

El Escudete de la aceituna I: Biología y daños en olivares de la provincia de Sevilla

N. GONZÁLEZ, E. VARGAS-OSUNA, A. TRAPERO

El Escudete de la aceituna, causado por el hongo *Camarosporium dalmaticum*, es una enfermedad ampliamente distribuida en la Cuenca Mediterránea pero de escasa importancia general, aunque en ocasiones se han observado graves ataques que suponen una merma considerable en la calidad de la aceituna de verdeo. La incidencia del patógeno se ha asociado a los daños previos causados por la mosca del olivo (*Bactrocera oleae*) y a la presencia de un posible agente vector, el díptero cecidómido *Prolasioptera berlesiana*, cuyas larvas pueden alimentarse de huevos de la mosca. En nuestras observaciones de campo y en los análisis de laboratorio no se observó *C. dalmaticum* ni *P. berlesiana* en las aceitunas sin daños de mosca. Los datos obtenidos de incidencia de Escudete y del cecidómido no permiten confirmar ni rechazar la hipótesis de que *P. berlesiana* sea vector de *C. dalmaticum*, ya que en un porcentaje elevado (77.5%) de aceitunas con Escudete no se encontró *P. berlesiana* y en el escaso número de larvas de cecidómido analizadas no se detectó *C. dalmaticum*. La mayor incidencia de *P. berlesiana* en picada de mosca no viva frente a picada viva, así como en lesiones de Escudete, sugiere el papel del mosquito como depredador de huevos de mosca y/o micófago, si bien habría que confirmar estas posibilidades con trabajos en condiciones controladas. El estado sexual del hongo, desconocido hasta ahora, no se ha podido obtener en condiciones controladas, aunque se produjeron cuerpos inmaduros que podrían corresponderse con ascomas de dicho estado. Las aceitunas afectadas de Escudete produjeron un aceite de calidad "Virgen Extra", aunque con mayor acidez e índice de peróxidos y menor estabilidad que el obtenido de aceitunas sanas.

N. GONZÁLEZ, A. TRAPERO. Grupo de Patología Agroforestal, Dpto. Agronomía, ETSIAM, Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales, Edif. Celestino Mutis, 14071-Córdoba, España. Dirección de correo electrónico: trapero@uco.es
E. VARGAS-OSUNA. Grupo de Entomología Agroforestal. Dpto. Ciencias y Recursos Agrarios y Forestales, ETSIAM, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. Celestino Mutis, 14071-Córdoba, España.

Palabras clave: *Bactrocera oleae*, *Botryosphaeria dothidea*, *Camarosporium dalmaticum*, *Prolasioptera berlesiana*, calidad de aceite.

INTRODUCCIÓN

El Escudete de la aceituna, causado por el hongo *Camarosporium dalmaticum*, es una enfermedad ampliamente distribuida en la Cuenca Mediterránea, pero de escasa importancia general (TRAPERO y BLANCO, 2004). Las aceitunas afectadas presentan una lesión necrótica circular muy característica, que da

nombre a la enfermedad en español y en portugués, y que las inutiliza para mesa o verdeo (ANDRÉS, 1991). El efecto ocasionado en la extracción y calidad del aceite parece escaso, pero no ha sido suficientemente estudiado. SALGUES (1937) indica una disminución en el contenido de aceite en torno al 3 % y VERONA (1952) recomienda un trato separado para las aceitunas afectadas.

La enfermedad presenta generalmente una baja incidencia, aunque pueden darse condiciones determinadas en espacio y/o tiempo que le hagan cobrar un protagonismo destacado. Ello ocurrió en Brindisi (Italia), en el año 2002, donde las condiciones de temperatura y humedad mucho más elevadas que en años anteriores estuvieron asociadas con graves ataques de Escudete (LONGO *et al.*, 2004). En general, la enfermedad se desarrolla durante el verano, con tiempo muy seco y caluroso, lo que ha llevado a implicar a otros agentes bióticos como vectores de *C. dalmaticum* (PETRI, 1915; HARPAPAZ y GERSON, 1966; ANDRÉS, 1991).

Las infecciones causadas por *C. dalmaticum* están relacionadas con las heridas de oviposición causadas por la plaga principal del olivo, la mosca *Bactrocera oleae*, especie que se caracteriza por estar asociada a un reducido número de enemigos naturales que regulen sus poblaciones (CIVANTOS, 1999). El díptero cecidómido *Prolasioptera berlesiana* es un tercer agente relacionado con los dos anteriores (LONGO *et al.*, 2004), forma parte del complejo de enemigos naturales de la mosca pues es citado como depredador de huevos de ésta y además se ha sugerido que pueda actuar como vector de *C. dalmaticum* (ARAMBOURG, 1986; FRAVAL, 1997), sobre todo en condiciones de humedad especialmente baja y elevada temperatura. Este cecidómido, al pasar el invierno en forma de pupa en el suelo, podría adquirir las esporas del hongo procedentes de frutos, hojas y ramitas de olivo caídas y llevar consigo el patógeno hasta las aceitunas, constituyendo así la fuente de inóculo primario (SAREJANNI y PAPAIOANNAU, 1952). LA GRECA y VRENNNA (1995) consideran a este cecidómido como el principal responsable de la dispersión del hongo al existir una relación saprofítica con éste y ectoparasitaria con *B. oleae* (Figura 1). Según esta hipótesis los ciclos secundarios de la enfermedad vendrían condicionados a nuevas generaciones del insecto, aunque las interacciones entre los tres agentes no se han probado suficientemente (ANDRÉS, 1991).

Ante la escasez de estudios sobre esta enfermedad en España, se planteó este trabajo inicial, cuyos objetivos han sido: 1) identificar y relacionar los agentes asociados a los daños en aceituna durante su crecimiento y maduración; 2) inducir el estado sexual de *C. dalmaticum* puesto que no se conoce y podría jugar un papel importante en la supervivencia, variabilidad y dispersión del patógeno; y 3) determinar los efectos que infecciones de *C. dalmaticum* podrían tener en la calidad del aceite.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreos en campo

Para la toma de muestras se seleccionaron dos parcelas situadas en la Sierra Sur de Sevilla, una zona endémica de mosca que en años anteriores habían presentado una elevada incidencia de Escudete. La Parcela 1, situada en el término municipal de Algámitas, estaba plantada con la variedad 'Hojiblanca', pero tenía también algunos árboles de 'Manzanilla de Sevilla' y la producción se destinaba al verdeo. La Parcela 2, situada en Villanueva de San Juan, presentaba un mayor número de variedades entre las que destacaban 'Lechín de Sevilla' como principal y un cultivar local de Marchena, 'Tetuda', destinando la producción para aceite. Semanalmente, de julio a septiembre de 2004, se recogieron de 50 a 200 aceitunas entre ambas parcelas, muestreando una superficie de 3-4 has en cada una. El muestreo fue dirigido a frutos que presentaran algún tipo de daño (biótico o abiótico) y en los que posteriormente se intentaba detectar la presencia de *P. berlesiana* y el desarrollo de *C. dalmaticum*. Los muestreos iban encaminados también a la obtención de adultos del cecidómido para su determinación taxonómica y a la observación de los estados preimaginales (huevo, larva y pupa) del mismo. También se colocaron trampas cromotrópicas amarillas engomadas para hacer un seguimiento poblacional de los adultos del cecidómido aunque no se tenía constancia de su efectividad.

