

Resumen

La Verticilosis del olivo, causada por *Verticillium dahliae* Kleb., es una de las enfermedades más importantes que afectan a este cultivo en el mundo. Las epidemias de la enfermedad revisten una gravedad creciente en Andalucía. En esta región, los aislados de *V. dahliae* que infectan olivo son clasificados principalmente como pertenecientes a los patotipos defoliante (D) altamente virulento y no defoliante (ND) moderadamente virulento. El patógeno tiene una amplia gama de plantas huéspedes, incluyendo especies cultivadas y silvestres. Numerosas malas hierbas son huéspedes de *V. dahliae*, aunque a veces no muestran síntomas, y podrían estar relacionadas con la epidemiología de la Verticilosis en las áreas de cultivo del olivo en Andalucía, donde un elevado número de especies de malas hierbas están presentes. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la reacción diferencial de diversas especies de malas hierbas de importancia en el olivar andaluz a la infección por aislados representativos de los patotipos defoliante y no defoliante de *V. dahliae*.

Un total de nueve especies de malas hierbas fueron seleccionadas para este estudio, pertenecientes a las familias *Compositae* (*Aster squamatus*, *Xanthium strumarium*), *Cucurbitaceae* (*Ecballium elaterium*) y *Malvaceae* (*Lavatera cretica*, *L. trimestris*, *Malva neglecta*, *M. nicaeensis*, *M. parviflora*, *M. sylvestris*). En estos experimentos se incluyeron además como testigos de susceptibilidad conocida las variedades de algodónero Acala SJ-2 y Crema 111, que son susceptible y tolerante a la Verticilosis, respectivamente, en condiciones de campo. La inoculación de las plantas con los aislados D y ND de *V. dahliae* se realizó mediante la inmersión del sistema radicular en una suspensión ajustada de conidias de cada aislado. Tras la inoculación, las plantas se mantuvieron en un invernadero con condiciones ambientales adecuadas para el desarrollo de la Verticilosis.

Los aislados ND y D de *V. dahliae* fueron patogénicos sobre las variedades de algodónero, *X. strumarium* y las diversas especies de la familia *Malvaceae* estudiadas, mientras que solo el aislado ND fue patogénico sobre *A. squamatus*, y ninguno de los aislados indujo el desarrollo de síntomas en *E. elaterium*. Los síntomas de enfermedad observados en las plantas afectadas consistieron en clorosis, necrosis y marchitez de los

tejidos foliares, y la aparición de coloración vascular en la base del tallo. En el caso de las variedades de algodónero y *X. strumarium* se detectó también una coloración rojo-púrpura en los tejidos de los márgenes de las hojas; y en las plantas de ambas variedades de algodónero inoculadas con el aislado D se apreció la ocurrencia de defoliación acentuada.

Diferentes patrones en la virulencia relativa de los aislados ND y D sobre las especies inoculadas fueron observados en los experimentos realizados. El aislado D fue significativamente más virulento que el ND en las dos variedades de algodónero, en *Lavatera* spp. y en *Malva* spp., mientras que el aislado ND mostró una virulencia superior en *X. strumarium* y en *A. squamatus*.

La susceptibilidad de las especies estudiadas a los aislados de *V. dahliae* inoculados varió dentro de un rango amplio. El aislado D ocasionó en las dos variedades de algodónero síntomas foliares muy severos, defoliación y muerte de las plantas, en contraste con el aislado ND que causó síntomas moderados sin defoliación en dichas variedades. Ambos aislados fueron moderadamente virulentos en *X. strumarium* pero, aunque el aislado ND determinó valores superiores de las variables descriptivas de la cantidad de enfermedad desarrollada en comparación con el aislado D, en ningún caso se llegaron a observar plantas muertas o próximas a morir. El aislado ND fue débilmente virulento en *A. squamatus*, *Lavatera* spp. y *Malva* spp. y, similarmente, el aislado D fue débilmente virulento en *Lavatera* spp. y *Malva* spp.; en todos estos casos, la severidad de los síntomas de Verticilosis fue muy reducida o relativamente baja.

