

# TESIS DOCTORAL

## **TÍTULO DE LA TESIS DOCTORAL:**

**‘Bioprotección y resistencia genética frente a la verticilosis del olivo y pistachero’.**

Tesis Doctoral realizada en el marco de una colaboración multidisciplinar entre los grupos de investigación Patología Agroforestal AGR-216 y Recursos Genéticos y Mejora del Olivo (UCOLIVO) AGR-157 del Departamento de Agronomía (DAUCO) de la Universidad de Córdoba (UCO).

**DOCTORANDA:** Begoña Isabel Antón Domínguez.

**PROGRAMA DE DOCTORADO:** Ingeniería Agraria, Alimentaria, Forestal y de Desarrollo Rural Sostenible.

**DIRECTORES:** Carlos Agustí Brisach y Carlos Trapero Ramírez.

**CENTRO DE TRABAJO Y FINANCIACIÓN:** Esta tesis doctoral se realizó en DAUCO (UCO), entre los dos grupos de investigación arriba mencionados. La doctoranda también realizó una estancia predoctoral de cuatro meses en el Centro de Investigação de Montanha (CIMO) del Instituto Politécnico de Bragança (IPB; Portugal), bajo la supervisión de la Dra. Paula Baptista. La doctoranda disfrutó de una ayuda predoctoral ‘Formación de Personal Investigador’ del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (FPI, MICINN; Ref. PRE2020-096038) en el marco de la Unidad de Excelencia María de Maeztu DAUCO 2020-2024. La investigación fue financiada por los proyectos BIOLIVE (Ref. PID2021-123645OA-I00) y VERTOLEA (Ref. PDC2021-121765-I00) del MICINN y cofinanciada con Fondos Europeos de Desarrollo Regional (FEDER), la Junta de Andalucía (proyecto PP.TRA.TRA2019.002) y la Unión Europea fondos NextGenerationEU/PRTR (ayuda CNS2022-135883).

**FECHA Y LUGAR DE LECTURA:** 6 de noviembre de 2025, Universidad de Córdoba.

**COMPOSICIÓN DEL TRIBUNAL:** Concepción Muñoz Díez (Presidenta), Eugenio Llorens Vilarrocha (Secretario), José Alberto Pereira (Vocal).

**CALIFICACIÓN:** Sobresaliente *cum laude*, tesis por compendio de artículos, mención internacional.

## RESUMEN:

La verticilosis, causada por el hongo *Verticillium dahliae* Kleb., es una enfermedad vascular que afecta a numerosas especies leñosas y herbáceas de gran importancia económica, entre ellas el olivo (*Olea europaea* L.) y el pistachero (*Pistacia vera* L.). La persistencia del hongo en el suelo, su amplio rango de hospedantes y la falta de métodos de control eficaces dificultan su manejo, lo que hace prioritario el desarrollo de estrategias sostenibles que integren la bioprotección y la resistencia genética.

En este contexto, los Grupos AGR-216 y AGR-157 de la UCO han desarrollado líneas de investigación complementarias centradas, respectivamente, en el control biológico y en la mejora genética frente a la verticilosis. La colaboración entre ambos grupos en esta Tesis Doctoral permitió abordar el estudio de medidas combinadas de control en olivo y pistachero, orientadas hacia un manejo integrado de la enfermedad. La Tesis Doctoral se estructura en cinco objetivos principales y dos complementarios.

Los dos primeros objetivos evaluaron la eficacia de productos naturales comerciales y extractos vegetales obtenidos en laboratorio sobre la viabilidad de *V. dahliae* y el desarrollo de la enfermedad en olivos cv. Picual. Entre los productos comerciales, los extractos de sauce y de algas destacaron por reducir significativamente la sintomatología. De los extractos elaborados en laboratorio, los de cáscara de granada y hoja de algarrobo, obtenidos con metanol y etanol, fueron los más eficaces en la reducción de la enfermedad al aplicarse por riego. Además, el perfil de metabolitos secundarios de los extractos reveló un alto contenido en ácido gálico, compuesto asociado con propiedades antifúngicas.

El tercer objetivo analizó el modo de acción de dichos extractos. Los análisis de expresión génica (RT-qPCR) revelaron que el extracto de granada activa principalmente la vía del ácido salicílico (SA), mientras que ambos extractos, especialmente el de algarrobo, indujeron la sobreexpresión del ácido abscísico (ABA) y de la polifenol oxidasa (PPO). Estos resultados sugieren que ambos extractos refuerzan las defensas del olivo mediante rutas de señalización diferenciadas, lo que ofrece un primer paso para su futura integración en programas de bioprotección.

El cuarto objetivo optimizó un método de inoculación estandarizado en condiciones controladas que permite diferenciar el nivel de resistencia a la verticilosis entre cultivares de olivo. Empleando un sustrato artificial colonizado por *V. dahliae* y dos concentraciones de inóculo, se ensayaron las variedades Picual, Arbequina, Koroneiki y Frantoio. El método distinguió con fiabilidad genotipos susceptibles y resistentes,

reproduciendo respuestas similares a las de campo y aportando una herramienta útil para programas de mejora genética y selección temprana.

