



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

ENSAYO DE PATOGENICIDAD DE AISLADOS FÚNGICOS DE OLIVO SOBRE *OLEA EUROPAEA* VARIEDAD PICUAL

Alumna: Alberto da Silva, Anna Carla

Tutor: Dr. Manuel José Ruiz Torres

Directora: Dña Magdalena Herrera Mármol

Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de
Jaén

ENSAYO DE PATOGENICIDAD DE AISLADOS
FÚNGICOS DE OLIVO SOBRE *OLEA EUROPAEA*
VARIEDAD PICUAL

Esta memoria constituye el Trabajo Fin de Máster y se presenta a la Comisión Evaluadora en Jaén a 05 de Julio del año 2017.

Anna Carla Alberto da Silva

Fdo. Anna Carla Alberto da Silva

MANUEL JOSÉ RUIZ TORRES

Del LABORATORIO DE PRODUCCIÓN Y SANIDAD
VEGETAL DE JAÉN.

Como TUTOR de Dña. Anna Carla Alberto da Silva, en el Máster Universitario en Olivar, Aceite de Oliva, durante el curso 2016-2017

INFORMA: Que el presente trabajo fin de máster, *Ensayo de Patogenicidad de Aislados Fúngicos de Olivo sobre Olea europea Variedad Picual*, ha sido realizado en el Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Jaén por la Licenciada Dña Anna Carla Alberto da Silva, para la obtención del Título de Máster Universitario en Olivar, Aceite de Oliva por la Universidad de Jaén, bajo la dirección de D. Manuel José Ruiz Torres y Dña Magdalena Herrera Mármol.

Magdalena Herrera Mármol

Jaén, julio de 2017

Manuel José Ruiz Torres

Fdo.: Manuel José Ruiz Torres

AGRADECIMIENTOS

Es imposible llegar hasta aquí y no tener a quien agradecer. En mi caso lo que no faltan son personas que fueron simplemente esenciales en esta conquista. Primero quiero agradecer a mi Dios, autor y consumidor de mi fe que con su infinita misericordia ha escogido amarme, bendecir y hacer realidad mis sueños.

A mi guerrera de hoy y siempre, mi madre Lêda Antônia Alberto que es mi ideal de vida y fuerza. Es ella quien intercede por mí junto al Padre y hace mis días más fáciles y sorprendentemente alegres, me enseña, orienta y está a mi lado para lo que dé y venga. Estoy eternamente agradecida por ser su hija.

A mi tutor D. Manuel José Ruiz Torres y Magdalena Herrera Mármol del Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal, por la oportunidad de realizar el trabajo de fin de máster y por toda orientación y enseñanza. Además de todos los investigadores del laboratorio.

A los compañeros del máster Brunna Dantas, Bruno, André Bentes, Jessica por los momentos de relajación y aprendizaje.

A los profesores, investigadores y demás funcionarios de la Universidad de Jaén y del máster de olivar y aceite de oliva por ser facilitadores del proceso de Enseñanza-Aprendizaje, siendo así fundamentales para mi desarrollo académico. A la Fundación Carolina por la beca para realizar ese máster.

¡MUCHAS GRACIAS!

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	6
1. 1. RESUMEN EN INGLÉS.....	7
2. INTRODUCCIÓN.....	8
2. 1. El olivo (<i>Olea europaea</i> L.).....	8
2. 2. El cultivo de olivo en España y Andalucía.....	8
2. 3. El olivo (<i>Olea europaea</i> L.)- variedad Picual.....	10
2. 4. Las enfermedades del olivo.....	11
2. 4. 1. <i>Alternaria</i> sp. (Putrición del fruto).....	12
2. 4. 1. 1. Sintomatología.....	12
2. 4. 1. 2. Descripción morfológica de <i>Alternaria</i> sp.....	12
2. 4. 2. <i>Colletotrichum acutatum</i> y <i>C. gloeosporioides</i> (Antracnosis o Aceituna jabonosa).....	13
2. 4. 2. 1. Sintomatología.....	14
2. 4. 2. 2. Descripción morfológica de <i>Colletotrichum acutatum</i> y <i>C. gloeosporioides</i>	14
2. 4. 3. <i>Cytospora</i> sp.....	15
2. 4. 3. 1. Sintomatología.....	15
2. 4. 3. 2. Descripción morfológica de <i>Cytospora</i> sp.....	15
2. 4. 4. <i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	16
2. 4. 4. 1. Sintomatología.....	17
2. 4. 4. 2. Descripción morfológica de <i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	17
2. 4. 5. <i>Phlyctema vagabunda</i> (Lepra o Antracnosis).....	17
2. 4. 5. 1. Sintomatología.....	18
2. 4. 5. 2. Descripción morfológica de <i>Phlyctema vagabunda</i>	18
2. 4. 6. <i>Pyrenochaeta</i> sp.....	19
2. 4. 6. 1. Sintomatología.....	19
2. 4. 6. 2. Descripción morfológica de <i>Pyrenochaeta</i> sp.....	19
3. OBJETIVOS.....	21

4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
4.1. Ubicación y condiciones del ensayo.....	22
4. 2. Aislados fúngicos empleados.....	22
4. 3. Diseño experimental	23
4. 3. 1. Aislamiento y obtención del inóculo.....	23
4. 3. 2. Medio de cultivo.....	26
4. 3. 3. Obtención de tallos.....	26
4. 3. 4. Inoculación.....	27
4. 3. 5. Parámetros evaluados.....	28
4. 3. 6. Reaislamiento	29
4. 4. Análisis estadísticos.....	29
5. RESULTADOS.....	30
5. 1. Porcentaje de tallos con síntomas.....	30
5. 2. Análisis del cambio de color del tejido.....	32
5. 3. Análisis del diámetro de los tallos.....	35
5. 4. Análisis de la longitud de la lesión.....	38
5. 5. Reaislamiento	44
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	35
7. CONCLUSIONES.....	48
8. BIBLIOGRAFÍA.....	49
9. ANEXOS.....	54

1. RESUMEN

En los últimos años en el Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Jaén se vienen detectando la presencia consistente de hongos asociados a podredumbres de madera de olivo, principalmente sobre la variedad Picual. En ocasiones estos hongos han sido bien estudiados en este cultivo y ya han sido descritos causando daños en ramas, como *Colletotrichum* (Aceituna jabonosa) y *Phlyctema vagabunda* (Lepra).

En otros casos, las citas sobre olivo son escasas, como *Phaeomoniella chlamydospora*, y han citado, sobre frutos como los casos de *Cytospora* y *Pyrenochaeta sp.* Para conocer más a fondo los aislados que se obtienen, y ver si tienen un papel importante en el desarrollo de los síntomas observados en campo, se plantea la realización de este ensayo de patogenicidad. Éste permitirá obtener una primera información sobre el carácter patógeno sobre madera de olivo de aislados poco conocidos como los pertenecientes a los géneros *Cytospora sp.* y *Pyrenochaeta sp.*, principalmente.

Cada aislado fue inoculado en grupos de 35 tallos, procedentes de olivos de la variedad Picual. Los parámetros que se evaluaron en los tallos fueron: porcentaje de tallos con síntomas, cambio de color del tejido, diámetro de los tallos y longitud de la lesión (externa en todos los tiempos e interna en el tiempo 40). Para ello se realizaron 5 observaciones del desarrollo de los síntomas durante 40 días en los siguientes tiempos T=0 (el mismo día); T=10 (a los 10 días), y así sucesivamente, T=20, T=30 Y T=40. Posteriormente se volvieron a aislar a partir de los tallos para confirmar la infección por los patógenos. Para el análisis estadístico se empleó el programa Xlstar 2017.

El aislado de *Cytospora sp.* fue el que causó mayores daños en los valores de los parámetros evaluados, respecto al control, mostrando ser más virulento incluso que los aislados de *Colletotrichum sp.* y *Phlyctema vagabunda* ensayados.

Palabras clave: olivo, Picual, patogenicidad, *Alternaria sp.*, *Cytospora sp.*, *Pyrenochaeta sp.*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phlyctema vagabunda*, *Colletotrichum sp.*

1. 1. RESUMEN EN INGLÉS

Recently, studies at the Laboratory of Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal of Jaén have been detecting the presence of mushrooms associated with rotting olive wood, mainly on the Picual variety. Sometimes these fungi have been well studied in this crop and have already been described causing damage to branches, such as *Colletotrichum* (Soapy Olive) and *Phlyctema vagabunda* (Lepra).

In other cases, appointments on olive trees are scarce, such as *Phaeomoniella chlamydospora*, and have cited, on fruits such as the cases of *Cytospora* and *Pyrenochaeta sp.* to know more about the isolates obtained, and to see if they have an important role in the development of the symptoms observed in the field, the implementation of this pathogenicity test is proposed. This will allow to obtain a first information about the pathogenic character on olive wood of little known isolates such as those belonging to the gender *Cytospora sp.* and *Pyrenochaeta sp.*, mainly.

Each isolate was inoculated in groups of 35 stems, from the Picual variety. The parameters that were evaluated in the stems were: percentage of stems with symptoms, change in tissue color, diameter of stems and length of lesion (external at all times and internal at time 40). For this, 5 observations of the development of the symptoms were made during 40 days in the following times T = 0 (the same day); T = 10 (at 10 days), and so on, T = 20, T = 30 and T = 40. They were then re-isolated from the stems to confirm infection by the pathogens. For the statistical analysis, the Xlstar 2017 program was used.

The isolate of *Cytospora sp.* was the one that caused greater damages in the values of the evaluated parameters, compared to the control, showing to be more virulent even than the isolates of *Colletotrichum sp.* and *Phlyctema vagabunda* tested.

Key words: olive, Picual, pathogenicity, *Alternaria sp.*, *Cytospora sp.*, *Pyrenochaeta sp.*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phyllostoma vagabunda*, *Colletotrichum sp.*

2. INTRODUCCIÓN

2. 1. EL OLIVO (*OLEA EUROPAEA* L.)

El olivo (*Olea europaea* L.) se cultiva desde hace milenios. Pertenece a la familia Oleaceae, siendo la única especie de esa familia que produce fruto comestible (Gómez-Escalonilla y Vidal, 2006).

Históricamente se cree que el olivo es originario del sur del Cáucaso, de las altiplanicies de Irán y del litoral mediterráneo de Siria y Palestina, ampliándose posteriormente su distribución por el resto del Mediterráneo. Griegos y fenicios atravesaron el mar Mediterráneo con los olivos y el aceite de oliva, entre otros productos, negociando principalmente los territorios situados en los actuales países de Italia, Francia, España y norte de África (Coutinho *et al.*, 2015). Se tiene testimonio de la presencia del olivo en la Península Ibérica por el año 2000 A.C. (Veiga, 2009).

El cultivo del olivo se difundió por Chile, Argentina y California gracias los viajes españoles para América (Gómez-Escalonilla y Vidal, 2006). Principios del siglo XX el olivo fue también cultivado en la región de Rio Grande del Sul (Brasil), en localidades con climas más parecidos con el clima mediterráneo (Gabbato, 1945, Coutinho *et al.*, 2015).

2. 2. EL CULTIVO DE OLIVO EN ESPAÑA Y ANDALUCÍA

España es uno de los países con mayor importancia en la industria oleícola (ver Figura 1). Con más de 2.476.540 ha, una producción anual superior a 3,6 billones de euros, representa más de 42% de la producción mundial de aceite de oliva (Moral *et al.*, 2010).

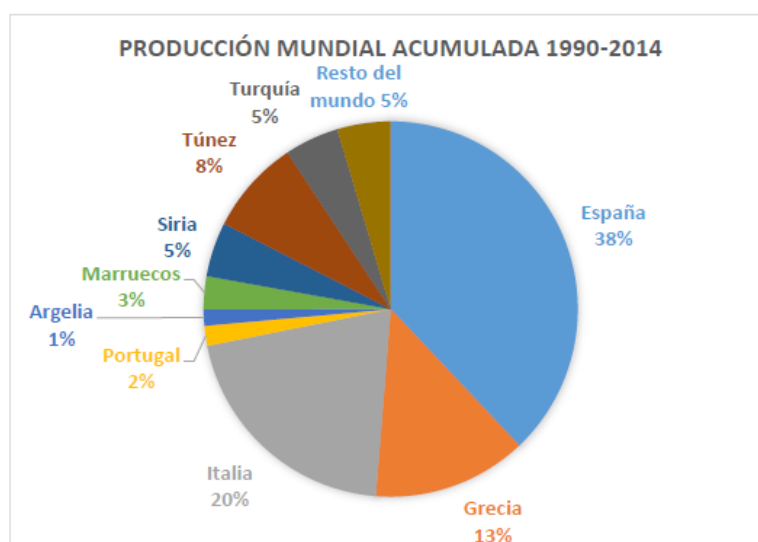


Fig. 1. Fuente: Consejo Oleícola Internacional

En la región de Andalucía el cultivo de olivo tiene un papel fundamental en la economía. La cultura del aceite es algo antiguo, que viene creciendo al largo de los años. La producción de aceite de oliva en Andalucía representa el 80% del total de la producción española (ver figura 2), el 46% de toda la Unión Europea, y más del 36% de la producción mundial (Brenes, 2006).

Es evidente la importancia de este sector para la vida de la población local. Así que cualquier factor que venga a influir en la producción y en la calidad del aceite, como cambios climáticos, implantación del regadío, desarrollo tecnológico, subvenciones, mano de obra, enfermedades y plagas, tratamientos fitosanitarios, debe de ser tenido en consideración (Salas *et al.*, 1997).

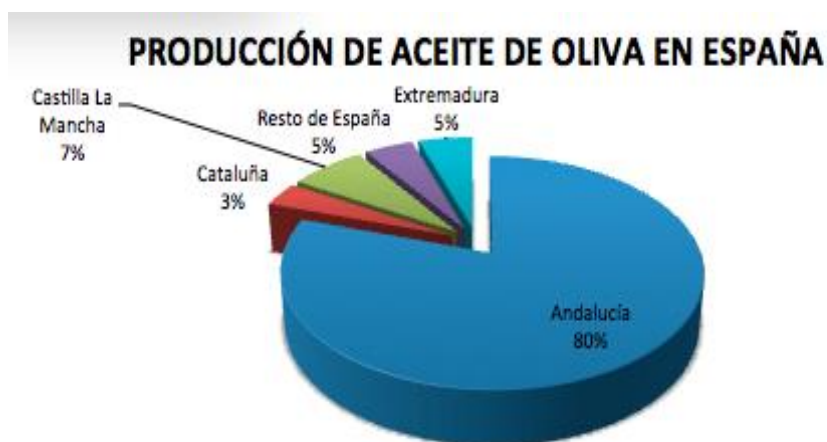


Fig. 2. Fuente: Consejo Oleícola Internacional

2. 3. EL OLIVO (*OLEA EUROPAEA L.*) - VARIEDAD PICUAL

España es el país con mayor cantidad de variedades de olivo cultivadas, en torno a las 37, como Picual, Hojiblanca y Manzanilla entre otras (ver Figura 3). La variedad Picual es la más cultivada y está ampliamente distribuida en muchas plantaciones, principalmente en Andalucía, en las provincias de Granada, Córdoba y Jaén. Entre 1981 y 1998 la variedad Picual aumentó del 45,1 al 58,25% en relación a toda la superficie cultivada. Es una variedad de la que se obtiene una gran cantidad de aceite, siendo la más importante destinada para almazara. (Brenes, 2006).

En ensayos de patología es la variedad más empleada. Es común su uso en ensayos para análisis de susceptibilidad de repilos y antracnosis, de resistencia a *Verticillium dahliae*, diversos programas de mejora vegetal y numerosos estudios de investigación global (Moral *et al.*, 2005; Moral *et al.*, 2006).



Fig. 3. Distribución de las variedades de olivo en España en 2012. Fuente:

<http://www.proyectoohormiga.org/udidac/aceite/distribu.htm>

2. 4. LAS ENFERMEDADES DEL OLIVO

El olivo es un cultivo sobre el que un gran número de agentes pueden ejercer daños o enfermedades, como bacterias, nematodos, moluscos, insectos y hongos (Andrés, 1975; Molina de la Rosa *et al.*, 2004; Conde *et al.*, 2013).

Los patógenos de origen fúngico provocan graves daños a este cultivo. Éstos pertenecen al dominio Eukarya, Superreino Opisthokonta, Reino Fungi, Subreino Dikarya y Eomycota. Son organismos eucariontes, pueden ser filamentosos o unicelulares, sin clorofila, la reproducción es asexual o sexual, la pared celular está compuesta de quitina, la crista de la mitocondria es plana y son heterotróficos (Kirk *et al.*, 2008; Ruggiero *et al.*, 2015).

