

# SENSIBILITAT FENOLÒGICA A *Colletotrichum gloesporoides* EN L'OLIVERA

Garcia Figueres, Francesc

Servei De Laboratori Agrari Del D.A.R.P. , C/ 3, Zona Franca 08004 Barcelona

Duatis Monllaó, Joan Josep

A.D.V. Per Al Control De La Mosca De L'oliva Al Baix Ebre I Montsià,  
P/ Mossen Ovidio Tobias, 6-8 43500 Tortosa

Marco Sanz , Valenti

Servei De Protecció Dels Vegetals Oficna Comarcal Del D.A.R.P. D'amposta,  
C/ Sant Pere, 41. 43870 Amposta

Pedret Tena , Enrique

A.D.V. De L'olivera Del Baix Ebre I Montsià,  
P/ Mossen Ovidio Tobias, 6-8 43500 Tortosa

## RESUM

Com a continuació dels estudis realitzats per part del Servei de Protecció dels Vegetals, juntament amb el Laboratori de Sanitat Vegetal i les A.D.V.s de l'Olivera, envers al fong *Colletotrichum gloesporoides*, es van inocular olives en diferents moments fenològics de l'olivera. Aquestes inoculacions es van fer per avaluar la sensibilitat de les olives al fong en cada estadi de desenvolupament. Es van considerar els estadis de quallat (G), enduriment del pinyol (H) i canvi de coloració (I) (segons Classificació Cantero 1977). Com a complement, es va realitzar una tesis de treball efectuant inoculacions en tots tres estadis fenològics.

La infecció del fong, si es donen les condicions adequades, es pot produir en qualsevol moment. Les olives que van rebre totes les inoculacions tenen la infecció més alta. El moment fenològic I és, dels 3 estudiats, quan més fàcilment es pot produir la infecció. L'índex de maduresa i el pes afecten directament en el percentatge d'infecció.

## INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS

Des de l'aparició de la Sabonosa a la campanya 91-92 com a malaltia important a les comarques del Baix Ebre i Montsià, el Servei de Protecció dels Vegetals, juntament amb el laboratori de Diagnosi del S.P.V. (ara Lab. de Sanitat Vegetal), i les A.D.V.s de l'Olivera, es treballa en el seu seguiment i estudi, coordinant els esforços per tal de planificar i optimitzar totes les accions vers el control d'aquesta malaltia.

Després dels tests de fungicides contra el fong en laboratori, es van fer assajos al camp d'on es van extreure alguna conclusió interessant: es van obtenir resultats positius amb barreges de coure i fungicides orgànics per tal de reduir la infecció del fong. Conscients del gran camí a recórrer en el testatge en camp de fungicides contra la Sabonosa, es va pensar que tenint ja algun fungicida contrastat, es podia estudiar el moment òptim de tractament. Això obre dues vessants, d'una banda el moment o moments fenològics de l'oliva on es pot produir la infecció i d'un altra el moment òptim de tractament amb fúngicida des de que s'han tingut les condicions necessàries per a que el fong pugui infectar.

## OBJECTIU

Es pretén valorar la sensibilitat de les olives a ser infectades pel fong en relació al estat fenològic de l'olivera. Les infeccions del fong són simptomàtiques en l'oliva quan aquesta arriba a un cert estat de maduració, però la infecció primària es pot produir amb molta anterioritat. Cal saber si l'oliva té algun estat fenològic crític on és més fàcilment infectada pel fong. L'estudi es basa en donar a les olives al camp les condicions

òptimes d'infecció (temperatura, humitat i presència d'inòcul) en diferents moments fenològics i avaluar els símptomes a la maduració.

## MATERIAL I MÈTODES

### Material vegetal.

La finca d'experimentació està situada en el terme municipal de Roquetes (Baix Ebre) a la partida de Panxa Blanca. És un camp d'oliveres de quasi 100 anys amb alguna més jove (30-40 anys), d'una superfície total de 1,5 ha. El marc de plantació es pot considerar de 10 x 10 m., encara que no és regular pels canvis de nivell de la finca (3 terrasses). La varietat d'oliva és morruda cultivada en secà.