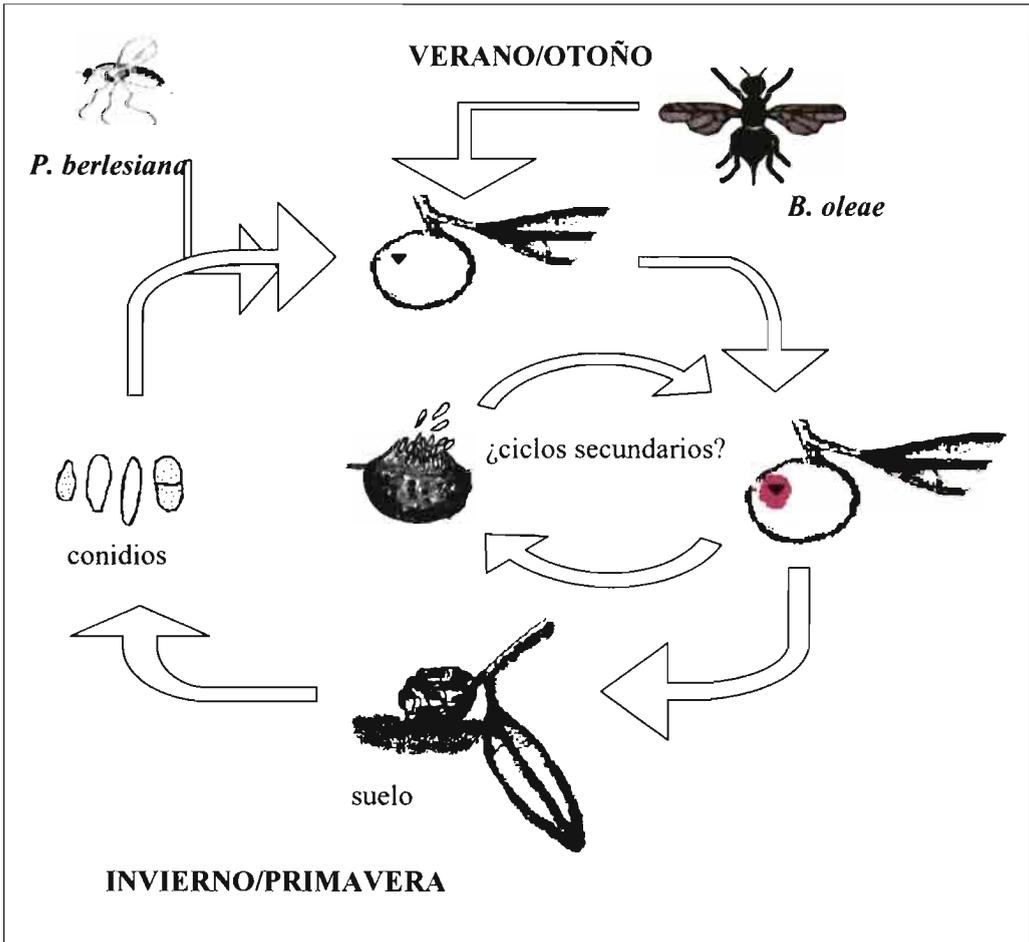


Figura 1. Ciclo biológico del hongo *Camarosporium dalmaticum* y su relación con la mosca (*Bactrocera oleae*) y el mosquito (*Prolasioptera berlesiana*) de la aceituna.

Observaciones en laboratorio

Las aceitunas se lavaron bajo chorro de agua durante 30 minutos y se secaron en cámara de flujo laminar, lugar donde se hicieron todas las observaciones. A continuación se inspeccionaron en el microscopio estereoscópico cada una de las lesiones que presentaban las aceitunas. Con un escalpelo se retiraban finas láminas de la zona lesionada y se extraía un pequeño trozo de la zona interior dañada que se colocaba en una placa Petri de 6 cm de diámetro con un disco de papel estéril humedecido con agua destilada

desionizada (ADD) estéril para evitar la desecación. El tipo de lesión se clasificó en dos categorías principales: herida producida por *B. oleae* al realizar la puesta (picada de mosca) y herida producida por cualquier otro tipo de agente (biótico o abiótico). Estas dos categorías se dividían a su vez en otras dos, según hubiese o no presencia del cecidómido. Por último, en las aceitunas con picada de mosca se indicaba si era picada viva o no, llamando picada viva a la que llevaba asociada la presencia de la mosca en alguno de sus estados preimaginales. Las heridas de

salida de la mosca también se incluyeron como picada viva aunque no existiese ningún estado del insecto, ya que era evidente el desarrollo previo de la mosca en la aceituna. Tras las observaciones en el microscopio estereoscópico, las aceitunas se colocaban en una bandeja con perlita estéril humedecida con ADD. La bandeja, previamente lavada y desinfectada, se colocaba en una cámara de incubación a 25°C y se observaba durante las tres semanas siguientes el desarrollo de *C. dalmaticum*. Si durante las inspecciones de aceitunas se detectaba algún huevo, larva o pupa de *P. berlesiana*, esta aceituna se individualizaba en una cajita cerrada dejando evolucionar al insecto para obtener adultos.

Aislamiento de *Camarosporium dalmaticum*

A partir de los trocitos de pulpa tomados en la observación de las lesiones en aceitunas y de larvas del cecidómido, se llevaron a cabo aislamientos de *C. dalmaticum* para los que se empleó como medio Patata-Dextrosa-Agar (PDA). Los cultivos puros obtenidos se mantuvieron en el medio PDA y, a partir de ellos, se prepararon aislados monoconídicos siguiendo la metodología habitual (DHINGRA y SINCLAIR, 1995).

De las larvas de *P. berlesiana* se intentó aislar el hongo mediante dos métodos: desinfectándolas superficialmente con lejía (15% durante 30 segundos) y sin desinfectar. Tras el tratamiento la larva se trituraba en un vidrio de reloj con 250 µl de ADD estéril y se hacía una siembra masal en PDA. Se sembraron 8 larvas desinfectadas y 12 larvas sin desinfectar. Las placas se sellaron con parafilm y se incubaron a 22°C bajo luz-oscuridad (12 h-12 h).