En la región de Andalucía, el hongo de suelo *Verticillium dahliae* es el agente causal de más de 6,7% de daños y pérdidas económicas, dando lugar a una de las principales enfermedades fúngicas, la Verticilosis (López-Escudero *et al.*, 2003). La cantidad de este agente en el suelo y su virulencia son los factores más importantes para el desarrollo de la enfermedad. Los principales síntomas que causan son la apoplejía y marchitamientos en parte del árbol, cambio de coloración y desecación de las hojas, llegando a muerte rápida de las ramas (Jiménez-Días *et al.*, 2012). La detección de este patógeno mediante el aislamiento de muestras de tallos en medio de cultivo, es habitual en el laboratorio, y permite detectar la presencia de otros hongos asociados a esta marchitez.

Es frecuente encontrar hongos causando daños en ramas y madera de varios cultivos leñosos, como frutales de hueso o de pepita, viña y olivo. En España y Túnez se ha identificado diez especies pertenecientes a los géneros *Phomopsis*, *Phoma*, *Coniothyrium*, *Cytospora* y *Neofusicoccum* consistentemente afectando ramas de olivo en variedades de aceituna de mesa (Pérez, *et al.*, 2010). También en España y en Sur de Portugal hay estudios sobre la incidencia de la lepra del olivo, cuyo agente patogénico es el hongo *Phlyctema vagabunda*, afectando ramas y hojas, además de los frutos que son comúnmente afectados (Romero *et al.*, 2015). De los aislamientos efectuados en el Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Jaén para la detección de *V. dahliae* en tallos de olivo se han detectado la presencia de aislados que pertenecen a los géneros *Alternaria*, *Cytospora*, *Pyrenochaeta*, especies *Phaeomoniella chlamydospora* y *Phlyctema vagabunda* y complejo *Colletotrichum gloeosporioides-acutatum*.

2. 4. 1. Alternaria sp. (Pudrición del fruto)

Pertenece al Reino Fungi, Clase Hyphomycetes y Género *Alternaria* (Melgarejo *et al.*, 2010). La enfermedad está presente en muchos países de la América del Sur y Europa, afectando a tomate, patata, ajo, pistacho, berenjena, espárrago y cítricos, entre otros (De Liñán y Carral, 1999). En Italia y España especies de *Alternaria* han sido descritas en olivo como *Alternaria tenuis* (Andrés, 1975) y *Alternaria alternata* en frutos (ver figura 4) (Töfoli *et al.*, 2013) y en olivares de alta densidad (Moral *et al.*, 2008).



Fig. 4. Frutos afectados por *Alternaria alternata* (Fuente: Töfoli *et al.*, 2013).

2. 4. 1. 1. Sintomatología

El síntoma más común es la pudrición de los frutos. Ese hongo penetra en el fruto, cuando está maduro o en maduración, afecta al rendimiento graso y a la calidad del aceite. Puede provocar lesiones secas, deprimidas y oscuras. Las altas densidades de algunas plantaciones, podas irregulares y recolección tardía son algunos de los factores que favorecen esta enfermedad (Töfoli *et al.*, 2013).

2. 4. 1. 2. Descripción morfológica de *Alternaria sp.*

En general son hongos saprofitos, a veces actuando como patógenos secundarios. Las colonias de *Alternaria sp.* son de color negro o negro verdoso, a veces grises. Conidias formada en cadenas largas, a veces ramificadas, de forma obclavada, obpiriforme, ovoide o elipsoide. Los conidióforos cortos, oscuros, solitarios o en fascículos. Hifas incoloras, verde oscuro o marrones. Estroma

raramente formado. Septos incoloro o marrón, solitarios o en células conidiogénicas terminales (ver figura 5) (Goidànich, 1975).



Fig. 5. Conídias de *Alternaria alternata* (Fuente: Töfoli *et al.*, 2013).

2. 4. 2. *Colletotrichum acutatum* y *C. gloeosporioides* (Antracnosis o Aceituna jabonosa)

Pertenece al Reino Fungi, Clase Coelomycetes y Género *Colletotrichum*. Esta enfermedad está presente en España y en varias regiones del mundo (Andrés, *et al.*, 1998). Afecta a diferentes partes del olivo, tallo, hoja, pedúnculo, brotes y principalmente el fruto (Oliveira *et al.*, 2005) (ver figura 6), fresón, arándano, cítricos, entre otros.

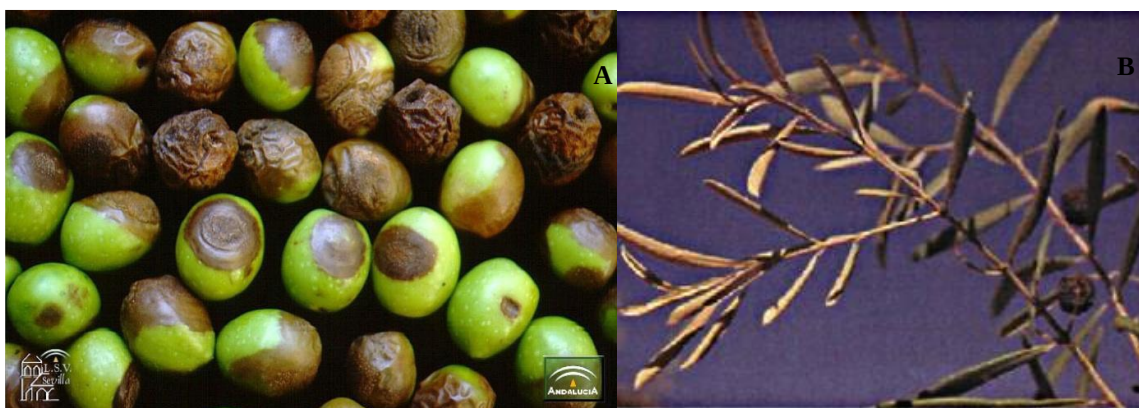


Fig. 6. (A) Indica el que es Antracnosis en frutos. (B) Puntisecado de ramas con aceitunas momificadas Fuente: Oliveira *et al.*, 2005.

2. 4. 2. 1. Sintomatología

La presencia del complejo *Colletotrichum gloeosporioides-acutatum* en olivo es común y evidenciado por la aparición de manchas necróticas negras deprimidas sobre la superficie del fruto. Cuando el hongo tiene las condiciones favorables para su desarrollo, como alta humedad, sobre las manchas oscuras aparecen masas mucosas de color rosa, que al largo del tiempo se tornan más negras. En las hojas y ramas son menos comunes, pero cuando afecta causa manchas y posteriormente defoliación (Melgarejo *et al.*, 2010).

2. 4. 2. 2. Descripción morfológica de *Colletotrichum acutatum* y *C. gloeosporioides*

La separación y identificación de los patógenos que son responsables de esa enfermedad son uno de los aspectos más difíciles y menos conocidos, por eso se prefiere denominar cómo complejo *Colletotrichum gloeosporioides-acutatum*. Tradicionalmente consideraba como el responsable por la enfermedad el hongo *C. gloeosporioides*, sin embargo en la actualidad está siendo demostrado que has dos especies (*C. gloeosporioides* y *C. acutatum*) como agentes causantes de la Antracnosis del olivo. La especie *C. gloeosporioides* tiene conidias con extremo redondeado, son aseptadas y miden de 12,8 x 4,2 µm y *C. acutatum* con extremos agudos, aseptadas y 12,5 x 5,1 µm. Los conidióforos (fiálidas) salen de las células superiores del acérvulo. Los apresorios se forman cuando los tubos germinativos de las conidias a las extremidades de las hifas entran en contacto con una superficie dura. Son de color claro a marrón claro, claviformes a ovales, de bordes lisos, con medidas de 6-5,1 x 4,5-7,5 µm (ver figura 7) (Oliveira *et al.*, 2005).



Fig. 7. Germinación de conidias de *Colletotrichum* spp., nótese las conidias secundarias y los apresorios. Fuente: Oliveira *et al.*, 2005.

2. 4. 3. Cytospora sp.

Pertenece al Reino Fungi, Clase Sordariomycetes y género *Cytospora* (anamorfo) de *Valsa* (teleomorfo). Los hongos de este género tienen más de 100 especies. *Cytospora sp.* está descrita causando chancros en plantas leñosas, como cerezo, viña, olivo y otras (Pérez *et al.*, 2010). En España las especies *Cytospora oleae* y *Cytospora oleina* son descritas por Andrés (1975). Estudios recientes en olivo demuestra que en algunas variedades de aceitunas de mesa, como la gordal sevillana está presentando desecación y muerte de las ramas provocadas por *Cytospora sp.* aunque con escaso poder patógeno sobre dicho variedad (Pérez *et al.*, 2010). En Grecia la especie *Cytospora oleina* fue aislada de ramas secas de olivo con chancros (Rumbos, 1988). *Valsa cypri* fue identificado causando daños en madera a América del Norte a individuos de la familia *Oleaceae* (Spielman, 1985) y en Sudáfrica a especie *Olea europea* var. *africana* y otro aislado afectando a frutos de olivo (Adams *et al.*, 2006).

2. 4. 3. 1. Sintomatología

Más de 70 especies de arbustos, árboles frutales y forestales de madera dura son atacadas por especies de *Cytospora*, causando la enfermedad conocida como cáncer por *Cytospora*. Esa enfermedad es más severa en árboles frutales. Los árboles son dañados por los cánceres que se desarrollan sobre el tronco, en los vástagos y sobre las ramas, estas últimas en general se quiebran. Al principio, el cáncer produce una muerte circular gradual en la corteza del vástago o tallo. Posteriormente la corteza se arruga y separa del tejido leñoso. El cáncer aumenta de tamaño a cada año (Agrios, 1985).

2. 4. 3. 2. Descripción morfológica de *Cytospora sp.*

El género tiene conidiogénesis enteroblásticas (fialídica), conidioma estromático (Phialostromatineae). Conidios no ramificados ni con apéndices, conidios hialinos, sin tabiques, células conidiógenas integradas sobre conidióforos tabicados, que son diferentes de, y salen por encima de la pared del tejido sobre el cual se producen. El conidioma ni superficial, ni simple acérvulo, conidioma sumergido, ni rostrado, ni pseudostromático, ni complejo (con varias capas

diferentes). Los conidios son pequeños, claramente alantoides, conidioma con muchos recovecos y multilocular pero con ostiolo simple (Spielman, 1985).

2. 4. 4. *Phaeomoniella chlamydospora*

Los individuos pertenecen al Reino Fungi, Clase Hyphomycetes y Género *Phaeomoniella*. Es un hongo que forma parte el complejo fúngico que causa la enfermedad de Petri en vid, enfermedad muy común en vid (Abreo *et al.*, 2011). En California *Phaeomoniella chlamydospora* viene siendo descrita deteriorando madera y ramas de olivo (Úrbez-Torres *et al.*, 2013).

2. 4. 4. 1. Sintomatología

Las plantas con presencia de esta enfermedad en general tienen un retraso en su desarrollo (brotación y foliar). En los troncos hay áreas negras, necrosis vasculares y pérdida del vigor, en las hojas es más frecuente encontrar necrosis y secado acompañado de clorosis en las ramas (ver figura 8), hasta muerte de las plantas. Afecta individuos con cerca de 2-5 años de edad (Conesa *et al.*, 2002).



Fig. 8. Tallo de olivo (número 9) afectado con *P. chlamydospora*. Fuente: Úrbez-Torres *et al.*, 2013

2. 4. 4. 2. Descripción morfológica de *Phaeomoniella chlamydospora*

El micelio de *P. chlamydospora* consiste en hifas septadas y ramificadas, que aparecen aisladas o en grupos de hasta diez, tuberculadas con verrugas, que se vuelven más claras hacia la dirección de la región conidiogénica. Las clamidósporas pueden ser abundantes o escasas (a depender del aislado), de globales a subglobosas, casi siempre aisladas, raramente en cadenas, oliváceas a castaña, lisas y tuberculadas, de 7-15 μm de longitud y del 5-7 μm de diámetro. Los conidióforos erguidos, simples y cilíndricos pueden surgir de hifas aéreas o sumergidas, con una célula apical de forma alargada, con pared gruesa en la base, pero con pared fina, marrón y más clara hacia el ápice, la cual posee hasta tres septos, con dimensiones del 12-70 μm de altura y 1,5-4 μm de ancho (ver figura 9). Las fiálidas (células conidiogénicas) son aisladas, terminales y monofialídicas, subhialinas, lisas, de forma alargada o subcilíndrica, con 8 al 20 μm de longitud y 1,5 al 4 μm de ancho. Los conidios se presentan agregados con forma globosa y mucilaginosa en los ápices de las células conidiogénicas, oblongos a elipsoidales, y también ovoides. Las dimensiones pueden variar del 3-4 μm de longitud y del 1-1,5 μm de ancho (Almança *et al.*, 2013).

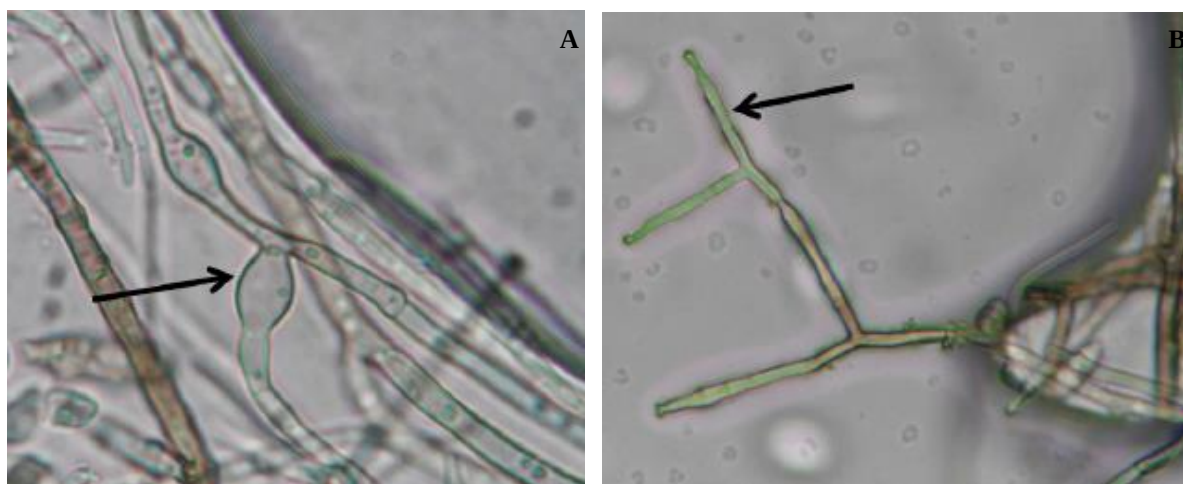


Fig. 9. A- clamidóspora en aumento de 1000x (indicación con la seta) y B conidióforos en aumento de 400x (indicación con la seta) (Almança *et al.*, 2013).

2. 4. 5. *Phlyctema vagabunda* (Lepra o Antracnosis de la aceituna)

Pertenece al Reino Fungi, Filo Ascomycota, Clase Discomycetes y Género *Phlyctema* (Melgarejo *et al.*, 2010). Es una enfermedad emergente que tiene como principal huésped el olivo (ver figura 10). En estudios realizados en la región de

Andalucía y en el sur de Portugal se evidencia el aumento de la incidencia de casos de lepra en los olivares cultivados (Romero *et al.*, 2015)



Fig. 10. (A) Síntomas de la lepra en aceituna. (B) Chancros causados en ramas. Fuente: Romero *et al.*, 2015.

2. 4. 5. 1. Sintomatología

El hongo afecta preferencialmente los frutos (verdes y maduros). Ocasiona heridas redondas de color marrón, con elevación en el medio de donde sale una masa amarilla-anaranjada (Melgarejo *et al.*, 2010). Fue descrita por Romero *et al.*, 2015 causando daños también en ramas y hojas de olivo con aparición de nuevos síntomas, como manchas necróticas en las hojas, chancros de ramas, defoliación, debilitamiento y pérdida de vigor del olivo.

2. 4. 5. 2. Descripción morfológica de *Phlyctema vagabunda*

Conidioma estomático, esporodoquial, abierto, unilocular pero compartimentado y con presencia de hifas estériles (parafisos) intercaladas entre los conidióforos, los cuales son relativamente largos (25-30 μm x 3,5-4 μm), ampuliformes, lisos flexuosos y con collaretes visibles. No se observan apresorios. Las conidias mayoritariamente curvadas y con los extremos redondeados presentan una vacualización bien manifiesta, con dos zonas más potentes separadas por una franja central densa al colorante. Se ha observado una importante variabilidad varietal en el tamaño de las conidias (Melgarejo *et al.*, 2010).

2. 4. 6. *Pyrenochaeta* sp.