Las plantas de *A. squamatus* inoculadas con el aislado D de *V. dahliae* y las plantas de *E. elaterium* inoculadas con los aislados ND o D del patógeno no manifestaron síntomas detectables de la enfermedad, y estas especies fueron clasificadas como resistentes a los respectivos patotipos. Sin embargo, el hongo fue reaislado al final de los experimentos de la raíz de las plantas de *A. squamatus* y de la raíz y parte aérea de las plantas de *E. elaterium*, indicando la capacidad de estas especies de malas hierbas de actuar como portadores asintomáticos de *V. dahliae* en condiciones de elevado potencial de inóculo.

Summary

Verticillium wilt, caused by the fungus *Verticillium dahliae* Kleb., is one of the most important diseases affecting olive crops in the world. Epidemics of the disease have become a serious problem in Andalucía, southern Spain. In this region, *V. dahliae* isolates infecting olive plants are classified mainly as belonging to the defoliating (D) highly virulent and non defoliating (ND) moderately virulent pathotypes. The pathogen has a wide host range, including cultivated and non cultivated plant species. Weeds are common hosts of *V. dahliae*, although sometimes show no symptoms, and they could be involved in the epidemiology of Verticillium wilt in the olive-growing areas of Andalucía, where a high number of weed species are present. The objective of this work was to evaluate the disease reaction of several weed species, which are of importance in olive orchards in Andalucía, to the infection by isolates representatives of the defoliating and non defoliating pathotypes of *V. dahliae*.

Nine weed species were selected for this study, belonging to the families Compositae (*Aster squamatus*, *Xanthium strumarium*), Cucurbitaceae (*Ecballium elaterium*) and Malvaceae (*Lavatera cretica*, *L. trimestris*, *Malva neglecta*, *M. nicaeensis*, *M. parviflora*, *M. sylvestris*). The cotton cultivars Acala SJ-2 and Crema 111, highly susceptible and tolerant to Verticillium wilt under field conditions, respectively, were also included in the experiments for comparison of disease reactions. Plants were inoculated with the ND or D isolates of *V. dahliae* by the root-dip inoculation method. After that, the plants were maintained in a greenhouse at conditions suitable for development of Verticillium wilt.

The ND and D isolates of *V. dahliae* were pathogenic to cotton cultivars, *X. strumarium* and all species from the family Malvaceae under study, while only ND isolate was pathogenic to *A. squamatus*, and none of them induced disease symptoms in *E. elaterium*. Verticillium wilt symptoms in affected plants included chlorosis, necrosis and wilt of foliar tissues, and vascular discoloration at the stem base. For cotton cultivars and *X. strumarium*, it was also detected a red-purple color in the leaf margins. Severe defoliation took place in the two cotton cultivars inoculated with the D isolate.

Different patterns were observed in the relative virulence of the ND and D isolates on the inoculated species. The D isolate was significantly more virulent than the

ND isolate in the two cotton cultivars, in *Lavatera* spp. and in *Malva* spp., while the ND isolate showed a higher virulence in *X. strumarium* and *A. squamatus*.

The studied species showed differences in susceptibility to the isolates of *V. dahliae* inoculated. The D isolate induced severe foliar symptoms in the two cotton cultivars, together with defoliation and death of the plants, in contrast with the ND isolate that caused moderate symptoms without defoliation in these cotton cultivars. Both isolates were moderately virulent in *X. strumarium* but, despite the higher values of disease development determined by the ND isolate compared to the D isolate, dead plants or plants near to death were not observed. The ND isolate was weakly virulent to *A. squamatus*, *Lavatera* spp. and *Malva* spp. and, similarly, the D isolate was weakly virulent to *Lavatera* spp. and *Malva* spp.; in all these cases, the disease severity values were very small or relatively low.

Plants of *A. squamatus* inoculated with the D isolate of *V. dahliae* and plants of *E. elaterium* inoculated with the ND or D isolates of the pathogen did not show symptoms of Verticillium wilt, and these species were classified as resistant to the respective pathotypes. However, the fungus was re-isolated at the end of the experiments from the root of plants of *A. squamatus* and from the root and stem of plants of *E. elaterium*, indicating that these weed species can play a role as symptomless carriers of *V. dahliae* under high inoculum potential conditions.