Identificación de los agentes

En la identificación de *B. oleae* se consideró suficiente la observación en los frutos de las heridas de puesta o salida características de este díptero y de los estados preimaginales (huevo, larva y pupa). Los adultos del cecidómido, obtenidos a partir de larvas

que se habían dejado evolucionar en condiciones controladas de 22° C y 12 h luz- 12 h oscuridad, fueron identificados mediante claves taxonómicas (ARAMBOURG, 1986). Por último, se realizaron montajes para la observación al microscopio de las estructuras del hongo (picnidios y conidios) formadas en las lesiones de las aceitunas o desarrolladas en el medio de cultivo PDA.

Para inducir el desarrollo del estado sexual de *C. dalmaticum* se llevó a cabo un ensayo inicial utilizando una suspensión de micelio y conidios obtenida a partir de la mezcla de 6 aislados monoconídicos procedentes de las parcelas de muestreo. En ella se introdujeron durante 45 min dos sustratos esterilizados: ramitas de olivo de un año de edad y palillos de higiene dental. Las ramitas fueron colocadas en cajas de plástico con un ambiente saturado de humedad (LÓPEZ-DONCEL *et al.*, 2000), mientras que los palillos se dispusieron en placas de Petri con el medio Czapek-Dox, colocándose tres palillos formando una "N" en cada placa (CORRELL *et al.*, 2000). En ambos casos las condiciones de incubación fueron 12 h luz- 12 h oscuridad a 22°C y se realizaron observaciones quincenales de los sustratos inoculados, así como montajes para observación microscópica de los cuerpos formados.

Análisis de aceitunas y aceite

En noviembre de 2004 se tomaron dos muestras de frutos de la variedad 'Manzanilla de Sevilla' de la parcela "Triángulo" del C.I.F.A.-Alameda del Obispo (Córdoba), una de aceitunas afectadas de Escudete con distinta severidad y otra de aceitunas sanas. Se determinó el índice de madurez (ANDRÉS, 1991) y el índice de severidad de las infecciones, considerando 4 clases en función de la superficie de la aceituna afectada por la enfermedad (1 = <25%, 2 = 25-50%, 3 = 50-75%, 4 = >75%). Las muestras se llevaron a la almazara experimental del Instituto de la Grasa de Sevilla en cuyo laboratorio se analizaron los siguientes parámetros: % Humedad, contenido en aceite parcial (ABENCOR) y aceite total (SOXHLET), contenido

en aceite sobre materia seca, acidez (% ácido oleico), índice de peróxidos (meqO₂/kg), absorbancia a la radiación ultravioleta (K₂₇₀, K₂₃₂, Δ K), estabilidad (RANCI-MAT) y valoración sensorial (ANÓNIMO, 1999).

Análisis de los datos

Los datos de desarrollo del hongo en la placas de medio de cultivo se sometieron a un análisis estadístico de la Chi-cuadrado para comprobar si los valores de frecuencia obtenidos eran o no significativamente diferentes a los teóricos. El análisis se aplicó a la incidencia de *P. berlesiana* en relación al tipo de daño en las aceitunas y a la incidencia de *C. dalmaticum* según tipo de daño y presencia de *P. berlesiana*.

RESULTADOS

Evaluación de síntomas y daños en aceitunas

Los daños observados en las aceitunas se clasificaron en cuatro categorías: "picada viva" de mosca, "picada no viva" de mosca, Escudete y otros. En la categoría "Escudete" se incluyeron las aceitunas con claros síntomas de esta enfermedad (Figura 2). Todas las aceitunas afectadas de Escudete presentaron "picada" de mosca aproximadamente en el centro de la lesión necrótica (Figura 3). Finalmente, en la categoría "otros daños" se incluyeron pequeños daños o heridas del fruto que no se podían identificar como "picada" de *B. oleae*. En estas aceitunas no se detectó la presencia de ninguno de los agentes estudiados.



Figura 2. Aceitunas de la variedad "Tetuda" afectadas de Escudete (izqda: frutos momificados de suelo; drcha. inferior: frutos momificados del árbol; y drcha. superior: frutos inmaduros). Nótese los picnidios de *C. dalmaticum* en el interior de las lesiones.

Los ataques de Escudete fueron más frecuentes en las variedades de mesa ('Manzanilla de Sevilla', 'Hojiblanca' y 'Tetuda') y en la orientación norte de la copa de los olivos. Se observaron dos síntomas: la mancha necrótica característica, más o menos circular, deprimida en el centro y con los bordes más elevados, y una podredumbre parcial que deshidratava y arrugaba al fruto de forma parecida al momificado producido por *Colletotrichum* spp. (Figura 2). La mancha necrótica se desarrolló durante el verano, en aceitunas verdes; mientras que la podredumbre lo hizo durante el otoño, en aceitunas maduras o en proceso de maduración. Generalmente, la podredumbre progresaba desde la mancha necrótica, pudiéndose apreciar la lesión original de Escudete en las aceitunas podridas. No obstante, muchas aceitunas afectadas de Escudete durante el verano llegaron a la madurez sin desarrollar la podredumbre.

Aislamiento de *Camarosporium dalmaticum*

El hongo *C. dalmaticum* se aisló muy consistentemente de las aceitunas con síntomas de Escudete. En cambio, el aislamiento del patógeno a partir de aceitunas sin síntomas resultó muy escaso, indicando que el periodo de incubación de las infecciones es muy corto, inferior a una semana, que fue el tiempo transcurrido entre las observaciones de campo. En las aceitunas asintomáticas el hongo sólo se aisló de las que presentaron daños de mosca, tanto de las que tenían heridas de oviposición como de las que presentaban orificios de salida.

En la siembra a partir de larvas de *P. berlesiana* no se desarrolló ningún microorganismo cuando se desinfestaron, mientras que en la siembra directa de las larvas sin desinfestar se obtuvieron bacterias en todas las placas y, en ocasiones, hongos de los géneros *Aureobasidium* y *Cladosporium*.

Identificación de los agentes

Los adultos del cecidómido, obtenidos todos ellos de las larvas recogidas en las



Figura 3. Lesión de Escudete con picnidios de *C. dalmaticum* y herida de puesta de *Bactrocera oleae*.

aceitunas, pues no se hallaron adultos en las trampas cromotrópicas, se clasificaron taxonómicamente como *Prolasioptera berlesiana*, en base a sus caracteres morfológicos externos, tales como antenas, oviscapto y sistema de venación alar.