Aquesta finca no ha presentat mai cap atac de sabonosa tot i estar en el límit geogràfic de distribució de la malaltia. Això no és un factor negatiu per a l'estudi ja que, com veurem durant la metodologia, ens vam basar en la inoculació del fong a les olives i per tant la infecció natural no ens era necessària.

### Tesis.

Les tesis es basaven en el estat fenològic en què s'ha portat a terme la inoculació amb espores del fong i amb la concentració d'espores de l'inòcul.

Vam decidir 3 moments d'actuació concrets. El primer el de quallat de l'oliva, que en funció de les condicions climàtiques coincideix normalment amb la segona quinzena del mes de maig per a la varietat morruda. Aquest és considerat com el primer moment fenològic sensible a l'infecció del fong. Abans les condicions per l'infecció no es consideren viables.

El moment fenològic d'enduriment de pinyol va ser el segon moment d'inoculació escollit. Sempre en funció de les condicions climàtiques, normalment s'aproxima a principis del mes de juliol.

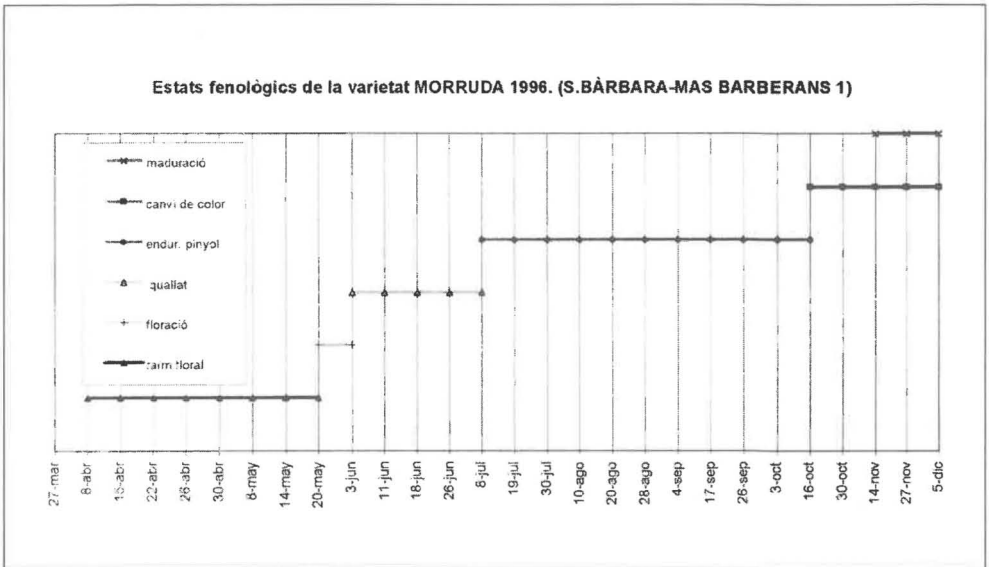
Per últim, el tercer moment fenològic d'inoculació va ser el de previ a la maduració del fruit, el canvi de color. Aquest moment és considerat com el més sensible a l'infecció (Sagasta, 1967). Cal resenyar que aquest moment sol coincidir amb períodes de pluges i de temperatures òptimes d'infecció, per la qual cosa els riscos d'afecció es consideren més elevats. D'altra banda la varietat morruda presenta una maduració molt irregular en el temps, la qual cosa va dificultar determinar el moment òptim d'inoculació; decidint fer-ho quan un 50% de les olives havien començat a fer el canvi de color.

L'altra variable de les tesis era la concentració d'espores de la inoculació. Es van fer dues concentracions: 28.000 UFC/ml i 280.000 UFC/ml (UFC: unitats formadores de colònies o espores viables). Donat que no hi havia cap experiència anterior d'inoculacions al camp d'aquest fong, es van voler utilitzar dos concentracions diferents per una banda per assegurar la infecció i per un altra per poder trobar una concentració d'inoculació òptima per properes experiències.