Pertenece al Reino Fungi, Filo Ascomycota, Clase Dothideomycetes, género *Pyrenochaeta*. Las especies más conocidas por su carácter patógeno, atacan principalmente a raíces en cultivos del género *Allion* (*Pyrenochaeta terrestris*) y tomate (*Pyrenochaeta lycopersici*) y otras hortícolas (Lević *et al.*, 2013). Otras especies como *Pyrenochaeta corni*, *Py. quercina* y *Py. cava* se encuentran generalmente como endófitos o saprofitos en las dicotiledóneas, principalmente en árboles y arbustos (Woudenberg, *et al.*, 2009). En Apulia, sur de Italia, se ha hecho el primero registro de podredumbre de aceitunas de mesa afectadas por *Pyrenochaeta* sp. y *Pyrenochaeta quercina* (Nigro y Ippolito, 2000). En el CPSV de Jaén también se han aislado especies de este género de tallos de olivo, variedad Picual, de plantaciones de Andalucía.

2. 4. 6. 1. Sintomatología

El género *Pyrenochaeta*, en olivo, tiene mayor incidencia sobre frutos maduros. Ocurre la aparición de pudrición en el fruto alrededor del pedúnculo, la zona se arruga y forma áreas necrosadas rodeadas de color amarillo. Posteriormente hay aparición de color marrón oscura, que se produz caída del fruto (Nigro y Ippolito, 2000).

2. 4. 6. 2. Descripción morfológica de *Pyrenochaeta* sp.

El género *Pyrenochaeta* tiene como una de las características principales la presencia de picnidios con setas (ver figura 11). Micelio blanco a principio y que después se vuelve oscuro. Presencia de picnidios con setas alrededor del ostiolo; picnidios de forma variable, a veces con más de un ostiolo. Los conidios que salen de los picnidios son de pequeños tamaño (Nigro y Ippolito, 2000).

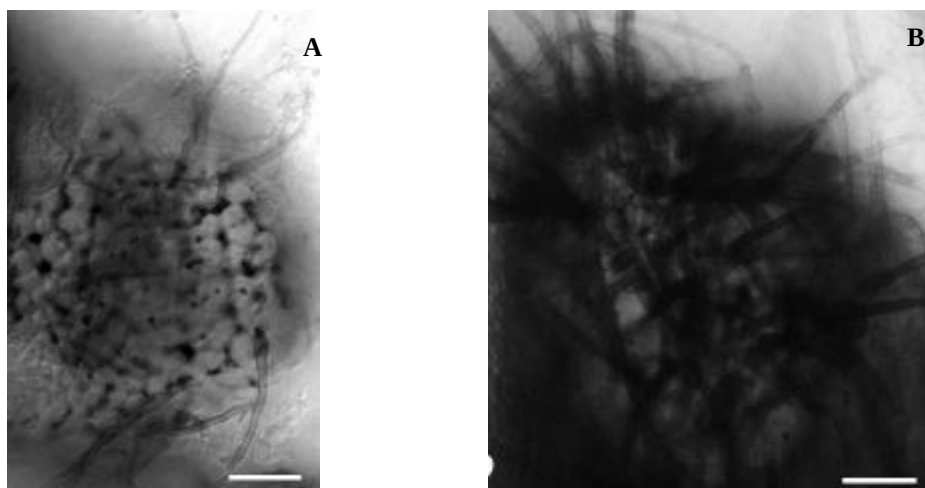


Fig. 11. (A) Picnidios con el ostiolo rodeado de setas en la especie *Pyrenochaeta cava*. (B) Picnidios con el ostiolo rodeado de setas en la especie *Pyrenochaeta corni*. Fuente: Woudenberg, *et al.*, 2009.

3. OBJETIVOS

- Analizar el grado de patogenicidad de seis aislados fúngicos procedentes de olivo (variedad Picual);
- Ver si los aislados anteriores son capaces de producir síntomas en tallos de olivo, variedad Picual.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. UBICACIÓN Y CONDICIONES DEL ENSAYO

La investigación se desarrolló en el Departamento de Fitopatología del Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal (LPSV) de Jaén localizado en el Parque Científico-Tecnológico del Aceite de Oliva (Geolit), Andalucía, España. La temperatura en el área es relativamente constante ($25^{\circ}\text{C} \pm 2$).

4. 2. AISLADOS FÚNGICOS EMPLEADOS

Los aislados fúngicos empleados corresponden a los siguientes hongos: *Phaeomoniella chlamydospora*, complejo *Colletotrichum gloeosporioides-acutatum*, *Pyrenochaeta sp.*, *Alternaria sp.*, *Cytospora sp.* y *Phlyctema vagabunda*. Se obtuvieron a partir de muestras de olivo (tallos y frutos) en las que previamente ya se había detectado la presencia de estos hongos, a través de la identificación morfológica y molecular (ITS).

La identificación de aislados del complejo *Colletotrichum gloeosporioides-acutatum* (causante de la enfermedad denominada Aceituna jabonosa o Antracnosis) y *Phlyctema vagabunda* (causante de la enfermedad denominada Lepra del olivo), se realizó de forma morfológica, al ser éstos patógenos bien conocidos y descritos en este cultivo y que se detectan habitualmente en dicho Departamento. La identificación de los otros se realizó mediante secuenciación de fragmentos del ARN ribosomal de cultivos puros de los aislados, de manera que fue amplificado mediante PCR con cebadores generales para hongos que amplifican la región ITS (Internal Transcribed Spacer) y posterior comparación con las secuencias descritas en GenBank, detallada revisión bibliográfica y estudio posterior de caracteres morfológicos.

El inóculo empleado en el ensayo de patogenicidad se obtuvo de aislamientos de muestras que habían sido remitidas al Dpto. de Fitopatología del LPSV Jaén para el diagnóstico de distintas patologías asociadas con seca de ramas y/o podredumbres de madera. En estas muestras previamente se había detectado de forma consistente la presencia de los géneros de hongos siguientes:

Aislado 1: corresponde con *Valsa sp*, *Valsa cypri*, *Cytospora sp*, *Cytospora pruinosa*, *Cytospora berberidis*. Lo denominaremos *Cytospora sp*.

Aislado 2: corresponde con *Pyrenochaeta quercina*, *Py. cava*, *Py. corni*. Lo denominaremos *Pyrenochaeta sp*.

Aislado 3: corresponde con *Phaeomoniella chlamydospora*.

Aislado 4: corresponde con *Alternaria sp.*, *A. alternata*. Lo denominaremos *Alternaria sp*.

Aislado 5: corresponde con complejo *Colletotrichum gloeosporioides-acutatum*. Lo denominaremos *Colletotrichum sp*.

Aislado 6: corresponde con *Phlyctema vagabunda*.

4. 3. DISEÑO EXPERIMENTAL

4. 3. 1. Aislamiento y obtención del inóculo

Se utilizaron partes de las muestras de las que se habían obtenido los aislados descritos en el punto anterior. De los aislados de las muestras se obtuvieron monoconidios que se multiplicaron de forma masiva para servir de inóculo para el experimento.

Para el crecimiento de *Colletotrichum sp*. se partió de frutos con presencia de aceituna jabonosa. Se realizó una cámara húmeda para favorecer el desarrollo de conidias. La cámara húmeda consiste en poner la muestra en una placa de Petri, tapizada en el fondo y en la parte superior con papel filtro, previamente mojado y escurrido con agua estéril; la muestra se sitúa sobre los dos papeles humedecidos, se sella con parafilm® y se incuba en estufa a 24°C durante 7 días.

Para el aislamiento de hongos presentes en los tallos, éstos se limpiaron con agua de grifo y estropajo, y se mantuvieron durante 1 hora bajo corriente de agua. En condiciones de esterilidad, dentro de la cabina de flujo laminar, con un escalpelo se retiró la corteza de una sección del tallo, y posteriormente con el uso del bisturí se obtuvieron astillas o cuñas del tejido del alrededor de toda esa sección; estas cuñas fueron sumergidas en una solución de hipoclorito sódico al 10% durante 1 minuto, después puestas en papel filtro para secar y se sembraron en medio de cultivo PDAA, de 6-7 astillas por placa que son selladas con parafilm® e incubadas en una estufa a 24°C hasta que se observa crecimiento fúngico.

Luego se procedió a la obtención de cultivos monoconídicos, repicando dichos aislamientos en PDAA, mediante una siembra en zig-zag, realizado de forma alargada para obtener aislados lo más separados posibles unos de otros. Posteriormente se selecciona uno de ellos, se replica en PDAA y se favorece el desarrollo fúngico, procediendo después a la multiplicación del aislado monoconídico seleccionado en varias placas de Petri, mediante repicado en un zig-zag, realizado de forma densa, (ver figura 12) para favorecer el tapizado de la placa con el crecimiento fúngico, que será empleado posteriormente para realizar la inoculación en el ensayo.

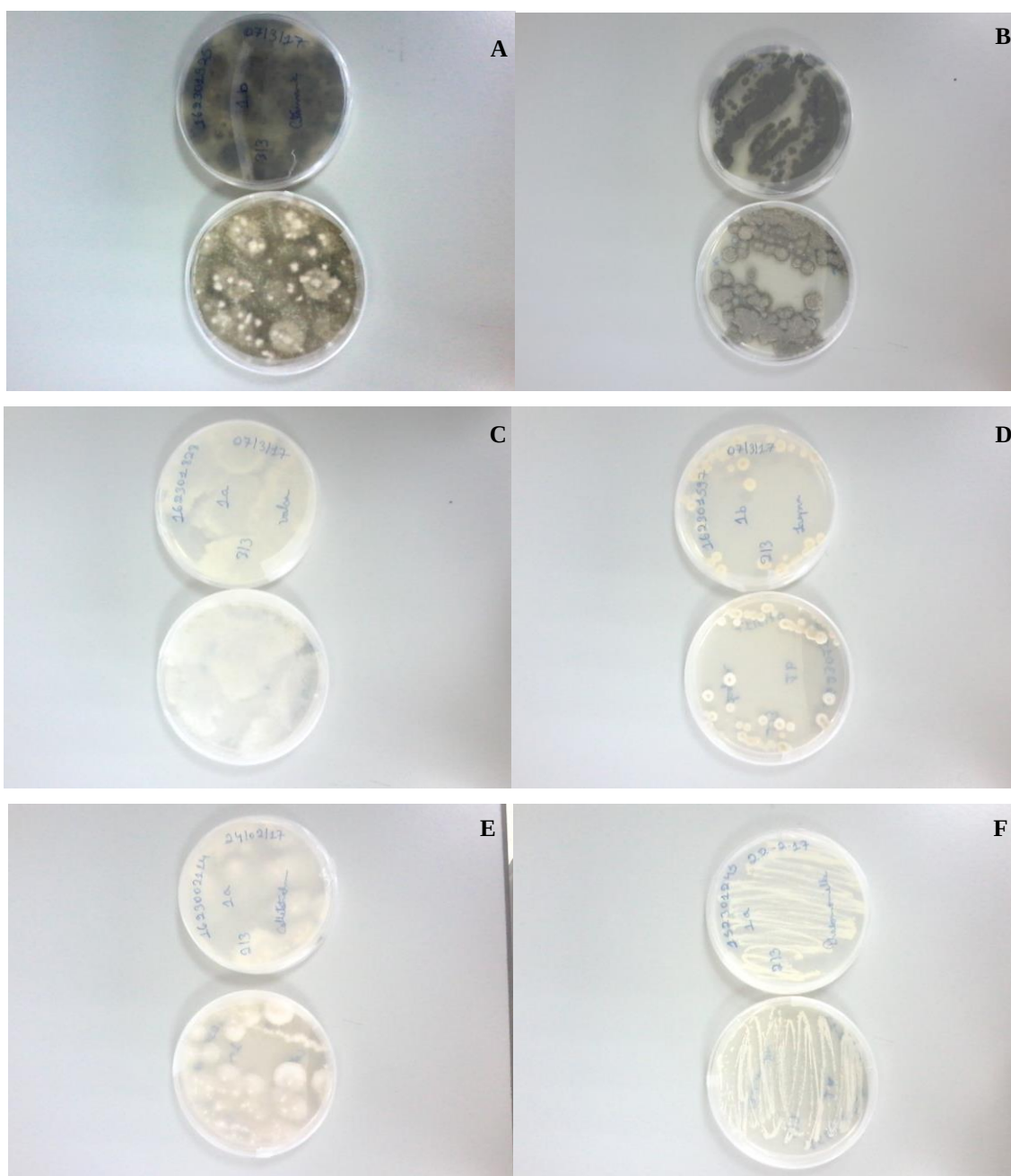


Fig. 12. Placas con la multiplicación de los monoconidios. A- *Alternaria* sp, B- *Pyrenochaeta* sp, C- *Cytospora* sp., D- *Phlyctema vagabunda*, E- *Colletotrichum* sp. y F- *Phaeomoniella chlamydospora*.

4. 3. 2. Medio de cultivo

El medio de cultivo empleado fue PDAA (patata-dextrosa-agar-acidificado) es acidificado para evitar el crecimiento bacteriano. Los ingredientes son 250 g de patata, 20 g de glucosa, 20 g de agar y se completa hasta 1000 ml de agua destilada. Para la preparación, las patatas, peladas y troceadas, se hierven, y el extracto de cocer las patatas se cuela por una gasa y se emplea en la elaboración del PDAA. Luego se añade la glucosa, el agar, el agua y un imán agitador. El medio se esteriliza en autoclave a 121°C/1ATM por 20 minutos. Luego se agita en agitador magnético en condiciones de esterilidad. Cuando se enfría a unos 45°C se añaden 10 gotas de ácido láctico. Luego es distribuido en placas de Petri de 90 mm de diámetro y se almacena en la nevera (5°C ± 3) hasta el momento de usar.

4. 3. 3. Obtención de tallos

La ramas fueron obtenidas en el mes de marzo de 2017 de 5 árboles de la variedad Picual, presentes en lo jardín de Geolit (Parque científico y Tecnológico). De las ramas se seleccionaron tallos de 15 (cm) de longitud y de 3 hasta 9 (mm) de diámetro (ver figura 13). Los mismos fueron cortados, medidos, eliminadas las hojas y lavados con agua de grifo y limpiados con estropajo; luego se dejaron secar sobre papel de filtro dentro de la cámara de flujo.



Fig. 13. A- Árbol de olivo (variedad Picual) y B- tallos listos para la inoculación.

4. 3. 4. Inoculación

Se trabaja en condiciones de esterilidad en la cabina de flujo laminar.

Se obtuvieron 245 tallos, haciendo grupos de 35 repeticiones para cada uno de los hongos ensayados y para el control (ver tabla 1).

Tabla 1. Aislados

Aislados	Hongos	Cantidad de tallos
Aislado 1	<i>Cytospora sp.</i>	35 tallos
Aislado 2	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	35 tallos
Aislado 3	<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	35 tallos
Aislado 4	<i>Alternaria sp.</i>	35 tallos
Aislado 5	<i>Colletotrichum sp</i>	35 tallos
Aislado 6	<i>Phlyctema vagabunda</i>	35 tallos
Control	-	35 tallos

La superficie de los tallos fue desinfectada con alcohol a 96%. Se realizó una incisión de 2 mm de profundidad con el uso de un bisturí, levantando longitudinalmente la corteza y parte del tejido vascular. En las placas con el inóculo de cada aislado se recortaron cuadrados de 10 x 10 mm que fueron usados en la inoculación. En la incisión se depositó un cuadrado con inóculo, de manera que el hongo estuviera en íntimo contacto con el interior de tallo. El grupo control fue inoculado con agar sin la presencia de hongos. La región inoculada fue envuelta con parafilm®, así como las extremidades de los tallos, para evitar desecación. Cada tallo fue numerado, envuelto en papel de filtro humedecido con agua estéril, se recubrió con plástico, manteniendo la numeración y se incubó a 24°C en estufa biológica (ver figura 14). Cada grupo de tallos inoculados se guardó en una bolsa. El papel de filtro fue autoclavado a 121°C/1ATM por 30 minutos y los plásticos y parafilm® esterilizados mediante luz UVA durante 30 minutos.

