, que pasó del 1.6 cm en ramas control a 0,4 cm para *Neof. parvum* y 0,7 cm para *Neof. mediterraneum*. El 19% del total de ramas inoculadas murieron, este porcentaje fue máximo en el caso de ‘Gordal sevillana’ y ‘Verdial de Badajoz’ (13% en ambos casos). Ambos patógenos, además, causaron reducciones del 26% en la conductancia estomática y del 10% en el potencial hídrico de las hojas con respecto a las ramas control. En cambio, los patógenos no afectaron a fluorescencia de las hojas según el índice PhisP2. Por último, no se observó relación entre la severidad del chancro (longitud) y distintos rasgos morfo-fisiológicos de los cultivares como la capacidad de retención de agua de la hoja, la densidad de la hoja, la densidad de la madera, y su concentración de carbono y nitrógeno, y lignina. El presente TFM constituye el primer estudio que evalúa la resistencia de cultivares de olivo a los principales agentes causantes del Chancro de rama y su impacto sobre la actividad fisiológica de la planta.

Palabras claves: Chancro, *Neofusicoccum*, *Phlyctema vagabunda*, anillado, secado, potencial hídrico, conductancia estomática.

Abstract:

This TFM focuses on Branch canker and leprosy diseases in olive trees, caused by different fungal species. Branch canker is caused by species of the Botryosphaeriaceae fungal family (*Neofusicoccum mediterraneum* and *Neof. parvum*), while the *Phlyctema vagabunda* species causes Leprosy. The main objective of this study is to evaluate the resistance of different olive varieties to the main causal agents of Branch canker and Leprosy and to study their ecophysiological impact. In addition, we evaluated the mycelial growth of the fungi under different temperature conditions (0°C to 40°C) and water availability in the culture medium. In this latter assay, *Neof. mediterraneum* and *Neof. parvum* species showed maximum growth at 25°C, that being null at temperatures $\geq 35^\circ\text{C}$. The species *P. vagabunda* also showed a temperature optimum at 25°C, but the pathogen did not grow at temperatures $\geq 30^\circ\text{C}$. The effect of water availability on fungal growth was evaluated by adding glycerol to create different levels of water potential (-0,62 MPa to -14,93 MPa) in a potato dextrose agar (PDA) culture medium. In the case of *Neofusicoccum* species, the maximum mycelial growth rate occurred at the water potential of -4.04 MPa. Adding olive branch powder to the culture medium stimulated the mycelial growth of *Neofusicoccum* species but not of *P. vagabunda*.

In the second part of the study, we inoculated 10 Spanish olive cultivars using different isolates of *Neof. mediterraneum* and *Neof. parvum*. ‘Gordal sevillana’ was selected as a susceptible control. The varieties are distributed in the three blocks with four olive trees as an experimental unit. Thus, two olives were selected from each experimental unit, and three branches of each tree were inoculated with the different isolates. The first symptoms (cankers and discoloration) were observed two weeks after inoculation. At that moment, we evaluated the canker length and branch girdling. The average size of canker growth caused by *Neof. mediterraneum* ranged from 5.7 cm for ‘Hojiblanca’ to 4.2 cm for ‘Manzanilla cacereña’. Likewise, cankers caused by *Neof. Parvum* ranged from 8.0 cm for ‘Gordal sevillana’ to 3.2 cm for ‘Cornicabra’. In general, *Neof. parvum* caused a slightly higher percentage of branch girdling (22.2%) than that caused by *Neof. mediterraneum* (20.6%).

Both *Neofusicoccum* species limited the plant's vegetative growth, ranging from 1.6 cm (control nonincubated branches) to 0,4 cm for *Neof. parvum* y 0,7 cm for *Neof. mediterraneum*. Nineteen percent of the inoculated branches showed dieback, being maximum (13%) in the cases of the ‘Gordal sevillana’ and ‘Verdial de Badajoz’. As compared with the control, both species also caused 26% and 10% reductions of stomatal conductance and leaf

water potential, respectively. Still, they did not impact the leaf fluorescence according to the PhisP2 index. Finally, no relationship was observed between canker severity (cm) and other plant traits, including leaf water capacity, leaf density, wood density, carbon and nitrogen, and lignin. The present TFM constitutes the first study evaluating the resistance of major olive cultivars to the main causal agents of branch canker under field conditions and their impact on the physiological activity of the tree.

Keywords: Canker, *Neofusicoccum*, *Phlyctema vagabunda*, girdling, desiccation, water potential, stomatal conductance.