**Taula 1:** Tesis de l'assaig.

TESIS	MOMENT D'INOCULACIÓ	CONCENTRACIÓ INÒCUL	DATA INOCULACIÓ
<b>a</b>	Inoculació al quallat	28.000 UFC/ml	4 juny
<b>b</b>	Inoculació al enduriment del pinyol	28.000 UFC/ml	15 juliol
<b>c</b>	Inoculació al canvi de color	28.000 UFC/ml	29 octubre
<b>abc</b>	Inoculació al quallat, al enduriment de pinyol i al canvi de color	28.000 UFC/ml	4 juny, 15 juliol, 29 octubre
<b>A</b>	Inoculació al quallat	280.000 UFC/ml	4 juny
<b>B</b>	Inoculació al enduriment del pinyol	280.000 UFC/ml	15 juliol
<b>C</b>	Inoculació al canvi de color	280.000 UFC/ml	29 octubre
<b>ABC</b>	Inoculació al quallat, al enduriment de pinyol i al canvi de color	280.000 UFC/ml	4 juny, 15 juliol, 29 octubre
<b>T</b>	Testimoni	no inoculades	

**Gràfica 1.** fenologia de la varietat morruda 1996



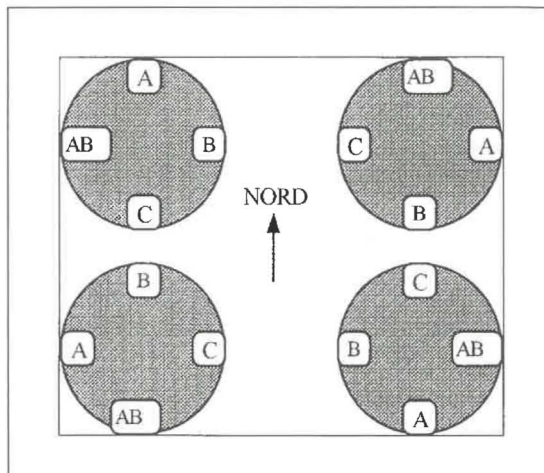
**Parcela elemental.**

Es va considerar una rama de l'olivera amb un mínim de 100 olives.

Es van fer 4 repeticions, cada una d'elles a una orientació dels punts cardinals en arbres diferents per tal que els resultats no estessin influïts per aquest factor. Així doncs, un mateix arbre tenia 4 parcel·les elementals de diferents tesis. A la figura 1 es pot veure la distribució de les parcel·les elementals de les tesis d'alta concentració de 4 oliveres.

Com a testimoni vam utilitzar 1 arbre de la finca sense cap inoculació ni tractament fungicida del que es van recollir olives de les 4 orientacions.

**Figura1:** distribució de les tesis d'alta concentració d'inòcul sobre 4 oliveres



## Inoculació amb espores del fong.

Es va inocular amb espores del fong per tal d'assegurar el potencial d'infecció sobre el material vegetal de l'assaig i no dependre de la infecció natural que en general és molt irregular.

Per la inoculació es va utilitzar una suspensió d'espores a raó de 28.000 CFU/ml. i de 280.000 CFU/ml. La solució mare era de 22.000.000 esp/ml amb una viabilitat del 85% que ens dona 18.700.000 UFC/ml. Vam diluir 1.5 ml. de sol.lució mare amb 1 lt. d'aigua no clorada per aconseguir la sol.lució de 28.050 UFC/ml. Vam diluir 15 ml. de sol.lució mare amb 1 lt. d'aigua no clorada per aconseguir la sol.lució de 280.500 UFC/ml.

La solució d'inòcul es va aplicar a les rames amb un polvoritzador manual d'un litre de capacitat.