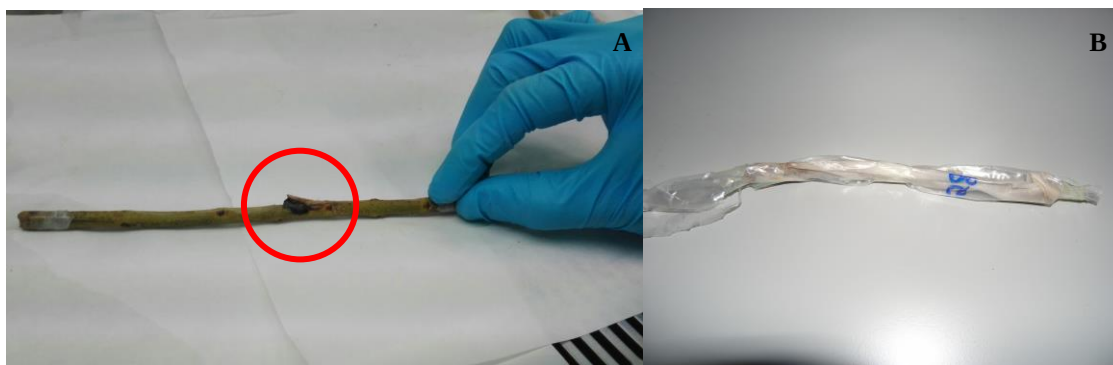


Fig. 14. A- Incisión con el inoculo y B- tallos envueltos con papel de filtro humedecido y plástico.

4. 3. 5. Parámetros evaluados

Los parámetros que se evaluaron en los tallos fueron:

- porcentaje de tallos con síntomas;
- cambio de color del tejido,
- diámetro medio (mm) del los tallos;
- longitud media (mm) externa de la lesión. La longitud externa fue evaluada durante todos los tiempos del experimento (T=0, T=10, T=20, T=30, T=40);
- longitud media (mm) interna de la lesión. La longitud interna de la lesión fue evaluada en el tiempo final del experimento (T=40), donde se peló la corteza para evaluación interna de la lesión;

Para eso se realizaron 5 observaciones del desarrollo de los síntomas durante 40 días en los siguientes tiempos T=0 (el mismo día); T=10 (a los 10 días), y así sucesivamente, T=20, T=30 y T=40. Dentro de la cámara de flujo se realizaron las medidas con el uso de un calibre digital (ver figura 15). Cada 10 días se cambió el papel de filtro por uno nuevo humedecido.

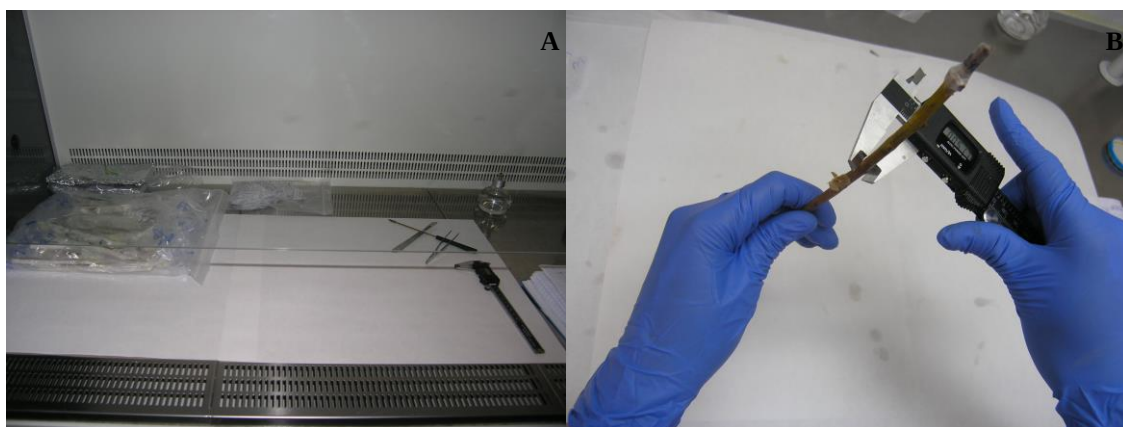


Fig. 15. A- Cámara de flujo y B- medida del diámetro.

4. 3. 6. Reaislamiento

Para confirmar que las lesiones y síntomas observados se correspondían con los hongos inoculados, se procedió a practicar aislamientos en medio de cultivo, como se describió en el punto 4. 3. 1. De cada aislado se utilizaron 6 tallos. Se realizaron aislamientos a 1 cm a ambos lados del punto de inoculación, en la zona de transición entre el tejido sintomático y asintomático, y a 1 cm a ambos lados del chancro en la zona externa a éste. En el control se realizaron aislamientos a 1, 2 y 3 cm a ambos lados del punto de inoculación.

4. 4. Análisis estadísticos

Para los análisis se usó el programa estadístico Xlstar 2017. Los test estadísticos presentaban niveles de significación de 0,05. Fue usado el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la diferencia entre el diámetro de los tallos y la longitud del chancro externo e interno entre los grupos y el control. Al aplicar el test de normalidad se comprobó que los datos no seguían una distribución normal, por lo que se transformaron mediante $(X+1)^{1/2}$, consiguiendo la necesaria condición de normalidad.

5. RESULTADOS

Este estudio permitió determinar tanto el porcentaje de tallos con síntomas producidos por los aislados de *Cytospora sp.*, *P. vagabunda*, *Alternaria sp.*, *Colletotrichum sp.*, *P. chlamydospora* y *Pyrenochaeta sp.*, como las características de estos síntomas, durante un período de 40 días (ver tabla 2). Síntoma es cualquier manifestación de las reacciones de la planta a un agente nocivo e indica una interacción entre ese organismo y la planta. El cambio de color, necrosis, desecación, manchas, depresión, podredumbre, deshidratación y formación de chancro son los síntomas considerados en ese estudio, mientras que la lesión provocada en la zona de inoculación no fue considerada como síntoma.

5. 1. PORCENTAJE DE TALLOS CON SÍNTOMAS

El tiempo 0 es el momento de la inoculación de los aislados, así que aun no había presencia de síntomas en los grupos de tallos inoculados.

En el tiempo 10 el grupo de tallos inoculados con el aislado de *Cytospora sp.* fue el que tuvo mayor porcentaje de tallos con síntomas (65,71%), seguido de los grupos de tallos inoculados con el aislado de *Colletotrichum sp.* (42,85%), después *P. chlamydospora* (31,42%), seguido de *Pyrenochaeta sp.* (17,14%) y *Alternaria sp.* (14,28%). El grupo de tallos inoculados con aislado de *P. vagabunda* y el control no presentaron síntomas en el tiempo 10.

En el tiempo 20 el grupo de tallos inoculados con los aislados de *Cytospora sp.* y *Pyrenochaeta sp.* se incrementaron en el porcentaje, de manera que para el caso de *Cytospora sp.* el porcentaje de tallos con síntomas ascendió del 65,71 al 68,57% y para el caso de *Pyrenochaeta sp.* se elevó del 17 al 22,85%. Sin embargo, para el tiempo 20 se observó una reducción del porcentaje de síntomas en el grupo de tallos inoculados con los aislados *Colletotrichum sp.* del 42,85 al 40% y para los inoculados con *P. chlamydospora* variando de una forma importante del 31,42 al 14,28%. El grupo de tallos inoculados con *Alternaria sp.* mantuvo el mismo porcentaje de tallos con síntomas. En este mismo tiempo, el grupo de tallos inoculados con *P. vagabunda* empezó a presentar síntomas, mientras el control permaneció en este tiempo sin síntomas.

En el tiempo 30 el grupo de tallos inoculados con el aislado de *P. vagabunda* se incrementó en el porcentaje, de manera que el porcentaje de tallos con síntomas

ascendió del 2,85 al 25,71%. Para el tiempo 30 sin embargo se observó una reducción del porcentaje de síntomas en los grupo de tallos inoculados con el aislado de *Colletotrichum sp.* del 40 al 37,14%. Se matuvo constante el % de tallos con síntomas para los grupos inoculados con *Cytospora sp.* (68,57%), *Alternaria sp.* (14,28%), *Pyrenochaeta sp.* (22,85%) y *P. chlamydospora* (14,28%) El control permaneció en este tiempo sin síntomas.

En el tiempo 40 el grupo de tallos inoculados con los aislados de *P. vagabunda*, *P. chlamydospora* y *Alternaria sp.* se incrementon en el porcentaje, de manera que el caso de *P. vagabunda* el porcentaje de tallos con síntomas ascendió del 25,71 al 28,57%, para el caso de *P. chlamydospora* de elevó de 14,28 al 20% y para el caso de *Alternaria sp.* se elevó de 14,28 al 17,14%. Para el tiempo 40 se mantuvo constante el porcentaje de tallos en los grupos de tallos inoculados con los aislados de *Cytospora sp.* (68,57%), *Colletotrichum sp.* (37,14%) y *Pyrenochaeta sp.* (22,85%). El control permaneció en este tiempo sin síntomas.

En la tabla 2 se muestran los valores del porcentaje de tallos con síntomas, para una de las observaciones realizadas para cada grupo de aislado inoculado. Letras diferentes representan diferencia estadística significativa.

Tabla 2. Porcentaje de tallos de los grupos inoculados con los aislados que presenaran síntomas.

	t=0	t=10	t=20	t=30	t=40
<i>Cytospora sp.</i>	0	65,71	68,57	68,57	68,57 ^a
<i>Phlyctema vagabunda</i>	0	0	2,85	25,71	28,57 ^{ab}
<i>Alternaria sp.</i>	0	14,28	14,28	14,28	17,14 ^{ab}
<i>Colletotrichum sp.</i>	0	42,85	40	37,14	37,14 ^a
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	0	31,42	14,28	14,28	20 ^{ab}
<i>Pyrenochaeta sp.</i>	0	17,14	22,85	22,85	22,85 ^{ab}
Control	0	0	0	0	0 ^b

Es importante observar la diferencia significativa en el porcentaje de los síntomas de los grupos de tallos inoculados con los aislados de *Cytospora sp.* (p=0,001) y *Colletotrichum sp.* (p=0,013) en relación al grupo control y no hay diferencia significativa en relación a los grupos inoculados con los aislados de *P.*

vagabunda, *P. chlamydospora*, *Alternaria* sp. y *Pyrenochaeta* sp., en relación al grupo control.

En todos los grupos de tallos inoculados con los aislados ensayados, los síntomas comenzaron a aparecer en el tiempo 10, con excepción de *P. vagabunda* que empezaron en el tiempo 20. El aislado de *Cytospora* sp. fue el que tuvo mayor porcentaje de tallos con síntomas (68,57%) al largo de los 40 días.

En la figura 16 se observa gráficamente la evolución del % de tallos con síntomas al largo de los 40 días de ensayo.

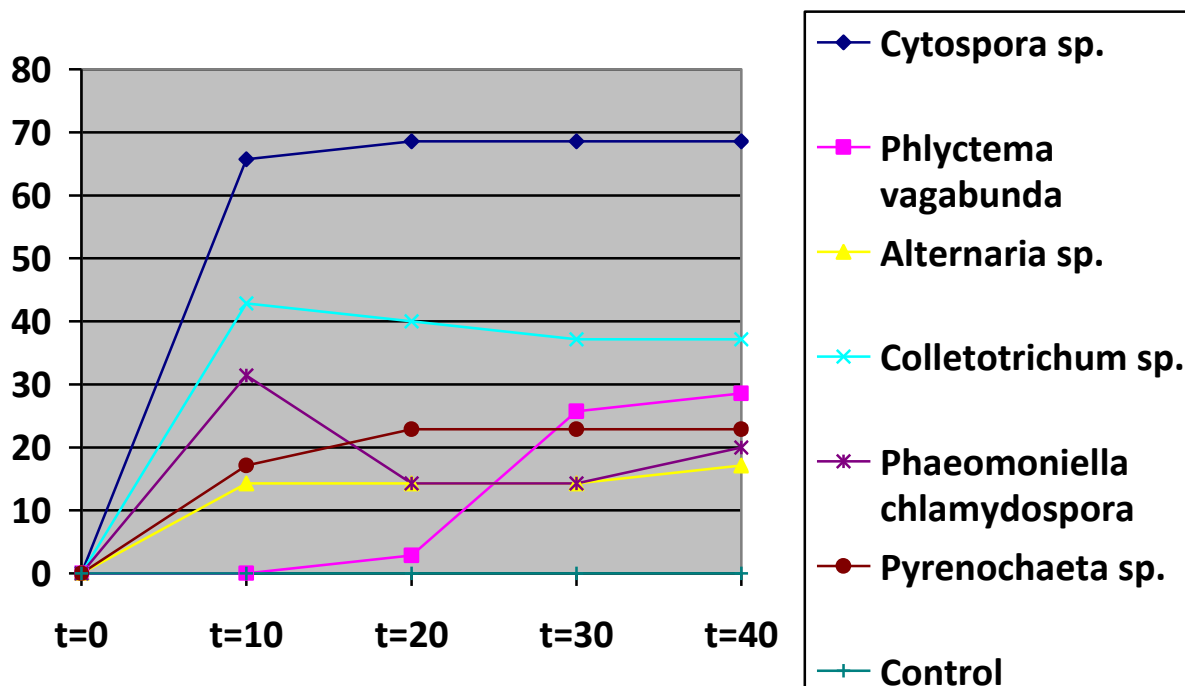


Fig. 16. Evolución en el tiempo del porcentaje de tallos con síntomas de cada grupo de tallos inoculados con cada uno de los aislados ensayados.

5. 2. ANÁLISIS DEL CAMBIO DE COLOR DEL TEJIDO

El color del tejido en los tallos inoculados varió en cada uno de los grupos, y aunque se siguió su evolución en cada uno de los tiempos, la descripción del cambio de color se realizó en el t=40.

En lo que respecta al color de los tallos se observó en los tallos inoculados con el aislado de *Cytospora* sp., cerca de la zona de inoculación un color marrón, con podredumbre y formación de chancro, rodeado por una marcada coloración amarillenta.

En el grupo de tallos inoculados con el aislado de *P. vagabunda* aparecen ligeras descoloración del tejido cerca del punto de inoculación.

Los tallos inoculados con el aislado de *Alternaria sp.* muestran tejidos afectados de color marrón, manchas más oscuras cerca del punto de inoculación; el aspecto de esta zona es deshidratada o reseco.

En los tallos inoculados con el aislado de *Colletotrichum sp.* muestran depresión en la zona central, donde el color, pasa a ser pardo con desprendimiento de la corteza, necrosis, mal olor y producción de sustancia gelatinosa. El extremo de la lesión muestra una área clorótica se extiende gradualmente hacia el exterior de la lesión.

Los tallos inoculados con el aislado de *Phaeomoniella chlamydospora* presenta la zona cerca de la inoculación reseca y de color marrón pálido.

En el caso de los tallos inoculados con el aislado de *Pyrenochaeta sp.* hay un oscurecimiento en la parte del centro del tallo, que es también la parte más seca y clorosis graduales hacia al extremos de la lesión.

El control no presenta cambio de color, sigue con el color verde durante los 40 días (ver figura 17).



Fig. 17. Aspecto de los tallos inoculados con el aislado de A- *Cytospora* sp., B- *P. vagabunda*, C-*Alternaria* sp., D- *Colletotrichum* sp., E- *Phaeomoniella chlamydospora*, F- *Pyrenochaeta* sp., y G- control

5. 3. ANÁLISIS DEL DIÁMETRO DEL LOS TALLOS

La toma de medidas del diámetro (mm) de los tallos de los grupos inoculados con cada uno de los aislados, y para el grupo control durante un período de 40 días, permitió obtener la media del diámetro al largo del tiempo (ver tabla 3).

En el tiempo 0 los tallos de cada grupo inoculado con cada aislado presentaron los siguientes diámetros medios: *Cytospora sp.* (5,34 mm), *P. vagabunda* (5,28 mm), *Alternaria sp.* (4,91 mm), *Colletotrichum sp.* (5,51 mm), *P. chlamydospora* (5,27 mm), *Pyrenochaeta sp.* (5,59 mm) y el grupo control de 5,42 mm de diámetro de los tallos.

A partir del tiempo 0, hay una tendencia general en todos los grupos de tallos inoculados con los aislados, además del grupo control de disminución de los valores medios del diámetro de los tallos (mm) a lo largo de los 40 días. Esa reducción del diámetro fue más evidente en los grupos de tallos inoculados con los aislados de *Cytospora sp.* y *Alternaria sp.*

Tabla 3. Medias en mm del diámetro de los tallos de los grupos de tallos inoculados con aislados fúngicos.

	t=0	t=10	t=20	t=30	t=40
<i>Cytospora sp.</i>	5,34	4,94	4,62	4,24	4,27
<i>Phlyctema vagabunda</i>	5,28	5,02	4,85	4,86	4,94
<i>Alternaria sp.</i>	4,91	4,68	4,38	4,07	4,16
<i>Colletotrichum sp.</i>	5,51	5,39	4,94	5,06	5,06
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	5,27	5,31	5,24	4,96	4,73
<i>Pyrenochaeta sp.</i>	5,59	6,03	5,29	5,02	5,15
Control	5,42	6,03	5,43	5,09	5,2

Los tallos seleccionados para el experimento todos tenían diámetro mínimo de 3 mm y máximo de 9 mm, así que no ha tenido diferencia estadística significativa entre los grupos de tallos inoculados con los aislados referentes al diámetro en el tiempo 0 (ver figura 18).