La presencia del cecidómido coincidió con los ataques de *C. dalmaticum* en campo durante los meses de agosto y septiembre. En los meses de octubre y noviembre no se tomaron muestras aunque sí se detectó en frutos aislados afectados por el hongo. Se encontraron todos los estadios preimaginales: huevo similar al de *B. oleae* pero de menor tamaño (Figura 4a), larva al principio blanquecinas (Figura 4b) que se tornaban anaranjadas con la edad (Figura 4c), con un periodo de desarrollo larvario de 3 semanas (a 22° C con 12 h luz-12 h oscuridad) al final del cual abandonaban la aceituna para pupar (Figura 4d), pupa de color rosado (Figura 4e) y finalmente adulto (Figura 4f).

Las observaciones morfológicas de las estructuras fúngicas (picnidios y conidios) formadas en las lesiones de las aceitunas y en el medio de cultivo nos llevaron a identificar al hongo fitopatógeno como *Camarosporium dalmaticum* (ZACHOS Y TZAVELLA-KLONARI, 1979). Los conidios presentaron una gran variación en forma, tamaño y coloración, incluso dentro de un mismo aislado monoconídico, confirmando la elevada

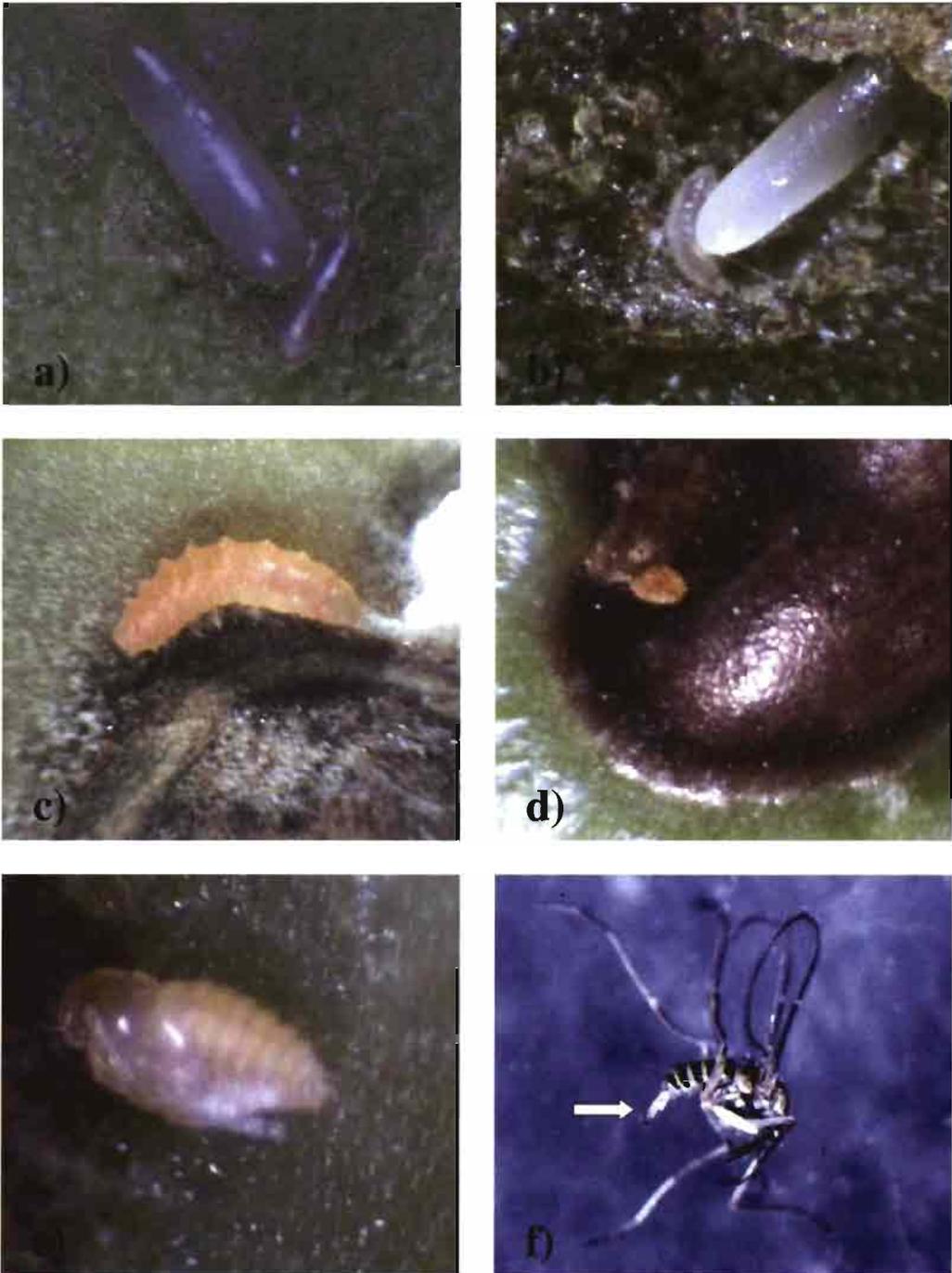


Figura 4. Fases de desarrollo de *P. berlesiana*: a) Huevo de *P. berlesiana* (menor tamaño) junto a un huevo de *B. oleae*, b) Larva junto a un huevo de *B. oleae*, c) Larva desarrollada, d) Larva de *P. berlesiana* abandonando el fruto por el orificio de puesta de *B. oleae*, e) Pupa, f) Hembra adulta (detalle del ovíscapo).