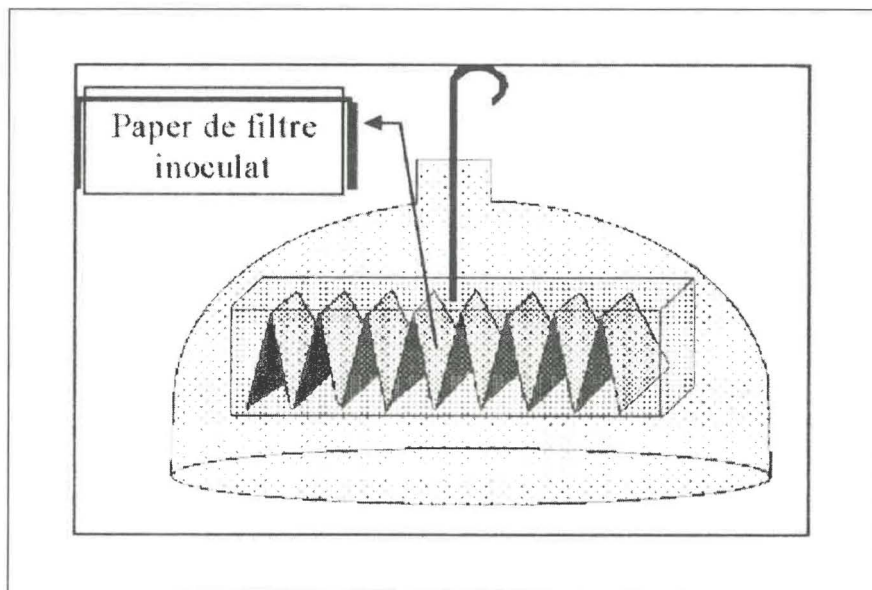
Aquesta inoculació es va mantindre en cambra humida durant dos nits cobrint totalment la rama per mig d'un sac de plàstic.

La inoculació es va dur a terme al cap vespre i seguidament es va embossar amb el sac de plàstic deixant-ho fins el matí següent. A la tarde següent es van tornar a embossar les rames després de polvoritzar-les amb aigua per aconseguir la cambra humida i es van deixar fins el matí següent.

## Control de la viabilitat de les espores

Per tal de anar veient la viabilitat de les espores en el temps, a un arbre es va posar un paper de filtre de 41 x 3,5 cm amb inòcul, dins d'un recipient ventilat i resguardat de la pluja. Es pot veure a la figura 2. L'aplicació inicial es va fer el 4 de juny amb una càrrega de 2.000 UFC/cm<sup>2</sup>

Figura 2



## Recollida i maneig de les mostres.

La recol.lecció es va fer en dos moments: el 13 de novembre, als 15 dies de la inoculació del canvi de color. Constava de 50 olives madures per repetició, excepte en els casos en que no vam arribar a aquest número.

Es va determinar el pes i l'índex de maduresa global de cada mostra. L'índex de maduresa es va valorar visualment segons la següent taula (taula 2)

**Taula 2**

ÍNDEX DE MADURESA	% D'OLIVES TOTALMENT CANVIADES DE COLOR (MORAT-NEGRE)
1	Més del 90%
2	Entre el 50% i el 90%
3	Entre el 10% i el 50%
4	Menys del 10%

De les mostres collides es van contar i separar les olives que presentaven infecció, les restants es van posar en incubació en cambra humida durant una setmana: passat aquest temps es van tornar a comptar les olives infectades, obtenint el % d'infecció total ( $n^{\circ}$  d'olives infectades x 100 /  $n^{\circ}$  d'olives total). Al mateix temps també es va valorar la infecció per altres fongs (*Microsphaeropsis sps.*, *Cladosporium sps.*, *Alternaria sps.*, *Lle-vats*, etc.).

### Calendari d'actuacions

**Taula 3:** Calendari d'actuacions de l'assaig.

DATA	ACTUACIONS
<b>4 juny 96</b>	de 18h a 20h inoculació de les tesis <b>a, A, abc, ABC</b> . Es coloca el paper de filtre inoculat on anirem seguint la viabilitat de les espores.
<b>5 juny 96</b>	es treuen les bosses a les 11h i es tornen a posar a les 19h
<b>6 juny 96</b>	es treuen les bosses a les 11h
<b>15 juliol 96</b>	de 18h a 20h inoculació de les tesis <b>b, B, abc, ABC</b>
<b>16 juliol 96</b>	es treuen les bosses a les 10h i es tornen a posar a les 19h
<b>17 juliol 96</b>	es treuen les bosses a les 9:30h
<b>29 octubre 96</b>	de 16h a 18h inoculació de les tesis <b>c, C, abc, ABC</b>
<b>30 octubre 96</b>	es treuen les bosses a les 9h i es tornen a posar a les 16h
<b>31 octubre 96</b>	es treuen les bosses a les 9:30h
<b>13 novembre 96</b>	mostreig de 50 olives per repetició. Es recull un troç de paper de filtre inoculat
<b>3 desembre 96</b>	mostreig de 50 olives per repetició. Es recull un troç de paper de filtre inoculat