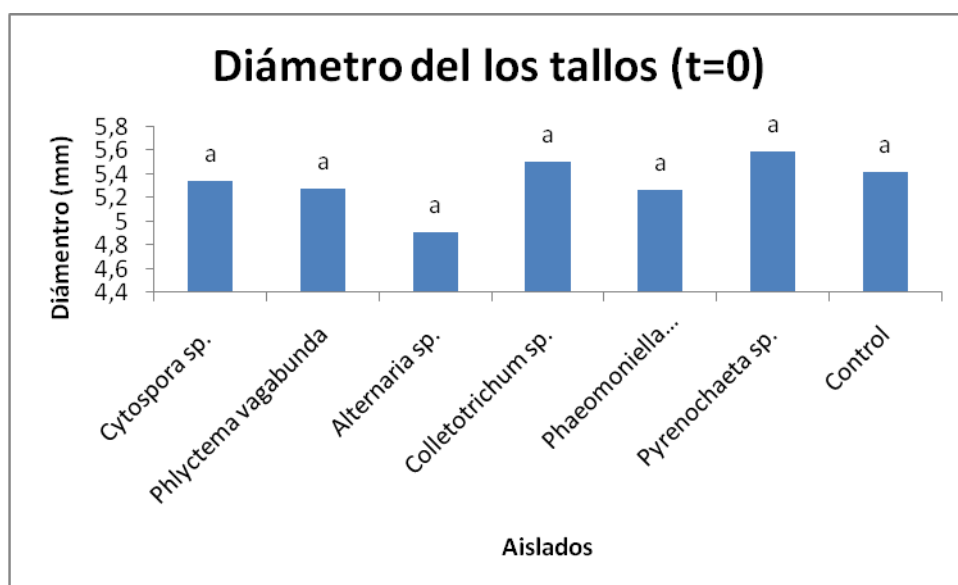


Fig. 18. Diámetro medio en mm de los grupos de tallos inoculados con aislados en el tiempo 0.

En el tiempo 10 hay diferencia estadística significativa en el diámetro medio (mm) entre el control y los grupos de tallos inoculados con los aislados de *Cytospora* sp. ($p=0,000$), *P. vagabunda* ($p=0,001$) y *Alternaria* sp. ($p<0,0001$). No hay diferencia estadística significativa en el diámetro medio (mm) entre el control y los grupos de tallos inoculados con los aislados de *P. chlamydospora*, *Colletotrichum* sp. y *Pyrenochaeta* sp. (ver figura 19).

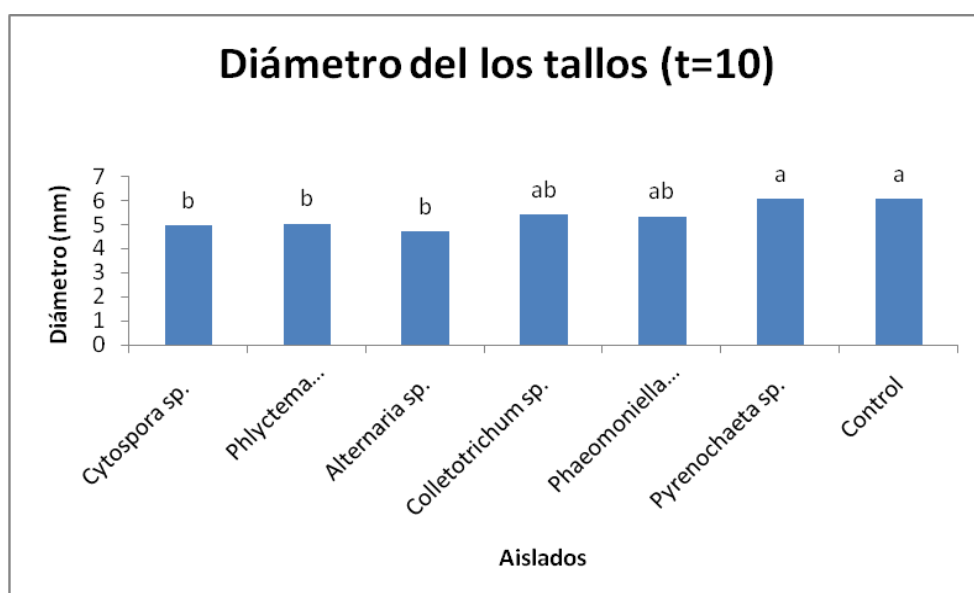


Fig. 19. Diámetro medio en mm de los grupos de tallos inoculados con aislados en el tiempo 10.

En el tiempo 20 hay diferencia estadística significativa en el diámetro medio (mm) entre el control y los grupos de tallos inoculados con los aislados de *Cytospora* sp. ($p=0,007$) y *Alternaria* sp. ($p<0,000$). No hay diferencia estadística significativa

en el diámetro medio (mm) entre el control y los grupos de tallos inoculados con los aislados de *P. chlamydospora*, *P. vagabunda*, *Colletotrichum sp.* y *Pyrenochaeta sp.* (ver figura 20).

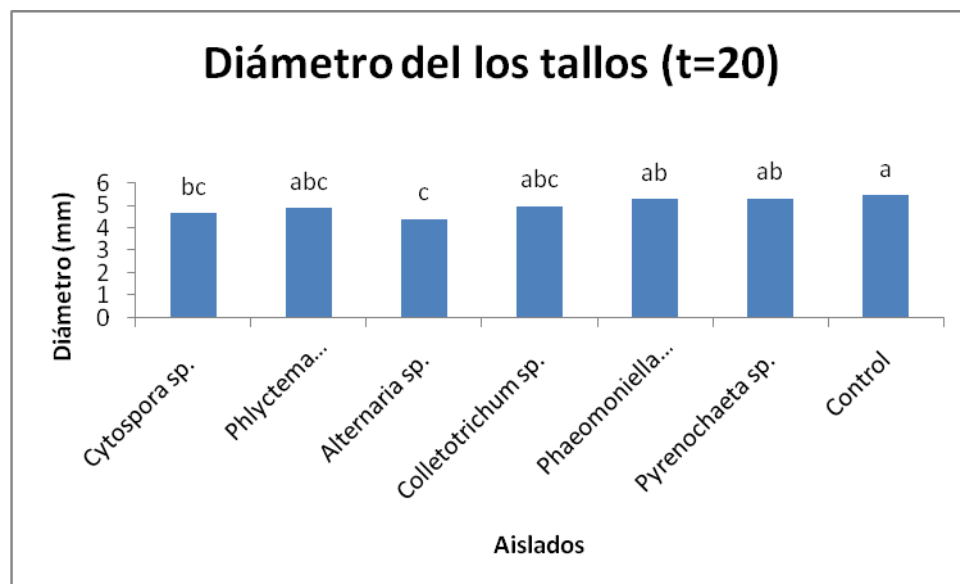


Fig. 20. Diámetro medio en mm de los grupos de tallos inoculados con aislados en el tiempo 20.

En el tiempo 30 se sigue manteniendo la diferencia estadísticamente significativa en el diámetro medio (mm) de los tallos inoculados con *Cytospora sp.* ($p=0,004$) y *Alternaria sp.* ($p<0,000$) (ver figura 21).

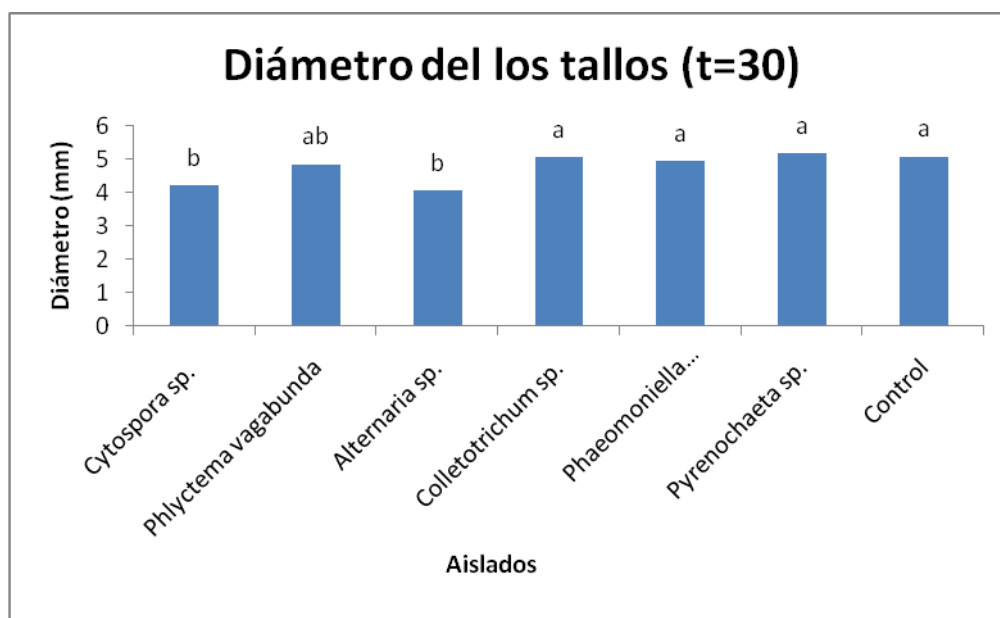


Fig. 21. Diámetro medio en mm de los grupos de tallos inoculados con aislados en el tiempo 30.

En el tiempo 40 se sigue manteniendo la diferencia estadísticamente significativa en el diámetro medio (mm) de los tallos inoculados con *Cytospora sp.* ($p=0,003$) y *Alternaria sp.* ($p<0,000$) (ver figura 22).

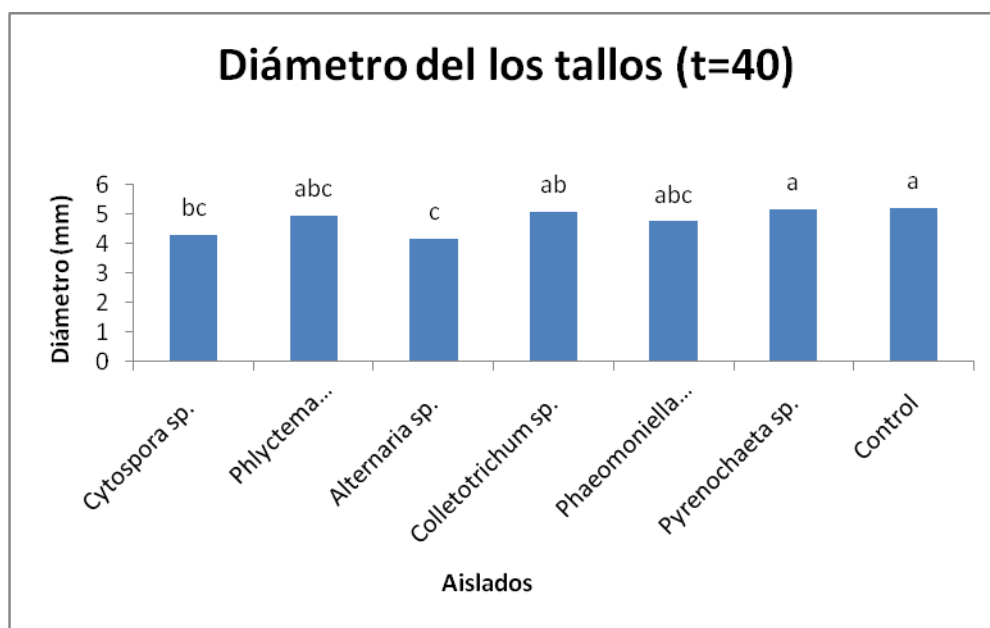


Fig. 22. Diámetro medio en mm de los grupos de tallos inoculados con aislados en el tiempo 40.

5. 4. ANÁLISIS DEL LONGITUD DEL LESIÓN

Fue tomada la medida de la longitud externa de la lesión de los tallos inoculados con los aislados en los tiempos 0, 10, 20, 30 y 40 y la longitud interna en el tiempo 40. La evaluación de la longitud permitió obtener la media de la longitud de la lesión de los grupos de tallos inoculados con cada uno de los aislados fúngicos a lo largo del tiempo (ver tabla 4), de forma externa y al final del ensayo mediante la lesión de los tejidos internos.

Tabla 4. Longitud media (mm) de la lesión externa e interna de la lesión para el grupo de tallos inoculados con cada uno de los aislados fúngicos.

	t=0	t=10	t=20	t=30	t=40	t=40 (interna)
<i>Cytospora sp.</i>	0	30	37,51	38,89	44,91	58,3
<i>Phlyctema vagabunda</i>	0	0	1,43	11,09	14,57	36,3
<i>Alternaria sp.</i>	0	4,63	5,43	6,14	7,86	22,9
<i>Colletotrichum sp.</i>	0	15,57	18,86	13,14	26,71	41,1
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	0	11,57	6,71	4,86	8,86	21,7
<i>Pyrenochaeta sp.</i>	0	5,14	7,14	6,29	16,14	24,6
Control	0	0	0	0	0	0

El tiempo 0 es el momento de la inoculación, así que aun no había presencia de lesiones externas en los grupos de tallos inoculados con los aislados y en el grupo control.

En el tiempo 10 los tallos de cada grupo inoculado con los aislados presentaron las siguientes longitud medias (mm) de la lesión externa: *Cytospora sp.* (30 mm), *Alternaria sp.* (4,63 mm), *Colletotrichum sp.* (15,57 mm), *P. chlamydospora* (11,57 mm), *Pyrenochaeta sp.* (5,14 mm). En el tiempo 10 hay diferencia estadísticamente significativa en la longitud media (mm) de la lesión entre el control y los grupos de tallos inoculados con los aislados de *Cytospora sp.* ($p < 0,0001$), *Colletotrichum sp.* ($p < 0,0001$) y *P. chlamydospora* ($p = 0,004$).

La longitud de la lesión externa de los tallos inoculados con *Cytospora sp.* es significativamente mayor que la lesión media del grupo inoculado con *Colletotrichum sp.* y con *P. chlamydospora*. No hay diferencia estadística significativa en la longitud media (mm) entre el control y los grupos de tallos inoculados con los aislados de *Alternaria sp.*, *P. vagabunda* y *Pyrenochaeta sp.* (ver figura 23).

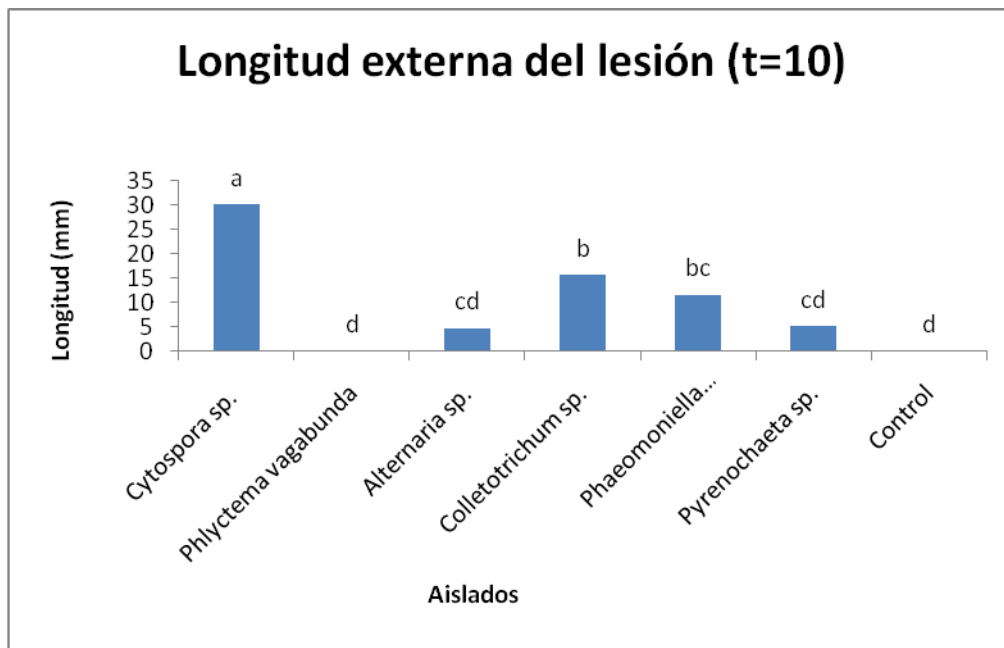


Fig. 23. Longitud media de la lesión externa en mm de los grupos de tallos inoculados con aislados en el tiempo 10.

A partir del tiempo 20, en todos los grupos de tallos inoculados con los aislados, se observó un aumento de los valores medios de la longitud externa de los tallos (mm), excepto en el aislado de *Phaeomoniella chlamydospora*. Ese aumento de la longitud fue más evidente en los grupos de tallos inoculados con los aislados de *Cytospora sp.* y *Colletotrichum sp.* Los tallos inoculados con el aislado de *P. vagabunda* empezó a tener lesión en el tiempo 20 y los tallos del grupo control no presentó lesiones durante los 40 días de experimento.