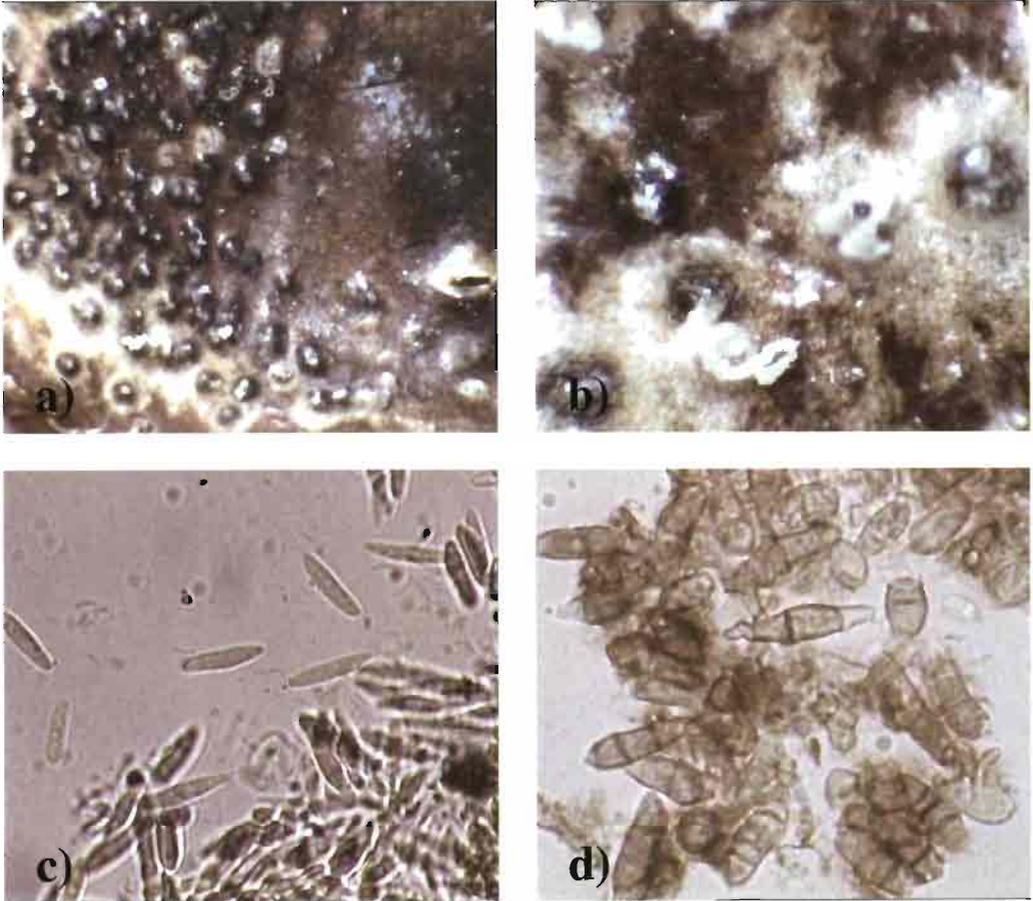


Figura 5. Picnidios y conidios de *Camarosporium dalmaticum* formados en las lesiones de Escudete: a) picnidios junto a herida de puesta de mosca, b) detalle de picnidios con filamentos blanquecinos (cirros) de conidios, c) conidios hialinos, fusiformes y aseptados, d) conidios oscuros, ovoides y septados.

variabilidad morfológica de este hongo (Figura 5).

El ensayo de reproducción sexual se mantuvo durante 3 meses al cabo de los cuales se obtuvieron, únicamente en las ramitas de olivo, picnidios con conidios de *C. dalmaticum* y algunos cuerpos inmaduros que podrían corresponderse con ascomas (pseudotecas) o espermogonios del hongo (Figura 6).

Incidencia de los agentes

Se determinó la incidencia de *C. dalmaticum* y de *P. belesiana* para cada categoría de

daño: picada viva de mosca, picada no viva, Escudete y otros daños (Cuadro 1). En primer lugar hay que destacar que no se observó ni *P. belesiana* ni *C. dalmaticum* en aceitunas catalogadas con otros daños, es decir, sin "picada" de mosca. La evolución temporal de los diferentes tipos de daños y agentes asociados (Figura 7) ha puesto de manifiesto que las heridas de puesta de la mosca comenzaron a observarse desde principios de julio, mientras que los síntomas de Escudete no se observaron hasta un mes después. No obstante, durante las primeras 5 semanas fueron

Cuadro 1. Incidencia de *Prolasioptera berlesiana* y *Camarosporium dalmaticum* en función de la categoría de daños observados en aceitunas

CATEGORÍA DE DAÑO ¹	N (nº casos)	%CADA CATEGORÍA DE DAÑO	INCIDENCIA DE <i>P. berlesiana</i> (%)	INCIDENCIA DE <i>C. dalmaticum</i> (%)	
				CON <i>P. berlesiana</i>	SIN <i>P. berlesiana</i>
Picada viva	845	49.8	5.1	1.1	1.3
Picada no viva	225	13.3	10.7	5.3	3.5
Escudete	396	23.3	22.5	22.5	77.5
Otros daños	230	13.6	0	0	0
TOTAL	1696	100	9.2	6.5	19.2
TOTAL (sin contar otros daños)	1466	100	10.6	7.5	22.2

¹**Picada viva** = herida de puesta de la mosca (*Bactrocera oleae*) con algún estado imaginal (huevo, larva, pupa) o herida de salida de la mosca, **picada no viva** = herida de puesta de la mosca sin estados preimaginales, **Escudete** = aceitunas con lesiones típicas de esta enfermedad, **otros daños** = pequeñas heridas no asociadas con ninguno de los tres agentes estudiados.

muy abundantes los daños o heridas no asociados con ninguno de los agentes estudiados. A partir de la sexta semana el muestreo se dirigió principalmente a las aceitunas "picadas" de mosca, ya que en todas las aceitunas con lesión de Escudete se hallaron las heridas de oviposición.

En las aceitunas dañadas de mosca, la incidencia total de *P. berlesiana* resultó baja (10.6%), dándose el mayor valor en las que estaban afectadas con Escudete (22.5%). En frutos sólo atacados por *B. oleae* se obtuvo una mayor incidencia del cecidómido en

picada no viva (10.7%) que en picada viva (5.1%), sin poder descartar la posibilidad de que en un principio hubiese habido un huevo de mosca que habría sido devorado por la larva de *P. berlesiana*.

Por otro lado, la incidencia de *C. dalmaticum* se determinó para las mismas categorías de daño pero haciendo además la separación de con o sin presencia de *P. berlesiana*. La incidencia global de *C. dalmaticum* fue del 29.7%, 22.2% sin presencia de *P. berlesiana* y 7.5% con el cecidómido, aunque no podemos descartar que en algunas muestras el cecidómido podría haber abandonado ya la aceituna para pupar. Considerando separadamente por categoría de daño, *C. dalmaticum* se obtuvo en el 100% de las aceitunas afectadas de Escudete y en el 3.7% de las "picadas" de mosca (8.9% en picada no viva y 2.4% en picada viva).

El análisis estadístico de la Chi-cuadrado puso de manifiesto diferencias significativas respecto a la incidencia de *P. berlesiana* y *C. dalmaticum* para los diferentes tipos de daños. Así, la incidencia conjunta de ambos agentes (7.5%) fue mayor que la esperada por efecto del azar (3.2%, $P = 0.05$); mientras que tanto *P. berlesiana* como *C. dalmaticum* tuvieron una mayor presencia relativa en la picada no viva que en la picada viva de mosca (Cuadro 1).