**Taula 4 :** Temperatures dels dos termòmetres col.locats dins i fora de la bossa.

	5 JUNY		6 JUNY	16 JUL		17 JUL	30 OCTUB		31 OCTUB
TEMPERATURES	11h 30	19h	11h	10h	20h 45	9h 30	9h	16h 45	9h 20
<b>T<sup>a</sup> FORA</b>	30°C	38°C	25,5°C	27°C	30°C	26°C	15°C	20°C	13°C
<b>T<sup>a</sup> DINS</b>	32°C		30°C	28,5°C		29°C	13°C		11,5°C
<b>T<sup>a</sup> MÍN FORA</b>	13,5°C	29°C	16,5°C	26°C	27°C	19°C	9,5°C	15°C	6°C
<b>T<sup>a</sup> MÍN DINS</b>	13,5°C		14°C	16°C		15°C	6°C		3°C
<b>T<sup>a</sup> MÀX FORA</b>	39°C	43°C	28,5°C	31,5°C	34°C	30°C	22,5°C	20°C	21,5°C
<b>T<sup>a</sup> MÀX DINS</b>	39,5°C		37°C	40°C		29°C	21°C		20°C

## RESULTATS

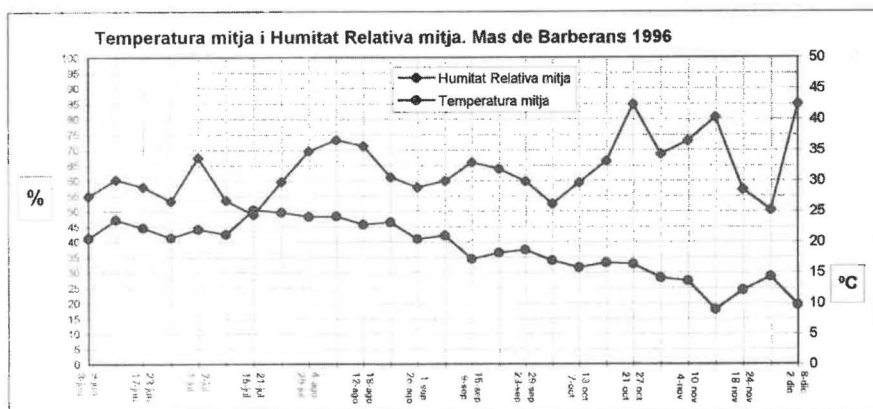
### Recuperació d'espores en les inoculacions.

En la taula 5 veiem els resultats de la viabilitat de les espores en dos recuperacions posteriors.

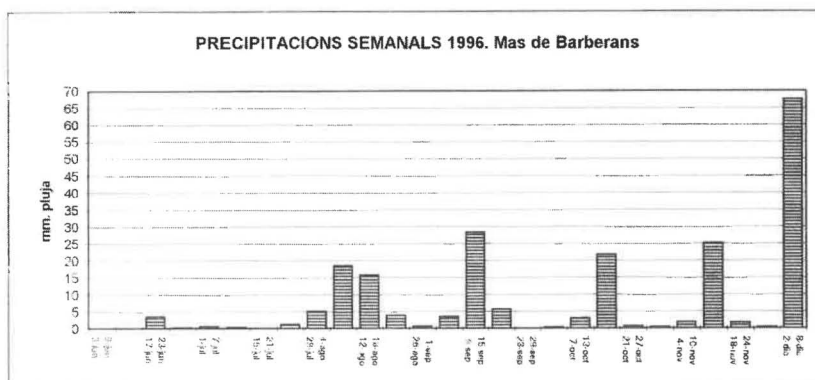
**Taula 5:** Viabilitat de les espores.