En el tiempo 20 se mantiene la existencia de diferencia estadísticamente significativa de la longitud media (mm) de la lesión de los tallos inoculados con los aislados de *Cytospora sp.* ($p < 0,0001$) y *Colletotrichum sp.* ($p < 0,0001$) en relación al control y entre ellos. No se aprecia diferencia estadística significativa en los demás aislados (ver figura 24).

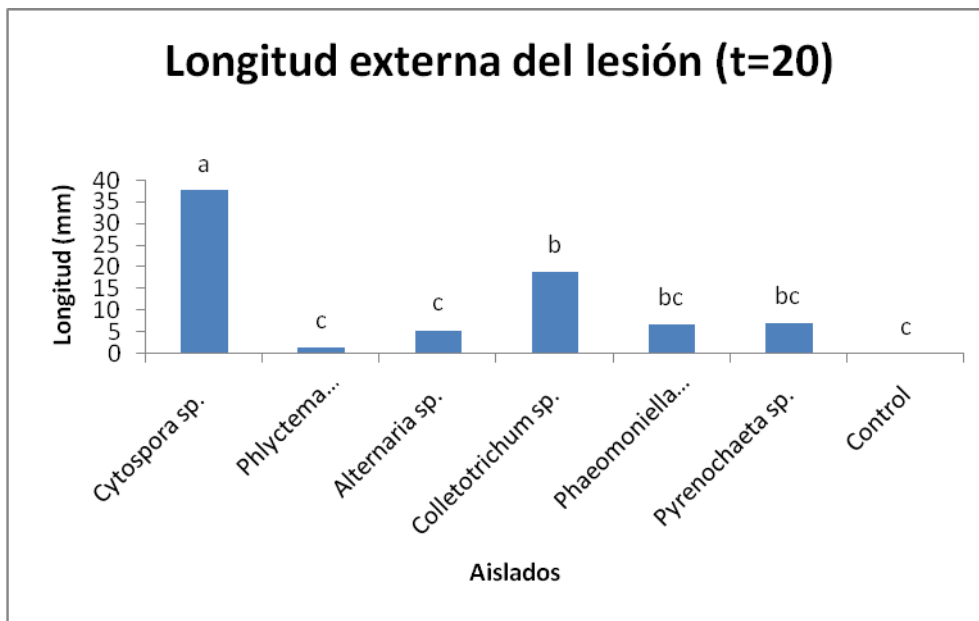


Fig. 24. Longitud media de la lesión externa en mm de los grupos de tallos inoculados con aislados en el tiempo 20.

En el tiempo 30 se mantiene la existencia de diferencia estadísticamente significativa de la longitud media (mm) de la lesión externa de los tallos inoculados con los aislados de *Cytospora sp.* ($p < 0,0001$) y *Colletotrichum sp.* ($p < 0,0004$), en relación al control y entre ellos (ver figura 25).

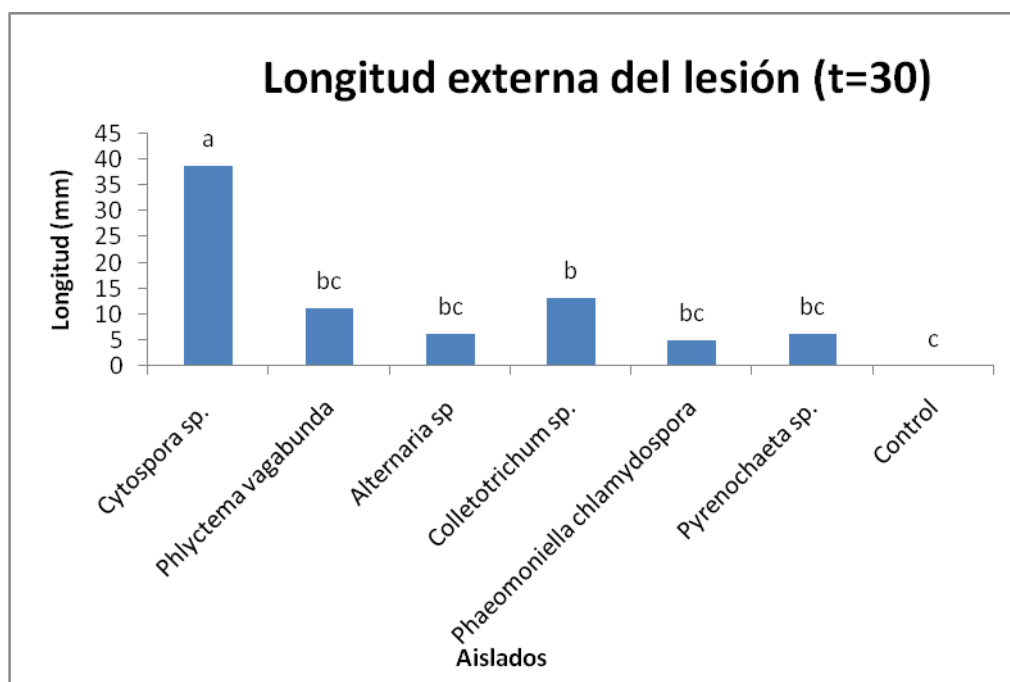


Fig. 25. Longitud media de la lesión externa en mm de los grupos de tallos inoculados con aislados en el tiempo 30.

En el tiempo 40 se mantiene la existencia de diferencia estadísticamente significativa de la longitud media (mm) de la lesión externa de los tallos inoculados con los aislados de *Cytospora* sp. ($p<0,0001$) y *Colletotrichum* sp ($p<0,001$), en relación al control y entre ellos (ver figura 26).

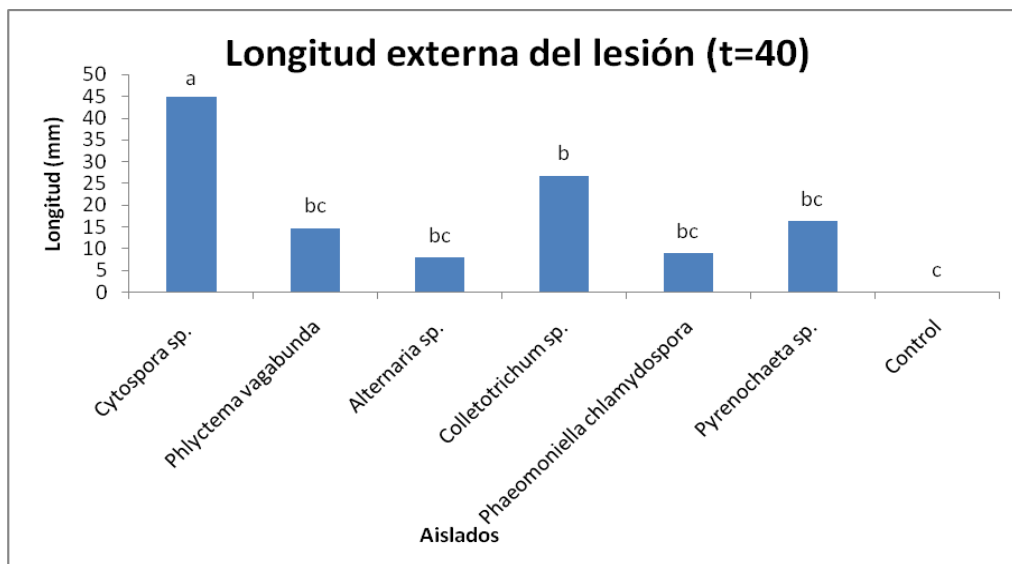


Fig. 26. Longitud media de la lesión externa en mm de los grupos de tallos inoculados con aislados en el tiempo 40.

La longitud media (mm) de la lesión interna se realizó tras finalizar el ensayo, levantando la corteza. Para ello fue evaluada sólo en el tiempo 40. Se observó diferencia significativa referente la longitud media de la lesión (mm) entre el control y los grupos de tallos inoculados con los siguientes aislados: *Cytospora* sp. ($p<0,0001$), *Colletotrichum* sp. ($p<0,0001$) y *P. vagabunda* ($p=0,000$). No hay diferencia significativa entre el control y los grupos de tallos inoculados con los aislados de *P. chlamydospora*, *Pyrenochaeta* sp. y *Alternaria* sp. (ver figura 27).

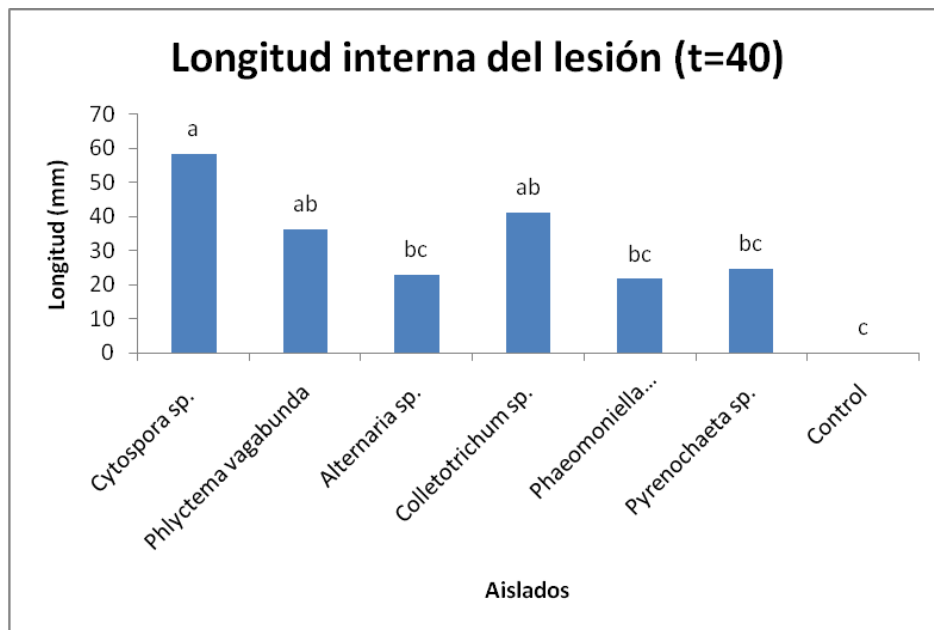


Fig. 27. Longitud de la lesión interna en mm de los grupos de tallos inoculados con aislados en el tiempo 40.

El grupo de tallos inoculados con el aislado de *P. vagabunda* que no presento diferencia significativa en la lesión externa, fue posible observar diferencia en la longitud de la lesión interna. Entre las lesiones internas medias provocadas por los aislados de *Cytospora sp.*, *Colletotrichum sp.* y *P. vagabunda* tampoco se encontraran diferencia estadísticamente significativa; aunque sí en el grupo control.

En la tabla 5 se presenta el resumen de los 4 parámetros evaluados y medidos en el presente estudio. El grupo de tallos inoculados con el aislado de *Cytospora sp.* presentó diferencia estadísticamente significativa en todos los 4 parámetros evaluados, que fueron % de tallos con síntomas, diámetro medio (mm) de los tallos, longitud media externa (mm) de la lesión y longitud media interna (mm) de la lesión. El grupo de tallos inoculados con el aislado de *Phlyctema vagabunda* ha tenido diferencia estadísticamente significativa en 1 de los 4 parámetros evaluados, que fue la longitud media interna (mm) de la lesión. El grupo de tallos inoculados con el aislado de *Alternaria sp.* presentó diferencia estadísticamente significativa en 1 de los 4 parámetros evaluados, que fue el diámetro medio (mm) de los tallos. El grupo de tallos inoculados con el aislado de *Colletotrichum sp.* presentó diferencia estadística significativa en 3 de los 4 parámetros evaluados, que fueron % de tallos que presentaron síntomas, longitud media externa (mm) de la lesión y longitud media interna (mm) de la lesión. Los demás aislados no presentaron diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 5. Resumen de los parámetros evaluados y medidos (porcentaje de tallos con síntomas (%), diámetro medio (Ø), longitud media externa de la lesión (Le) y longitud media interna de la lesión (Li).

	(%)	(Ø)	(Le)	(Li)
<i>Cytospora sp.</i>	b	b	c	b
<i>Phlyctema vagabunda</i>	a	a	a	b
<i>Alternaria sp.</i>	a	b	a	a
<i>Colletotrichum sp.</i>	b	a	b	b
<i>Phaeomoniella</i> <i>chlamydospora</i>	a	a	a	a
<i>Pyrenochaeta sp.</i>	a	a	a	a
Control	a	a	a	a

5. 5. REAISLAMIENTO

Con el objetivo de confirmar la infección por el agente inoculado y cerrar los postulados de Koch, en todos los grupos de tallos inoculados se realizaron aislamientos. Obteniéndose en todos los grupos el aislados reaislado inoculado.

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados del presente trabajo muestran que existen de los aislados ensayados existe uno de ellos, el aislado de *Cytospora* sp., capaz de producir en los tallos inoculados lesiones que para todos los parámetros evaluados (% Ø, Le, Li) han dado valores estadísticamente significativos con respecto al grupo control. En otros aislados también se han observado diferencias significativas, aunque no en todos los parámetros, tales como en *P. vagabunda* y *Colletotrichum* sp., siendo éstos patógenos que ya han sido descritos en Andalucía causando daños en madera de las ramas y tallos de olivo.

En Andalucía, ya ha habido algunas citas de aislados de *Cytospora* sp. Sobre madera de olivo, observándose que sobre la variedad Gordal Sevillana, provocando desecación, muerte de ramas, coloración vascular y chancros, aunque con escasa virulencia (Pérez, *et al.*, 2010). El aislado 1 de *Cytospora* sp., evaluado en este ensayo, según pruebas preliminares de distintas regiones ITS, mostraron que este hongo se puede corresponder con los géneros y especies *Cytospora* sp., *Cytospora pruinosa*, *Cytospora berberidis*, *Valsa* sp. y *Valsa cypri*. En Norteamérica, en 1985, ya fue citado *Valsa cypri* sobre madera en *Oleaceae* (Spielman, 1985) también encontrado en Europa.

En 2006, ha sido citado en Sudáfrica dos aislados de *Valsa cypri*, una sobre *Olea europaea* variedad africana, y otra en frutos de *Olea*. Este trabajo muestra que es muy posible que estemos encontrando este patógeno, *Valsa cypri* o su más habitual forma anamorfa, *Cytospora*, sobre madera de *Olea europaea* variedad Picual, causando chancros y podredumbres en madera de tallos y ramas. Los estudios evalúan el género *Cytospora* con una gran capacidad patogénica en ramas (Romero *et al.*, 2005; Moral *et al.*, 2010, Pérez *et al.*, 2010). *Valsa cypri*, los síntomas presentes en el árbol son conocidos como chancro de Valsa, el hongo infecta la parte interna de la corteza fina, interrumpiendo la conducción del xilema y ocasiona muerte de las ramas o de todo el árbol (Adams *et al.*, 2006). Por otra parte, *Cytospora oleina* en Grecia está asociada con formación de chancros en olivo, decoloración de las ramas, además de muerte de las mismas (Rumbos, 1988). Por eso es importante seguir con los estudios de este aislado para determinar con mayor exactitud de la especie de la que se trata. La virulencia del aislado de *Cytospora* sp. Puede considerarse incluso mayor que la del aislado de *Colletotrichum* sp. Ya que en parámetros como el diámetro del tallo y la longitud de

la lesión externa muestra valores mayores, con diferencias estadísticamente significativas.

El aislado de *Colletotrichum* sp. Presenta con respecto al control diferencias significativas respecto a tres de los parámetros medidos (% Le, Li), lo que es de esperar como hongo patógeno bien reconocido que es sobre el olivo. En ramas de 4-5 cm afectadas por *Colletotrichum* sp. se observó que las mismas se desecan, originan puntiseado y deshidratación, causando debilitamiento del árbol (Oliveira, 2003). De acuerdo con Moral y Trapero (2012) las variedades Hojiblanca y Picudo son las más susceptibles a antracnosis y la variedad Picual es resistente, esa puede ser la explicación por la cual el aislado de *Colletotrichum* sp. no ha tenido diferencia estadísticamente significativas en todos los parámetros evaluados.

Ese trabajo demuestra *Phlyctema vagabunda* es el tercer aislado ensayado que produce mayor cantidad de tallos con síntomas (28,57%), además de producir lesiones internas con diferencias significativas con el control, y al mismo nivel de significación que los aislados de ensayados de *Cytospora* sp. y *Colletotrichum* sp. La lepra del olivo se considera una enfermedad emergente que afecta a cada vez más olivares, presentando síntomas menos conocidos como chancros circulares o longitudinales, considerados graves en las ramas, que se desarrollan a partir de heridas que ya existían antes de la aparición del patógeno. Esos síntomas solamente habían sido descritos en Italia y recientemente en el año de 2015 en Andalucía (España), causando así debilidad y pérdida del vigor del árbol, principalmente en la variedad de Arbequina y Picual (Romero et al., 2015).