En el quinto objetivo se evaluó en campo la resistencia de cinco portainjertos de pistachero (*P. terebinthus*, *P. atlantica*, *P. integerrima* y los híbridos ‘Platinum’ y ‘UCBI’) en suelos naturalmente infestados con *V. dahliae*. Las plantas injertadas sobre *P. atlántica* mostraron mayor resistencia que las injertadas sobre *P. integerrima*, destacando la variabilidad intraespecífica en la resistencia a la enfermedad, y los ensayos paralelos en una plantación comercial confirmaron la alta susceptibilidad de *P. terebinthus* y la notable resistencia del híbrido ‘UCBI’. Este último se perfila como portainjerto de elección en ambientes con alta presión del patógeno.

Los objetivos complementarios profundizaron en el estudio de la eficacia de los extractos seleccionados frente a otra importante enfermedad del olivo y en la interacción del patógeno con distintos huéspedes. Frente a la antracnosis del olivo (*Colletotrichum* spp.), el extracto de hoja de algarrobo redujo notablemente el progreso de la incidencia de la enfermedad en olivos cv. Arbequina, y estimuló la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y compuestos fenólicos, lo que confirma su capacidad para activar respuestas de defensa en el huésped. Por otro lado, el estudio de patogenicidad cruzada mostró que el aislado estudiado del patotipo defoliante de *V. dahliae* es más agresivo en olivo y algodón que el no defoliante, aunque ambos se comportaron de forma similar en *P. terebinthus*. El híbrido ‘UCBI’ destacó nuevamente por su alta resistencia frente a todos los aislados evaluados.

El conocimiento generado en esta Tesis Doctoral supone un paso relevante en la bioprotección de la verticilosis en olivo, abriendo nuevas vías a explorar para entender mejor el mecanismo de acción de los extractos vegetales frente a *V. dahliae*. Además, contribuye al conocimiento de la resistencia genética a explotar en olivo y pistachero frente a la verticilosis. Esta Tesis Doctoral contribuye a sentar las bases para futuros trabajos combinando ambos métodos de control que contribuyan a un manejo integrado de la enfermedad más sostenible medioambientalmente.



**La doctoranda, directores y miembros del tribunal después de la defensa de la Tesis.**

De izquierda a derecha: Carlos Trapero Ramírez (Codirector), Carlos Agustí Brisach (Codirector), Eugenio Llorens Vilarrocha (*online*; Secretario), Begoña Isabel Antón Domínguez (Doctoranda), José Alberto Pereira (Vocal) y Concepción Muñoz Díez (Presidenta).

**Trabajos derivados de la Tesis que ya han sido publicados:**

- Antón-Domínguez, B.I., López-Moral, A., Romero-Salguero, F.J., Trapero, A., Trapero, C., Agustí-Brisach, C., 2024. Bioprotection of olive trees against *Verticillium* wilt by pomegranate and carob extracts. *Plant Disease* 108: 1073-1082. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-23-1770-RE>

- Antón-Domínguez, B.I., Díaz-Díaz, M., Acedo-Antequera, F.A., Trapero, C., Agustí-Brisach, C., 2024. Use of natural-based commercial products as an alternative for providing bioprotection against *Verticillium* wilt of olive. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 104: 6311-6321. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13461>

- Antón-Domínguez, B.I., Arquero, O., Lovera, M., Trapero, A., Agustí-Brisach, C., Trapero, C., 2024. Resistance of pistachio grafted on different *Pistacia* rootstocks against *Verticillium* wilt under field conditions. *Plant Pathology* 73: 2466-2476. <https://doi.org/10.1111/ppa.13978>

- Antón-Domínguez, B.I., Sánchez-Pereira, L., Lamas, S., Rodrigues, N., Baptista, P., Agustí-Brisach, C., 2025. Carob and pomegranate extracts enhance plant defence mechanisms against olive anthracnose through antioxidant activity and phenolic compounds production. *Industrial Crops and Products* 235: 121653. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.121653>
- Antón-Domínguez, B.I., Valverde, P., Agustí-Brisach, C., Trapero, C., 2025. Development of a new method for characterizing olive cultivar resistance to *Verticillium dahliae*, the causal agent of Verticillium wilt. *Crop Protection* 198: 107396. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2025.107396>
- Antón-Domínguez, B.I., Mascuñano, B., Muñoz-Blanco, J., Molina-Hidalgo, F.J.\*, Agustí-Brisach, C.\*, 2025. Evaluation of carob and pomegranate extracts as inducers of resistance against Verticillium wilt in olive tree. *Plant Disease: first look*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-25-1032-RE>
- Antón-Domínguez, B.I., López-Moral, A., Lovera, M., Arquero, O., Trapero, A., Trapero, C., Agustí-Brisach, C., 2025. Severity assessment of isolates of defoliating and nondefoliating *Verticillium dahliae* pathotypes on woody and herbaceous hosts. *Journal of Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1007/s42161-025-02092-w>