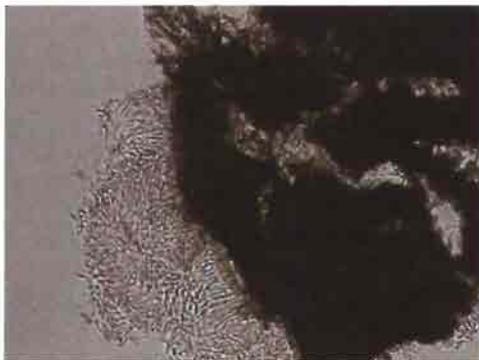


Figura 6. Cuerpos inmaduros (ascomas o espermatogonios) formados en las ramitas de olivo inoculadas con una mezcla de aislados de *C. dalmaticum*.

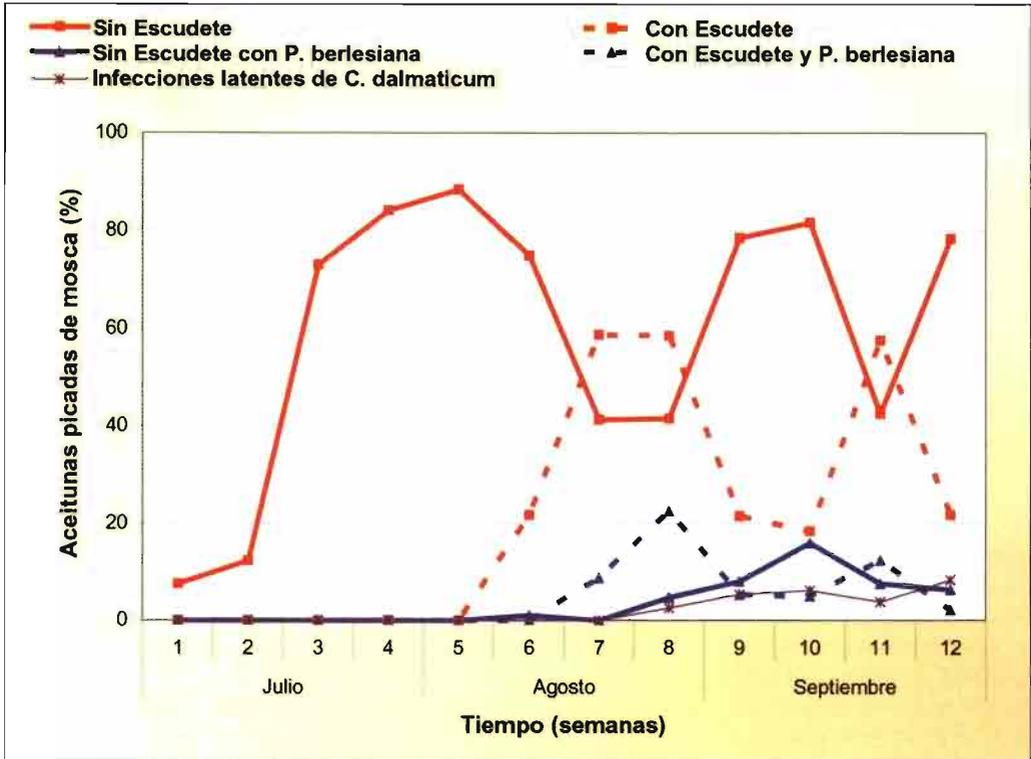


Figura 7. Evolución temporal de la incidencia de aceitunas “picadas” de mosca (*B. oleae*) en relación con la incidencia de Escudete (*C. dalmaticum*) y del cecidómido (*P. berlesiana*). La muestra semanal incluyó de 50 a 200 aceitunas dañadas.

Análisis de aceitunas y aceite

Aunque no pudo realizarse ningún tipo de análisis estadístico debido a que no se repitieron los muestreos, ambos grupos de aceitunas (sanas y afectadas de Escudete) dieron resultados muy similares en casi todos los parámetros, incluso el contenido en aceite parcial según ABENCOR, el cuál se aproxima al rendimiento industrial, resultó similar en los dos casos. Tan sólo se observaron diferencias en acidez, índice de peróxidos y estabilidad de forma llamativa (Cuadro 2). Pese a ello, el aceite procedente de aceitunas con Escudete se catalogó como “Virgen Extra”.

DISCUSIÓN

La presencia de Escudete estuvo asociada totalmente a la herida de oviposición carac-

terística de *B. oleae*, apoyando la correlación encontrada por HARPZ y GERSON (1966), de la cual se deduce que el hongo entra en el fruto a través de los orificios de puesta o de salida de la mosca. Los mayores daños se dieron en las variedades de verdeo y en la cara norte del olivo, observaciones ya indicadas por De Laurentiis (1993), La GRECA y VRENNA (1995) y LONGO *et al.* (2004). Aunque la relación entre daños de mosca y ataques de Escudete está generalmente aceptada (PETRI, 1915; ANDRÉS, 1991), diversos autores han observado ataques de Escudete sin heridas de mosca u otros agentes (NAVARRO, 1923; MATEO-SAGASTA, 1968). Es probable que en condiciones ambientales favorables la enfermedad pueda desarrollarse sin presencia de heridas, sobre todo durante la maduración de la aceituna en otoño, como

Cuadro 2. Caracterización del aceite de aceitunas sanas y afectadas de Escudete

Parámetro	Aceituna Sana	Aceituna con Escudete
Índice de madurez	1.99	2.21
Severidad	0	2.01
Humedad %	64.34	62.65
Aceite parcial: ABENCOR %	12.96	12.96
Aceite total: SOXHLET %	12.37	17.85
Aceite sobre materia seca %	48.70	47.8
Acidez: % ácido oleico	0.34	0.55
Índice de peróxidos: meqO ₂ / kg	3.7	6.2
K ₂₇₀	0.16	0.15
Δ K	0	0
K ₂₃₂	1.73	1.74
Estabilidad (horas a 98° C)	97.9	71.8
Valoración sensorial	Propia de un virgen extra	Menor frescura y aroma a hierba

indican los resultados recientes de inoculaciones en condiciones controladas (GONZÁLEZ y TRAPER, 2006).