En este estudio, el aislado de *Alternaria* sp. fue el que provocó menor porcentaje de tallos con síntomas (17,14%), aunque si se presentó diferencia estadísticamente significativa en la disminución del diámetro medio de los tallos, observándose en los tallos afectados una coloración muy oscura cerca de la región inoculada; es posible que este hongo, que puede encontrarse en tallos formando la fumagina del olivo, actúe como patógeno secundario, de manera que aunque no provoque lesiones aparentes, so pueda llevar a una mayor debilidad de las ramas. Por otro lado, en olivares de Italia y España se ha detectado *Alternaria alternata* causando graves problemas de pudrición en el fruto (Moral et al., 2008), y en estaquillas de olivo en cámara de nebulización causando manchas amarillas, que avanzan desarrollando color negro sobre la superficie atacada, hasta llevar la muerte (Bourbos, et al., 1997). Por eso también sería interesante seguir estudiando este aislado.

En el Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Jaén es frecuente aislar *Pyrenochaeta* sp. de tallos de olivo. Sin embargo, el aislado ensayado de *Pyrenochaeta* sp. no ha provocado ninguna diferencia con el control en ninguno de los parámetros evaluados, aunque sí se ha observado un acentuado cambio de color en los 22,85% de tallos con síntomas que previamente habían sido inoculados con el citado aislado. En el género *Pyrenochaeta* hay especies con carácter saprofito que en condiciones de debilidad de la planta y presencia de heridas, puede causar daños (Woudenberg, *et al.*, 2009).

Recientemente, se ha detectado, por primera vez, en Apulia, sur de Italia, la presencia de *Pyrenochaeta quercina* en fruto de olivo, proporcionando amplios cambios de color marrón oscuro (Nigro y Ippolito, 2000). Esto hace pensar en que se requieren más ensayos antes de descartar el carácter patógeno o saprófito de los aislados encontrados procedentes de tallos de olivo de la variedad Picual.

El género *Phaeomoniella* es conocido causando la enfermedad de Petri *in vivo* (Abreo *et al.*, 2011), si bien la especie *P. chlamydospora* cada vez más viene siendo detectada afectando a tronco, ramas y tallos de olivo, donde los síntomas más evidentes son presencia de chancros y necrosis vasculares (Úrbez-Torres *et al.*, 2013). En nuestro estudio 20% de los tallos desarrollaron síntomas (desecamiento y cambio de color), aunque sin diferencias estadísticas con el control. Así que aunque este hongo puede encontrarse afectando olivos, puede ser que no afecte grandemente a la variedad Picual.

7. CONCLUSIONES

1. Todos los grupos de tallos inoculados con los aislados fúngicos ensayados desarrollaron síntomas, aunque en cantidad y características diferentes;
2. Los aislados de *Cytospora* sp., *Colletotrichum* sp., *Phlyctema vagabunda*, y *Alternaria* sp., mostraron en alguno de los parámetros evaluados, diferencias significativas con el grupo control;
3. El aislado de *Cytospora* sp., puede considerarse el más virulento, ya que mostró diferencias significativas en todos los parámetros evaluados con respecto al control. Las características de los síntomas en los tallos son muy llamativas y destacadas;
4. El aislado de *Cytospora* sp., puede considerarse incluso mayor virulencia que los aislados de *Colletotrichum* sp. y *Phlyctema vagabunda*, patógenos que atacan a madera en Andalucía, ya que la disminución del diámetro en los tallos afectados fue mayor que la provocada por los dos aislados citados, y también la longitud externa de la lesión en cada uno de los tiempos evaluados;
5. Se deben de continuar con los ensayos para dilucidar si el aislado de *Alternaria* sp. es capaz de ser patógeno, ya que ha sido capaz de provocar diferencias en el diámetro;
6. Existen muchos hongos capaces de producir daños en madera de olivo, por lo que se debe de continuar investigando.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abreo, E., Martinez, S., Bettucci, L., & Sandra, L. U. P. O. 2011. *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium* spp. in grapevines from Uruguay. *Phytopathologia Mediterranea*, 50(4), 77-85.
- Adams, G. C., Roux, J., & Wingfield, M. J. (2006). *Cytospora* species (Ascomycota, Diaporthales, *Valsaceae*): introduced and native pathogens of trees in South Africa. *Australasian Plant Pathology*, 35(5), 521-548.
- Agrios, G. N. 1985. "Fitopatología, Grupo Noriega Editores." *Mexico* 1998.
- Almança, M. A. K., de ABREU, C. M., Scopel, F. B., Benedetti, M., Halleen, F., & Cavalcanti, F. R. 2013. Evidências morfológicas da ocorrência de *Phaeomoniella chlamydospora* em videiras no Estado do Rio Grande do Sul. Embrapa Uva e Vinho-Comunicado Técnico (*INFOTECA-E*).
- Andrés, F. de. 1975. "Catálogo de parásitos del olivo." *Bol. Serv. Plagas*.
- Andrés, M. F., García-Arenal, F., López M. M., Melgarejo, P. 1998. Patógenos de plantas descritos en España. Ed. MAPA, Madrid.
- Bourbos, V. A., Skoundridakis, M. T., & Metzidakis, I. 1997. *Alternaria alternata*: a new disease of leafy cuttings of olive shoots. In III International Symposium on Olive Growing 474 (pp. 585-588).
- Brenes, M. D. G. 2006. El olivar en Andalucía y el sistema de protección de la Unión Europea. V. 37. N. 145.
- Conde, P.; Montelongo, M. J., Leoni, C. 2013. Enfermedades del olivo. En: Grompone, M.A. y Villamil, J. (Coordinadores). Aceites de oliva: de la planta al consumidor. Vol. 1. Editorial Hemisferio Sur e INIA. Págs.: 183 – 213.

- Conesa, J., López, P. G., Baidez, A. G., Tomás, A. M. O., & Luna, V. F. 2002. Estudio sobre la enfermedad de Petri en Viña. Propuesta de una posible solución.
- Coutinho, E. F., Jorge, R. O., Haerter, J. A., Costa, V. B. 2015. Oliveira : aspectos técnicos e cultivo no Sul do Brasil. Brasília, DF : Embrapa.
- De Liñán Vicente, C., & de Liñán Carral, C. 1999. Vademecum de *productos* fitosanitarios y nutricionales. Ediciones agrotécnicas.
- Gobbato, C. 1945. Cultura da oliveira e noções sobre a industrialização das azeitonas. Porto Alegre: Intermedio. 118 p.
- Goidànich, G. 1959. Manuale di patologia vegetale-v. 1-4.
- Gómez-Escalonilla, M. S. Vidal, J. H. 2006. Variedades del olivar -- Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, D.L.
- Jiménez-Díaz, R. M., Cirulli, M., Bubici, G., Jiménez-Gasco, M. M., Antoniou, P. P., Tjamos, E. C. 2012. *Verticillium* wilt, a major threat to olive production: current status and future prospects for its management. Plant Disease 96: 304-329.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W. Stalpers, J. A. 2008. Dictionary of the Fungi, 10th edition. CAB International, Wallingford (R.U.).
- Lević, J. T., Petrović, T. M., Stanković, S. Ž., & Ivanović, D. M. 2013. The incidence of *Pyrenochaeta terrestris* in root of different plant species in Serbia. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, (125), 21-30.
- López-Escudero, F. J., Núñez-Santos, D., Blanco-López, M. A. 2003. Aislamiento de *Verticillium dahliae* de suelo y caracterización morfológica de sus microesclerocios. Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas, 29: 613-626.

- Melgarejo, P., García-Jiménez, J., Jordá, M. C., López, M. M., Andrés, M. F., & Duran-Vila, N. 2010. Patógenos de plantas descritos en España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid, Spain.
- Molina de la Rosa, J. L., Jiménez Herrera, B., Ruiz Coletto, F., García Zamorano, F., Cano Rodríguez, J., & Pérez García, J. (2004). Técnicas de cultivo: Plagas y enfermedades del olivo. Viceconsejería, Servicio de Publicaciones y Divulgación, eds. Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura y Pesca, Sevilla, Spain.
- Moral, J., Ávila, A., López-Doncel, L. M., Alsalimiya, M., Oliveira, R., Gutiérrez, F., Navarro, N., Bouhmidí, K., Benali, A., Roca, L., Trapero, A. 2005. Resistencia a los Repilos de distintas variedades de olivo. Vida Rural 208, 34–40.
- Moral, J., Alsalimiya, M., Muñoz-Díez, C., León, L., de la Rosa, R., Trapero, A. 2006. Evaluación de preselecciones de olivo por su resistencia a Repilo y Antracnosis. Act. Hort. 45, 177–178.
- Moral, J., De la Rosa, R., León, L., Barranco, D., Michailides, T. J., & Trapero, A. 2008. High susceptibility of olive cultivar FS-17 to *Alternaria alternata* in Southern Spain. Plant Disease, 92(8), 1252-1252.
- Moral, J., Muñoz-Díez, C., González, N., Trapero, A., Michailides, T. J. 2010. Characterization and pathogenicity of *Botryosphaeriaceae* species collected from olive and other hosts in Spain and California. Phytopathology 100:1340-1351.
- Moral, J., Trapero, A. 2012. Mummified fruit as a source of inoculum and disease dynamics of olive anthracnose caused by *Colletotrichum* spp. Phytopathology 102:982-989.
- Nigro, F., & Ippolito, A. 2000. Occurrence of new rots of olive drupes in Apulia. In IV International Symposium on Olive Growing 586 (pp. 777-780).

- Oliveira, R. 2003. Etiología y control químico de la Aceituna Jabonosa causada por *Colletotrichum* spp. Tesis doctoral, ETSIAM, Universidad de Córdoba. 260 pp.
- Oliveira, R., Moral, J., Bouhmidj, K., & Trapero, A. 2005. Caracterización morfológica y cultural de aislados de *Colletotrichum* spp. causantes de la Antracnosis del olivo. *Bol. San. Veg. Plagas*, 31, 531-548.
- Pérez, M., Layosa, J. A., Rhouma, A., Vergara, A., Moral, J., Trapero, A. 2010. Etiología y resistencia varietal del chancro y desecación de ramas del olivo. XV Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Septiembre-octubre 2010.
- Romero, M. A., Sánchez, M. E., Trapero, A. 2005. First report of *Botryosphaeria ribis* as a branch dieback pathogen of olive trees in Spain. *Plant Disease* 89, 208.
- Romero, J., Raya, M. C., Roca, L. F., Moral, J., Trapero, A. 2015. La lepra del olivo, una enfermedad emergente. Síntomas de la enfermedad, agente causal y métodos de control. *Vida Rural*.
- Ruggiero, M. A., Gordon, D. P., Orrell, T. M., Bailly, N., Bourgoin, T., Brusca, R. C., ... & Kirk, P. M. 2015. A higher level classification of all living organisms. *PloS one*, 10(4), e0119248.
- Rumbos, I. C. 1988. *Cytospora oleina* causing canker and dieback of olive in Greece. *Plant pathology*, 37(3), 441-444.
- Salas, J., Pastor, M., Castro, J., Vega, V. 1997. Influencia del riego sobre la composición y características del aceite de oliva. Vol. 48. Fase. 2 (1997), 74-82.
- Spielman, L. J. 1985. A monograph of Valsa on hardwoods in North America. *Can. J. Bot.* 63: 1355-1378.
- Töfoli, J. G., Domingues, R. J. Ferrari, J. T. E.M.C. 2013. *Nogueira Biológico*, São Paulo, v.75, n.1, p.53-61, jan./jun.

- Úrbez-Torres, J. R., Peduto, F., Vossen, P. M., Krueger, W. H., and Gubler, W. D. 2013. Olive twig and branch dieback: Etiology, incidence, and distribution in California. *Plant Dis.* 97:231-244.
- Veiga, C. M. 2009. A epopéia do azeite: viagem ao mundo do azeite através do olhar atento de um historiador. *Revista da Casa do Azeite*, Rio de Janeiro, p. 70-79.
- Woudenberg, J. H. C., Aveskamp, M. M., De Gruyter, J., Spiers, A. G., & Crous, P. W. 2009. Multiple *Didymella* teleomorphs are linked to the *Phoma clematidina* morphotype. *Persoonia*, 22, 56.

Diámetro (mm) - t=0

9. ANEXOS

	<i>Cytospora sp.</i>	<i>Phlyctema vagabunda</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Phaemoniella chlamydospora</i>	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	Control
1	4,31	4,14	6,1	5,16	4,51	5,64	5,07
2	3,4	3,97	6,44	6,46	4,76	6,91	5,33
3	5,22	4,42	3,8	4,08	4,88	4,39	6,29
4	6,35	3,83	5,76	4,48	4,88	5,73	4,96
5	3,4	7,37	4,9	5,13	4,39	3,68	6,1
6	3,57	6,15	5,47	7,43	4,71	5,73	4,9
7	4,73	4,11	4,51	6,44	7,15	6,52	6,52
8	4,22	4,56	4,51	4,34	5,59	4,45	4,96
9	3,77	5,16	5,44	5,24	5,3	5,76	5,36
10	4,76	5,07	3,71	5,16	5,95	3,66	5,1
11	4,73	3,23	6,29	5,16	7,2	7	5,41
12	7,12	4,82	5,78	4,65	5,67	6,46	3,83
13	5,3	5,44	5,33	5,81	6,04	3,68	4,73
14	7,86	5,95	4,82	6,49	5,67	5,5	6,89
15	5,07	5,81	7,03	5,13	5,1	5,22	7,51
16	5,56	4,42	5,1	4,93	7,09	4,17	4,79
17	5,59	4,71	6,27	4,56	4,14	6,58	4,19
18	5,1	6,92	4,45	5,64	5,07	4,39	4,48
19	4,22	5,5	5,22	6,24	5,19	7,46	4,34
20	4,17	6,72	3,94	5,53	4,31	5,59	7,15
21	3,8	4,28	4,39	5,64	5,5	5,67	6,46
22	6,38	4,48	3,32	6,04	4,99	6,46	7,4
23	8,31	4,05	4,02	6,81	5,27	7,8	5,16
24	5,67	4,34	6,72	5,59	3,6	4,88	4,51
25	5,9	4,96	4,17	4,73	6,27	6,21	7,17
26	4,96	5,64	4,82	5,19	4,45	5,9	4,39
27	5,81	6,78	3,03	4,9	1,92	3,88	6,55
28	4,76	5,39	5,36	3,68	5,44	5,98	3,63
29	9,42	6,69	4,22	6,35	5,81	6,04	4,82
30	5,44	5,53	4,48	5,53	5,67	4,73	4,19
31	5,02	7,51	4,11	7,23	5,22	6,29	5,67
32	6,83	5,98	5,02	6,18	6,29	5,61	5,24
33	5,67	5,78	4,39	5,56	7,06	6,04	4,96
34	5,44	5,93	4,08	5,59	4,54	6,21	6,55
35	4,93	5,07	4,71	5,61	4,82	5,5	5,19
Medias	5,336857	5,277429	4,906	5,505429	5,27	5,592	5,422857

	<i>Cytospora sp.</i>	<i>Phlyctema vagabunda</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Phaemoniella chlamydospora</i>	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	Control
1	3,78	3,47	5,54	4,82	4,5	6,52	5,1
2	6,15	4,75	5,76	6,44	4,79	7,91	5,7
3	5,55	4,02	3,54	5,22	5,07	5,5	7,12
4	6,27	3,7	4,86	3,83	4,73	5,41	5,33
5	4,21	6,48	4,7	5,16	4,62	4,14	8,34
6	4,11	6,22	5,56	6,83	5,13	5,78	4,96
7	5,74	4,82	4,72	7,26	7,88	6,98	6,75
8	3,46	4,21	5,35	4,05	5,39	4,25	5,5
9	3,74	5,15	4,64	5,22	4,79	6,18	5,61
10	5,09	4,52	4,26	5,33	5,64	3,91	5,39
11	5,11	3,23	5,19	5,53	8,28	7,17	6,98
12	6,12	4,15	5,49	5,02	5,47	6,41	4,11
13	5	4,67	5,15	5,98	4,17	7,23	4,93
14	6,12	5,67	4,73	6,21	6,01	5,87	7,17
15	5,24	6,6	4,23	4,82	5,24	5,53	8,28
16	4,53	4,42	4,92	4,25	7,54	4,22	7,71
17	4,82	4,33	5,67	4,54	3,8	6,86	3,85
18	3,83	6,63	4,76	5,22	4,71	4,99	4,9
19	4,16	5,3	5,37	6,83	5,02	7,97	4,56
20	3,53	5,75	3,75	5,13	4,45	6,35	7,46
21	3,36	4,79	5,04	5,5	5,67	7,06	6,92
22	5,3	3,81	3,35	6,1	5,3	6,27	7,71
23	7,52	4,25	3,24	6,86	4,56	8,25	5,41
24	4,8	3,79	6,18	5,61	3,77	5,19	5,39
25	4,95	5,06	4,46	4,62	6,41	5,67	8,37
26	3,97	5,5	3,34	4,65	4,71	6,98	4,37
27	4,86	6,09	3,14	4,88	3	4,11	7,54
28	3,5	4,52	5,11	3,34	5,1	6,32	4,14
29	7,92	6,12	4,32	6,21	5,61	6,66	5,16
30	5,26	5,3	4,69	4,82	5,95	4,39	5,02
31	4,27	6,72	4,29	7,12	5,22	6,44	6,15
32	5,81	5,61	4,53	5,5	7,54	5,7	5,84
33	5,27	5,49	5,06	5,78	6,78	6,12	5,61
34	4,94	5,9	3,9	4,73	4,17	6,44	7,86
35	4,7	4,78	4,81	5,41	4,99	6,38	5,84
Medias	4,942571429	5,023428571	4,675714286	5,394857143	5,314571429	6,033142857	6,030857