DATA	UFC/cm <sup>2</sup>	REDUCCIÓ %
04/JUN/96	2.000	0
15/JUL/96	5,7	71,5
09/DEC/96	0	100

**Gràfica 2:** temperatures i humitats relatives durant el període de l'assaig.



**Gràfica 3:** precipitacions durant el període de l'assaig



**Gràfica 3:** precipitacions durant el període de l'assaig

### Inoculacions amb espores del fong.

En les següents taules i gràfiques veiem les dades obtingudes

**Taula 6:** Infecció en olives de les Tesis d'inoculació baixa.

TESIS D'INOCULACIÓ BAIXA (28.000 UFC/ml). Mostratge del 13 nov 96					
REPETICIÓ	N° OLIVES	PES MIG (g)	GRAU MADURESA	<i>Colletotrichum goesporioides</i>	
				n° olives	%
2 <sup>a</sup>	50	2,39	2	0	0,00
3 <sup>a</sup>	32	2,92	1	10	31,25
6 <sup>a</sup>	50	1,98	2	1	2,00
7 <sup>a</sup>	50	2,30	2	0	0,00
<b>TOTAL a</b>	<b>182</b>	<b>2,35</b>	<b>1,74</b>	<b>11</b>	<b>6,04</b>
2b	50	3,35	2	4	8,00
3b	38	2,43	3	4	10,53
6b	50	2,71	2	3	6,00
7b	50	2,47	1	1	2,00
<b>TOTAL b</b>	<b>188</b>	<b>2,76</b>	<b>2</b>	<b>12</b>	<b>6,38</b>
2c	50	2,55	3	2	4,00
3c	36	2,44	2	4	11,11
6c	50	3,59	1	5	10,00
7c	50	2,36	3	16	32,00
<b>TOTAL c</b>	<b>186</b>	<b>2,76</b>	<b>2,25</b>	<b>27</b>	<b>14,52</b>
2abc	50	2,97	2	4	8,00
3abc	50	2,90	1	35	70,00
6abc	50	2,57	2	4	8,00
7abc	39	2,85	2	7	17,95
<b>TOTAL abc</b>	<b>189</b>	<b>2,82</b>	<b>1,75</b>	<b>50</b>	<b>26,46</b>
1test	50	2,73	1	1	2,00
2test	50	3,70	1	2	4,00
3test	50	3,17	1	0	0,00
4test	50	2,61	1	0	0,00
<b>TOTALTest</b>	<b>200</b>	<b>3,05</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1,50</b>

**Taula 7:** Infecció mitjana per tesis dels fongs principals.

INFECCIÓ FÚNGICA PER TESIS. % D'olives infectades			
TESIS	<i>C. goesporioides</i> (1)	<i>Cladosporium sp.</i>	<i>M. olivacea</i> (2)
a	6,04	2,75	0,00
b	6,38	1,06	2,13
c	14,52	1,61	4,30
abc	26,46	0,00	1,59
A	10,26	0,51	2,56
B	12,00	0,50	0,00
C	27,92	3,25	3,90
ABC	54,32	4,94	10,49
testim	1,50	3,50	3,50

(1) *Colletotrichum goesporioides*

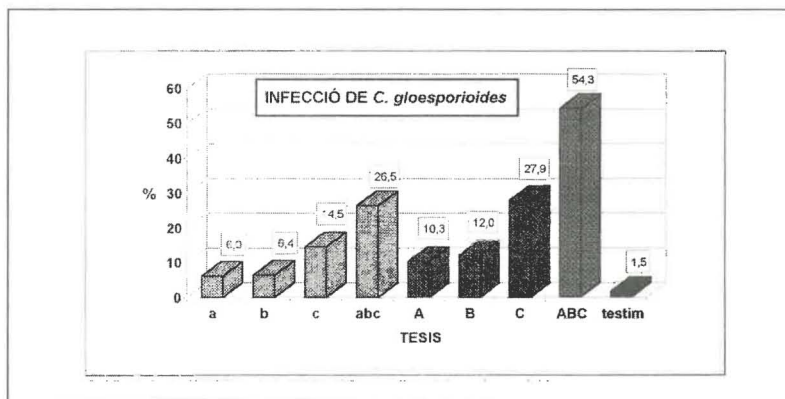
(2) *Microsphaeropsis olivacea*



Taula 8: Infecció en olives de les Tesis d'inoculació alta.