Las dos síndromes observados de la enfermedad, mancha seca y momificado, coinciden en tiempo y expresión a los descritos por otros autores y parecen estar relacionados con el estado de madurez y el contenido de agua en la aceituna (ZACHOS y TZAVELLA-KLONARI, 1983). El desarrollo de la enfermedad en verano, en condiciones extremas de baja humedad y elevada temperatura, sugiere la participación de algún agente vector. Aunque los ataques de Escudete están relacionados con daños de mosca, este insecto no se ha considerado como vector de *C. dalmaticum* (ARAMBOURG, 1986; ANDRÉS, 1991), como sugieren los resultados de nuestras observaciones. En cambio, diversos autores señalan como posible vector de *C. dalmaticum* al cecidómido *P. berlesiana* (ARAMBOURG, 1986; LA GRECA y VRENA, 1995; FRAVAL, 1997). En nuestras observaciones, este cecidómido se halló en las lesiones de Escudete, pero su presencia no se detectó hasta después de los primeros síntomas de la enfermedad en campo. La incidencia de *C. dalmaticum* con presencia del cecidómido fue del 22.5%, un nivel que podría resultar bajo para considerarlo como un agente vector, sin embargo, ello es posible si

consideramos la opción de que en muchas muestras el cecidómido hubiese abandonado la aceituna para pupar. Nuestros resultados indican algún tipo de asociación entre *P. berlesiana* y *C. dalmaticum*, pero no pueden atribuirle al cecidómido la función de vector debido a los resultados negativos en el aislamiento del hongo a partir de las larvas y a la asociación completa entre daños de mosca y Escudete. Esta asociación entre *P. berlesiana* y *C. dalmaticum* podría explicarse por una mejor detección de las aceitunas afectadas de mosca, al presentar la lesión de Escudete, o por un hábito micófago de *P. berlesiana*. Sería necesario utilizar un mayor número de muestras durante varios años y experimentos en condiciones controladas para determinar con precisión la interacción entre los tres agentes estudiados en este trabajo.

La incidencia de *P. berlesiana* en aceitunas con picada de *B. oleae* no superó el 11% y fue mayor en picada no viva. En este caso, cabría suponer que la larva del cecidómido se alimenta de huevos de *B. oleae* enmascarando así el verdadero porcentaje de aceitunas con picada viva lo que explicaría la diferencia entre picada viva y no viva con presencia del cecidómido.

En cuanto al ciclo biológico del cecidómido, la fecha de emergencia y de actividad de los adultos no se puede concretar porque

no fueron atraídos por las trampas cromotrópicas. Carecemos de datos como para concretar un número de días o semanas de duración del desarrollo larvario, aunque en condiciones controladas (22°C) el desarrollo fue como mínimo de 3 semanas, lo que no se corresponde con lo señalado por ARAMBOURG (1986) quien cita periodos de desarrollo de 9 días en verano y 13 días en invierno. Se acepta generalmente que a partir del mes de octubre la especie inverna en fase de pupa hasta la próxima estación cálida (ARAMBOURG, 1986; HEFDURGUN y ONDER, 1999), pero nosotros observamos larvas hasta la 3ª semana de noviembre. Probablemente ésta fuese la generación que pasa el invierno como pupa y las diferencias en cuanto a fechas pueden deberse a las distintas temperaturas entre la zona de estudio de estos autores y la nuestra, mucho más cálida.

El hongo *C. dalmaticum* se aisló de todas las aceitunas afectadas de Escudete y en el 3.7% de los daños por mosca; mientras que no se obtuvo de las aceitunas con otros daños ni de muestras de aceitunas sanas. La baja proporción de infecciones latentes y su asociación exclusivamente con daños de mosca destacan la importancia de la interacción entre estos dos agentes en el desarrollo de la enfermedad, al menos durante el verano y principios del otoño cuando se tomaron la mayoría de las muestras. Asimismo, el escaso número de infecciones latentes durante todos los muestreos semanales sugiere un periodo de incubación de las infecciones relativamente corto, inferior a 1 semana.

Las características morfológicas de los picnidios y conidios formados en las lesiones de aceitunas y en el medio de cultivo se corresponden con el hongo *C. dalmaticum* descrito por ZACHOS y TZAVELLA-KLONARI (1979). Las recientes reclasificaciones de este hongo como *Fusicoccum dalmaticum* (AA y VANEV, 2002) y *Botryosphaeria dothidea* (anamorfo *Fusicoccum aesculi*) (PHILLIPS *et al.*, 2005), junto a la gran variación observada en la forma, tamaño y coloración de los conidios, nos han llevado a realizar un

estudio más detallado sobre caracterización de este patógeno (GONZÁLEZ y TRAPERO, 2006).

El estado sexual de *C. dalmaticum* no se conoce y tampoco se ha podido inducir en condiciones artificiales. No obstante, se produjeron cuerpos inmaduros que podrían corresponderse con ascomas de dicho estado. Habría que continuar con estos ensayos, modificando las condiciones de incubación (temperatura, humedad relativa, etc.) para simular la fase de supervivencia del patógeno durante el invierno y primavera.

Son evidentes las pérdidas que *C. dalmaticum* ocasiona en el verdeo al quedar los frutos inutilizados para este fin y, por otro lado, apenas tenemos constancia del efecto que pudiera ocasionar en la calidad del aceite. Los resultados obtenidos, aunque necesitan confirmarse con un mayor número de muestras, indican que se produce un claro aumento en la acidez e índice de peróxidos de los aceites obtenidos y una disminución de su estabilidad, pero no por ello queda este aceite obtenido de frutos con Escudete fuera de la categoría de "Virgen Extra". No obstante, su menor estabilidad reduce el tiempo durante el que dicho aceite mantiene sus características organolépticas que lo catalogan como "Virgen Extra", respecto al obtenido de aceitunas sanas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a todos los miembros del grupo de investigación Patología Agroforestal de la Universidad de Córdoba y, en particular, a Paqui Luque por su excelente ayuda. El trabajo de campo ha sido posible gracias a la colaboración de los técnicos de las ATRIAS de olivar del Departamento de Sanidad Vegetal de Sevilla coordinados por Lola Ortega. Este trabajo forma parte de la Tesis de Master en Olivicultura y Elaiotecnia de Nazaret González Garrido y ha sido financiado por los proyectos CAO00-013 y AGL2004-7495.

ABSTRACT

GONZÁLEZ N., E. VARGAS-OSUNA, A. TRAPERO. 2006. Dalmatian disease of olive fruits I: Biology and damages in olive orchards of the Seville province. *Bol. San. Veg. Plagas*. **32**: 709-722.

Dalmatian disease (DD) of olive fruits, caused by the fungus *Camarosporium dalmaticum*, is widespread in the Mediterranean basin but of little general importance, although sometimes serious attacks have been observed that suppose a considerable decrease in the quality of the table olives. The incidence of the pathogen has been associated to the previous damages caused by the olive fly (*Bactrocera oleae*) and to the presence of a possible vector agent, the cecydomiid *Prolasioptera berlesiana*, whose larvae can feed themselves on eggs of the olive fly. Field and laboratory observations indicated that *C. dalmaticum* and *P. berlesiana* did not cause any damage without fly attacks. Incidence of both agents did not let us to confirm or to reject the hypothesis of *P. berlesiana* as vector of *C. dalmaticum*, because a high percentage (77.5%) of olive fruits affected by DD did not bear *P. berlesiana*, and *C. dalmaticum* was not detected in isolations from cecydomiid larvae. Fruits damaged by olive fly had a higher incidence of *P. berlesiana* when they were free from olive fly eggs or larvae, or when they were affected by Dalmatian disease (DD), suggesting that *P. berlesiana* is a mycophagus and predator of olive fly. This suggestion needs to be confirmed under controlled conditions. Attempts to induce the sexual stage or teleomorph of *C. dalmaticum* under controlled conditions were unsuccessful, although we observed some pseudosclerotia like bodies that could be immature ascomata. Olive fruits affected by DD produced Extra Virgin oil, although it had higher acidity, higher peroxide index and lower stability than oil produced from healthy olive fruits.