TESIS D'INOCULACIÓ ALTA (28.000 UFC/ml). Mostratge del 13 nov 96					
REPETICIÓ	N° OLIVES	PES MIG (g)	GRAU MADURESA	Colletotrichum gloesporioides	
				n° olives	%
4A	45	2,86	3	4	8,89
5A	51	3,01	2	9	17,65
8A	50	2,19	2	4	8,00
9A	49	2,39	2	3	6,12
<b>TOTAL A</b>	<b>195</b>	<b>2,61</b>	<b>2,25</b>	<b>20</b>	<b>10,26</b>
4B	50	2,69	4	6	12,00
5B	50	2,31	4	2	4,00
8B	50	2,15	2	11	22,00
9B	50	2,28	2	5	10,00
<b>TOTAL B</b>	<b>200</b>	<b>2,36</b>	<b>3</b>	<b>24</b>	<b>12,00</b>
4C	4	3,63	1	3	75,00
5C	50	3,10	2	29	58,00
8C	50	2,38	1	8	16,00
9C	50	2,01	2	3	6,00
<b>TOTAL C</b>	<b>154</b>	<b>2,53</b>	<b>1,5</b>	<b>43</b>	<b>27,92</b>
4ABC	50	3,81	1	43	86,00
5ABC	50	2,75	3	37	74,00
8ABC	12	1,79	2	3	25,00
9ABC	50	1,84	3	5	10,00
<b>TOTAL ABC</b>	<b>162</b>	<b>2,73</b>	<b>2,25</b>	<b>88</b>	<b>54,32</b>
1test	50	2,73	1	1	2,00
2test	50	3,70	1	2	4,00
3test	50	3,17	1	0	0,00
4test	50	2,61	1	0	0,00
<b>TOTALTest</b>	<b>200</b>	<b>3,05</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1,50</b>

Gràfica 4: Infecció mitjana de les tesis pel fong *Colletotrichum gloesporioides*.





## Estudi estadístic de les dades.

### Anàlisi de la Variància (MANOVA):

El disseny experimental va ser el següent:

Fonts de variació: MOMENT DE TRACTAMENT..... Test, A, B, C, ABC  
DOSI..... 0, 1, 2

Covariants: PES  
MADURESA

Variables dependents:

Descripció VARIABLE	Abreviatura	Homog. VAR
Percentatge d'olives infectades	PERCENT	
Arc sinus arrel quadrada del percentatge / 100	ASINSQ	0.31
ASINSQ menys l'efecte del pes de l'oliva i l'índex de maduració	AR_M_P	
ASINSQ menys l'efecte de l'índex de maduració	AR_MAD	
ASINSQ menys l'efecte del pes de l'oliva	AR_PES	

S'ha fet la transformació Arc sinus de l'arrel quadrada del percentatge / 100, per tal d'aproximar la variable a la distribució Normal. L'índex d'homogeneïtat de la variància (Homog. VAR) correspon al de Cochran, que per valors superiors a 0.005 es considera que la variància és homogènia.

### Efecte de les Covariants

Valors  $\beta$ : PES = 0.2766  
MADURESA = 0.08079

Per tal d'optimitzar l'índex de maduresa observat (taula 2) amb l'aplicable a la sensibilitat a la infecció, s'ha calculat a partir d'experiències anteriors (García Figueres, 1994), trobant el següent:

Índex observat		Índex aplicat
Més del 90% madures	1	1
Entre el 50% i el 90% madures	2	1.5
Entre el 10% i el 50% madures	3	1.75
Menys del 10% madures	4	2

Les fórmules aplicades a les variables han estat:

$$\begin{aligned}ASINSQ &= \text{ARC SIN} (\sqrt{\text{PERCENT} / 100}) \\AR\_M\_P &= ASINSQ - (\beta_{\text{mad}} \times \text{MADURESA} + \beta_{\text{pes}} \times \text{PES}) \\AR\_MAD &= ASINSQ - (\beta_{\text{mad}} \times \text{MADURESA}) \\AR\_PES &= ASINSQ - (\beta_{\text{pes}} \times \text{PES})\end{aligned}$$

### Separació de mitjanes.

S'han fet per Duncan i Student-Newman-Keuls, donant valors semblants. La F prob de la variable ASINSQ era de 0.0014.