Keys words: *Bactrocera oleae*, *Botryosphaeria dothidea*, *Camarosporium dalmaticum*, *Prolasioptera berlesiana*, olive oil quality.

REFERENCIAS

- AA, H.A. VAN DER, VANEV, S. 2002. A revision of the species described in *Phyllosticta*. CBS, Utrecht, The Netherlands. 510 pp.
- ALVARADO, M., CIVANTOS, M., DURÁN, J. M. 2004. Plagas. In: El cultivo del olivo. Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, L. eds. Coedición Junta de Andalucía/Mundi-Prensa. Madrid. pp. 481-556.
- ANALYTICAL SOFTWARE. 2003. Statistix 8. User's manual. Tallahassee, FL. 359 pp.
- ANDRÉS CANTERO, F. 1991. Enfermedades y plagas del olivo. Riquelme y Vargas Ediciones. Jaén. 646 pp.
- ANÓNIMO, 1999. Analista de laboratorio de almazara. Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Sevilla. 111 pp.
- ARAMBOURG, Y. 1986. Traité d'entomologie oleicole. Consejo Oleícola Internacional, Madrid. 360 pp.
- CIVANTOS, M. 1999. Control de plagas y enfermedades de olivar. Consejo Oleícola Internacional, Madrid. 207 pp.
- CORRELL, J. C., GUEBER, J. C., WASILWA, L. A., SHERALL, J. F., MORELOCK, T. E. 2000. Inter- and intraspecific variation in *Colletotrichum* and mechanisms which affect population structure. In: *Colletotrichum*: host specificity, pathology, and host-pathogen interaction. APS Press, St. Paul, MN. pp 145-179.
- DE LAURENTIIS, G. 1993. Attacchi di *Prolasioptera berlesiana* sulle olive in Abruzzo. *Informatore Agrario*, **49**: 49-50.
- DHINGRA, O. D., SINCLAIR, J. B. 1995. Basic plant pathology methods. CRC Press, Boca Raton, FL. 434 pp.
- FRAVAL, A. 1997. Olive fruit midge. www.inra.fr/Internet/Produits/HYPPZ
- GONZÁLEZ, N., TRAPERO, A. 2006. El Escudete de la aceituna II: Caracterización morfológica, fisiológica y patogénica del agente causal. *Bol. San. Veg. Plagas*. **32**: xxx-xxx.
- HARPAZ, I., GERSON, U. 1966. The biocomplex of the olive fruit fly (*Dacus oleae* Gmel.), the olive fruit midge (*Prolasioptera berlesiana* Paoli), and the fungus *Macrophoma dalmatica* Berl.&Vogl. in olive fruits in the Mediterranean basin. *Scripta Hierosolymitana, Jerusalem*, **18**: 81-126.
- HEPDURGUN, B., ONDER, F. 1999. *Lasioptera berlesiana* Paoli (Diptera: Cecidomyiidae) (Zeytin Kzlkurdu) nn biyolojisi uzerinde arastramalar. *Turkiye Entomoloji Dergisi*, **23**: 191-202.
- IANNOTTA, N., PERRI, E., SIRIANNI, R., TOCCI, C. 1999. Influence of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig.) and *Camarosporium dalmatica* (Thüm.) attacks on olive quality. *Acta Horticulturae*, **474**: 573-576.
- LA GRECA, L., VRENN, G. 1995. Danni da *Sphaeropsis dalmatica* in Calabria. *Informatore fitopatologico*, **45**: 32-33.
- LONGO, O., CAVALLO, C., D'AGNANO, G., SCHIAVONE, D., PORCELLI, F. 2004. Inusuale cascola di olive per azione combinata di tre parassiti. *Informatore Agrario*, **22**: 57-59.

- LÓPEZ-DONCEL, L. M., VIRUEGA, J. R., TRAPERO, A. 2000. Respuesta del olivo a la inoculación con *Spiroclaea oleagina*, agente del repilo. *Bol. San. Veg. Plagas*, **26**: 349-363.
- MATEO-SAGASTA AZPEITIA, E. 1968. Notas sobre un nuevo tipo de ataque criptogámico en aceitunas españolas posiblemente atribuible a una nueva forma de ataque del hongo *Macrophoma dalmatica*. *Bol. Patol. Veg. Entomol. Agric.*, **30**: 137-146.
- NAVARRO, L. 1923. Las enfermedades del olivo. Calpe, Madrid. 176 pp.
- PETRI, L. 1915. La malattia dell'olivo. Istituto Micrografico Italiano, Firenze. 169 pp. + XXI lam.
- PHILLIPS, A.J.L., RUMBOS, I.C., ALVES, A., CORREIA, A. 2005. Morphology and phylogeny of *Botryosphaeria dothidea* causing fruit rot of olives. *Mycopathologia*, **159**: 433-439.
- SALGUES, R. 1937. Affections parasitaires des olives et modifications physico-chimiques de l'huile extraite. *C. R. Soc. Biol. Paris*, **124**: 817-819.
- SAREJANNI, J. A., PAPAIOANNOU, A. J. 1952. La pathologie des mycoses à *Macrophoma* des olives. *Annls. Inst. Phytopath. Benaki*, **6**: 37-50.
- STEEL, R. G. D., TORRIE, J. H. 1985. Bioestadística: principios y procedimientos. MacGraw-Hill, Bogotá. 622 pp.
- TRAPERO, A., BLANCO, M. A. 2004. Enfermedades. In: El cultivo del olivo. Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, L. eds. Coedición Junta de Andalucía/Mundi-Prensa. Madrid. pp. 557-614.
- VERONA, O. 1952. Notizie sopra una dannosa micosi delle Olive. *Boll. Tec. Ist. Pat. Veg. Pisa*, **5**: 8.
- ZACHOS, D. G., TZAVELLA-KLONARI, K. 1983. Recherches sur les causes des infections localisées ou généralisées des olives attaquées par le champignon *Camarosporium dalmatica*. I. Influence de l'humidité, de la pression osmotique et du pH des fruits. *Annls. Inst. Phytopath. Benaki*, **14**: 1-9.

(Recepción: 1 septiembre 2006)

(Aceptación: 29 septiembre 2006)