## AR\_M\_P

F prob = 0.0003

Testimoni

Tesi A

Tesi B

Tesi C

Tesi ABC



## AR\_MAD

F prob = 0.0011

Testimoni

Tesi A

Tesi B

Tesi C

Tesi ABC



## AR\_PES

F prob = 0.0015

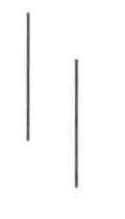
Testimoni

Tesi A

Tesi B

Tesi C

Tesi ABC



## CONCLUSIONS

Si es donen les condicions adequades, es pot produir la infecció del fong, des del mateix moment en què l'oliva es qualla (quallat) i fins la finalització de la collita. Aquesta es pot produir des del quallat i restar latent fins manifestar els símptomes mesos més tard o fins i tot no arribar a manifestar-los.

S'observa una gran reducció de la viabilitat de les espores (taula 5). Aquesta reducció de viabilitat assegura que la infecció (entrada del fong a l'oliva) es produïa en el moment en què feiem la inoculació o pocs dies després.

Les Tesis ABC, abc (reben totes les inoculacions) tenen la infecció més alta, seguides de les Tesis C,c (inoculació al canvi de color) i després vindrien les Tesis A,a i B,b (inoculació al quallat i al enduriment de pinyol, respectivament), totes elles diferenciades del testimoni (taules 6 i 8, gràfica 4). Podem dir que el moment fenològic, dels 3 estudiats, on més fàcilment es pot produir la infecció és el canvi de color.

En relació a la dosi d'inoculació es pot veure que tot i que la dosi augmenta 10 vegades (de 28.000 a 280.000 UFC/ml), el percentatge d'infecció només augmenta 2 vegades aproximadament.

L'índex de maduresa i el pes afecten en el percentatge d'infecció, de manera que un augment d'aquests paràmetres produeix un augment en la infecció.

En la taula 7 veiem les infeccions fúngiques principals que presentaven les tesis. No s'aprecia cap diferència en el grau d'atac d'altres fongs relacionada amb el grau d'infecció de *C. gloesporioides*. Aquests resultats eren els esperats.

## BIBLIOGRAFIA

BATTA, Y; CLERJEAU, M. & NOURRISEAU, J.G. (1991).

L'antracnose du fraisier.

Phytoma, 433: 50-53

DE ANDRES CANTERO, FAUSTINO (1980)

*Enfermedades y Plagas del Olivo*. Riquelme y Vargas Ediciones, S.L. (JAEN)

GARCIA FIGUERES, FRANCESC. (1994).

*Contribució al coneixement de les patologies de l'oliva i la seva relació amb la qualitat de l'oli, a la comarca del Montsià.*

Tesis Doctoral de la Universitat de Barcelona, Departament de Biologia Vegetal, Facultat de Biologia.

SERVEI DE PROTECCIÓ A LA QUALITAT (S.P.Q.) (1992).

*Contribució al coneixement de les causes de l'augment de l'acidesa de l'oli i la patologia de l'oliva associada al Baix Ebre i Montsià. Estudi dels olis.*

Generalitat de Catalunya, D.A.R.P. Memòria d'actuacions.

SERVEI DE PROTECCIÓ DELS VEGETALS (S.P.V.) (1992).

*Contribució al coneixement de les causes de l'augment de l'acidesa de l'oli i la patologia de l'oliva associada al Baix Ebre i Montsià. Estudi de Patologies.*

Generalitat de Catalunya, D.A.R.P. Memòria d'actuacions.

VARIS AUTORS. (1976)

*Olivicultura Moderna*. Editorial Agrícola Española, S.A. (MADRID)