Diámetro (mm) - t=20

	<i>Cytospora sp.</i>	<i>Phlyctema vagabunda</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Phaemoniella chlamydospora</i>	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	Control
1	3,78	3,79	5,41	4,3	7,15	6,1	5
2	5,97	3,74	5,71	4,58	4,65	6,8	5,28
3	5,24	4,12	3,73	3,82	5,76	4,2	6,17
4	6,3	3,66	4,98	4,17	4,68	5,1	4,46
5	3,72	6,68	4,42	4,58	4,39	3,7	7,3
6	3,68	5,88	5,15	6,04	4,79	6,5	4,81
7	5,41	4,05	4,28	5,5	7,97	6	6,36
8	3,19	4,55	4,29	3,88	3,83	3,8	5,12
9	3,18	4,79	4,18	4,8	4,76	6	5,69
10	5,09	4,54	2,79	4,29	4,76	3,5	5,43
11	4,45	2,88	5,25	5,1	7,88	6,5	3,34
12	5,75	4,43	5,49	4,36	3,54	5,6	3,85
13	4,49	4,65	5,01	5,1	5,44	3,6	5,02
14	5,74	5,7	4,45	5,6	5,81	5,7	6,89
15	4,89	6,23	4,95	4,9	5,05	4,5	7,77
16	4,59	4,02	4,65	4,4	7	3,9	4,78
17	4,42	3,83	5,5	3,95	3,63	6,6	3,9
18	3,82	6,56	4,33	5,13	4,28	3,9	4,27
19	3,58	4,99	5	6,2	4,37	7,1	4,32
20	3,26	5,9	2,91	4,91	4,25	5,7	7,37
21	2,8	4,11	4,81	5,2	5,78	5,1	6,35
22	4,92	3,61	2,93	5,77	5,44	5,7	7,2
23	7,3	3,9	2,94	5,9	5,76	7,1	5,27
24	4,91	3,76	6,05	4,97	3,66	4,9	5,11
25	4,91	5,62	4,45	4,6	5,67	5,1	7,25
26	3,96	4,7	3,25	4,4	4,54	6,4	4,37
27	4,49	6,13	2,93	4,73	3	3,6	7,22
28	3,54	4,49	4,95	3,69	5,19	4,9	3,68
29	6,65	5,97	3,77	5,9	5,81	5,8	4,37
30	4,3	5,1	4,46	4,43	5,95	3,7	4,26
31	3,66	6,9	3,81	6,3	4,93	5,8	5,52
32	5,45	5,35	4,26	5,7	7,29	5,7	4,48
33	4,48	5,15	3,76	5,2	6,69	5,4	5,3
34	4,77	5,19	3,88	4,95	4,68	5,4	7,24
35	4,85	4,67	4,47	5,41	4,99	5,7	5,28
Medias	4,615429	4,846857	4,377142857	4,936	5,239142857	5,288571429	5,429429

	<i>Cytospora sp.</i>	<i>Phlyctema vagabunda</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Phaemoniella chlamydospora</i>	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	Control
1	4,33	3,5	5,2	4,49	6,74	5,91	4,38
2	5,7	3,99	5,51	6,28	4,35	6,53	4,56
3	4,8	3,92	3,15	3,7	4,59	3,86	5,95
4	6,04	3,53	4,49	4,33	4,45	5,01	4,56
5	3,47	6,13	4,35	4,76	3,92	3,5	6,01
6	3,2	5,74	5,01	6,2	4,75	5,18	4,54
7	5,38	3,91	4,08	6,02	7,11	6	5,8
8	2,93	4,49	3,52	3,95	4,64	4,06	4,73
9	3,34	5,26	4,14	4,85	4,26	5,81	4,97
10	3,97	4,28	2,97	4,65	4,92	3,51	4,9
11	4,34	2,86	4,89	5,13	7,1	6,32	5,84
12	5,22	4,12	5,04	4,32	4,86	5,87	3,73
13	4,03	4,44	4,69	5,05	5,1	3,79	4,21
14	5,93	5,8	4,51	5,63	5,31	5,22	6,47
15	4,5	6,23	5,01	5	4,66	4,61	6,82
16	4,11	3,96	4,39	4,5	6,86	3,99	4,24
17	4,07	3,84	5,19	5,4	3,47	6,59	3,35
18	3,35	6,45	4,18	4,04	4,16	4,05	4,01
19	3,12	4,77	4,92	5,35	4,43	6,86	4,04
20	2,9	5,61	2,93	6,6	4,22	5,62	6,62
21	2,67	3,96	4,35	4,87	5,4	6,42	6,13
22	5,23	3,83	2,46	5,45	4,39	5,66	6,81
23	7,03	3,79	2,75	5,77	4,78	7,1	5,2
24	4,49	3,71	5,85	6,25	4,02	4,54	4,64
25	5,08	5,84	3,93	5,09	5,09	5,43	6,7
26	2,62	5,08	3,05	4,34	4,2	5,86	3,82
27	4,4	5,95	2,76	4,66	3,9	3,96	6,28
28	2,65	4,37	4,41	4,89	4,75	5,23	3,7
29	6,44	5,88	3,53	3,46	5,42	5,57	4,14
30	3,55	4,88	4,14	5,64	5,42	3,77	3,94
31	3,9	6,8	3,36	4,47	6,67	5,55	4,33
32	5,34	5,34	4,12	6,3	6,12	5,13	5,26
33	3,79	5,11	3,61	5,06	6,09	5,41	5,1
34	4,37	5,08	3,17	5,16	3,96	5,47	7,04
35	4,12	4,69	4,39	4,86	4,4	5,24	4,97
Medias	4,297429	4,775429	4,115714286	5,043428571	4,986	5,218	5,079714
							Control

	<i>Cytospora sp.</i>	<i>Phlyctema vagabunda</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Phaemoniella chlamydospora</i>	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	
1	4,43	3,75	4,97	4,34	6,55	5,79	4,66
2	5,79	4,04	5,51	5,97	3,69	6,6	4,79
3	4,9	4,2	3,61	3,63	4,85	3,92	5,81
4	5,77	3,43	4,93	4,47	4,36	5	4,34
5	3,68	6,06	3,84	4,51	3,87	3,46	6,08
6	3,26	5,8	5,4	6,46	4,19	4,94	4,69
7	5,14	3,92	3,79	5,4	7,17	5,88	5,51
8	3,05	4,87	3,59	3,71	4,65	3,84	4,76
9	3,12	5,03	4,15	4,81	4,28	5,5	4,74
10	3,9	4,59	2,62	4,69	4,57	3,21	4,43
11	4,54	3,18	4,61	5,28	6,81	6,17	6,11
12	5,39	4,8	5,5	4,21	4,79	6,13	3,6
13	4,5	4,44	4,79	5,1	4,34	3,7	4,61
14	5,8	5,75	4,5	5,02	5,17	5,15	6,46
15	4,55	6,53	4,78	4,81	4,48	4,57	6,94
16	3,95	3,78	4,45	4,52	7,13	4,11	4,94
17	3,39	3,73	5,33	3,83	2,95	5,88	3,31
18	3,47	6,61	4,15	5,02	3,92	3,97	3,85
19	3	4,94	4,87	6,04	4,04	6,94	4,01
20	2,76	5,77	3,12	4,73	3,97	5,38	6,79
21	2,46	4,26	4,43	5,63	4,9	6,27	6,2
22	4,43	3,81	3,3	5,67	4,54	5,84	6,42
23	7,27	3,77	2,99	6,17	4,68	7,07	4,98
24	4,43	3,43	5,57	5,32	3,84	4,51	5,19
25	4	4,92	4,33	4,45	4,94	5,82	7,24
26	6,61	5,38	3,16	4,46	3,94	5,74	3,94
27	3,96	5,94	2,79	4,63	4,01	3,74	6,44
28	3,11	4,47	4,97	6,32	4,55	5,27	3,6
29	7,3	5,64	4,07	5,78	5,14	5,76	4,37
30	3,47	4,94	4,48	4,41	5,59	4,14	3,99
31	3,83	6,68	3,43	6,29	4,64	6,02	5,19
32	5,26	5,5	4,4	5,29	5,94	4,81	5,25
33	4,2	5,12	3,61	4,96	6,03	5,18	5,23
34	4,23	4,88	3,25	4,68	3,54	5,45	6,94
35	4,07	4,73	4,48	4,7	4,15	5,3	5,29
Medias	4,372	4,819714	4,222	5,008857143	4,748857143	5,173142857	5,162857

Longitud (mm) - t=0

	<i>Cytospora sp.</i>	<i>Phlyctema vagabunda</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Phaemoniella chlamydospora</i>	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	Control
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0	0
33	0	0	0	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0	0
Medias	0	0	0	0	0	0	0

Longitud (mm) - t=10

	<i>Cytospora sp.</i>	<i>Phlyctema vagabunda</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Phaemoniella chlamydospora</i>	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	Control
1	40	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0
3	60	0	0	0	0	0	0
4	70	0	0	30	40	0	0
5	0	0	0	50	0	0	0
6	50	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	40	0	0
8	30	0	0	30	0	0	0
9	50	0	0	0	40	0	0
10	0	0	0	30	40	0	0
11	50	0	30	30	0	30	0
12	50	0	0	30	0	30	0
13	0	0	0	0	0	0	0
14	40	0	0	40	0	0	0
15	0	0	0	0	0	30	0
16	40	0	0	0	0	0	0
17	40	0	0	0	45	0	0
18	50	0	0	45	0	0	0
19	50	0	0	0	50	0	0
20	45	0	0	40	0	0	0
21	30	0	0	40	0	0	0
22	30	0	30	0	0	30	0
23	0	0	30	0	30	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0
25	40	0	0	0	0	0	0
26	60	0	30	30	0	0	0
27	60	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	30	30	0
29	35	0	0	0	30	30	0
30	0	0	0	30	0	0	0
31	50	0	42	0	30	0	0
32	40	0	0	45	0	0	0
33	40	0	0	0	30	0	0
34	0	0	0	40	0	0	0
35	0	0	0	35	0	0	0
Medias	30	0	4,628571429	15,57142857	11,57142857	5,142857143	0

Longitud (mm) -t=20

	<i>Cytospora sp.</i>	<i>Phlyctema vagabunda</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Colletotrichum sp</i>	<i>Phaemoniella chlamydospora</i>	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	Control
1	40	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0
3	70	0	0	0	0	0	0
4	80	0	0	40	0	0	0
5	0	0	0	50	0	0	0
6	53	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	40	0	0
8	40	0	0	30	0	30	0
9	60	0	0	0	0	0	0
10	40	0	0	30	40	0	0
11	0	0	30	30	0	0	0
12	70	0	0	70	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0
14	40	0	0	50	0	30	0
15	0	0	0	0	0	0	0
16	55	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	45	0	0
18	60	0	0	110	0	30	0
19	70	0	0	0	50	0	0
20	60	50	0	40	0	0	0
21	60	0	0	40	0	0	0
22	35	0	30	0	0	40	0
23	0	0	30	0	30	30	0
24	0	0	0	0	0	0	0
25	50	0	0	0	0	0	0
26	70	0	0	0	0	0	0
27	80	0	0	0	0	0	0
28	30	0	0	50	0	0	0
29	45	0	0	0	0	30	0
30	30	0	0	30	0	30	0
31	70	0	50	0	30	0	0
32	50	0	0	50	0	0	0
33	55	0	0	0	0	0	0
34	0	0	50	40	0	30	0
35	0	0	0	0	0	0	0
Medias	37,51429	1,428571	5,428571	18,85714	6,714286	7,142857143	0

Longitud (mm) - t=30

	<i>Cytospora sp.</i>	<i>Phlyctema vagabunda</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Phaemoniella chlamydospora</i>	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	Control
1	40	20	0	0	0	0	0
2	0	50	0	20	0	0	0
3	60	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	60	0	0	0
5	0	20	0	30	0	0	0
6	60	0	0	40	0	20	0
7	30	0	20	0	40	0	0
8	50	0	30	0	0	0	0
9	70	0	0	0	0	20	0
10	0	0	30	30	0	50	0
11	0	0	0	20	0	0	0
12	0	30	45	0	0	0	0
13	20	120	0	0	0	0	0
14	40	0	0	30	0	20	0
15	30	0	0	0	30	0	0
16	53	50	0	30	0	0	0
17	0	0	0	40	50	0	0
18	60	0	0	70	0	50	0
19	70	0	0	0	0	0	0
20	90	0	0	0	0	0	0
21	0	53	0	0	0	0	0
22	60	0	0	0	0	40	0
23	0	25	0	20	0	20	0
24	70	0	0	0	0	0	0
25	60	0	0	0	0	0	0
26	70	0	0	0	0	0	0
27	83	0	0	0	20	0	0
28	75	0	0	0	30	0	0
29	50	20	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0
31	90	0	90	40	0	0	0
32	30	0	0	0	0	0	0
33	70	0	0	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0	0
35	30	0	0	30	0	0	0
Medias	38,88571	11,08571	6,142857	13,14286	4,857143	6,285714286	0

Longitud (mm) - t=40

	<i>Cytospora sp.</i>	<i>Phlyctema vagabunda</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Phaemoniella chlamydospora</i>	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	Control
1	40	20	0	0	0	0	0
2	0	50	0	40	0	0	0
3	110	0	15	0	40	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0
5	0	30	0	130	0	0	0
6	130	0	0	110	0	20	0
7	30	0	30	0	50	0	0
8	50	0	80	0	0	0	0
9	70	0	0	0	0	25	0
10	0	0	0	65	50	70	0
11	0	0	0	40	0	0	0
12	0	30	40	0	0	0	0
13	42	120	0	0	0	0	0
14	40	0	0	80	0	20	0
15	45	0	0	0	30	0	0
16	55	120	0	50	0	0	0
17	0	0	0	40	70	0	0
18	60	0	0	170	0	120	0
19	80	0	0	0	0	0	0
20	90	0	0	0	0	0	0
21	0	60	0	0	0	0	0
22	60	0	0	0	0	90	0
23	0	30	0	30	0	110	0
24	70	20	0	0	0	0	0
25	90	0	20	0	0	0	0
26	70	0	0	0	0	0	0
27	90	0	0	0	0	0	0
28	80	0	0	90	30	0	0
29	50	30	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0
31	90	0	90	60	40	0	0
32	30	0	0	0	0	0	0
33	70	0	0	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0	110	0
35	30	0	0	30	0	0	0
Medias	44,91429	14,57143	7,857142857	26,71428571	8,857142857	16,14285714	0

Longitud interna (mm) - t=40

	<i>Cytospora sp.</i>	<i>Phlyctema vagabunda</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Phaemoniella chlamydospora</i>	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	Control
1	50	70	0	30	0	0	0
2	40	40	40	60	140	0	0
3	110	40	20	0	110	0	0
4	50	90	0	140	0	0	0
5	30	140	0	140	70	0	0
6	80	60	0	160	0	70	0
7	50	0	0	100	110	70	0
8	50	0	140	30	0	0	0
9	80	0	0	0	0	0	0
10	70	60	0	100	140	120	0
11	50	60	0	130	0	0	0
12	50	0	0	20	0	0	0
13	80	0	0	0	0	0	0
14	80	150	0	140	0	120	0
15	80	0	0	0	60	0	0
16	110	0	0	0	0	140	0
17	0	40	0	130	130	0	0
18	70	0	0	0	0	50	0
19	90	0	0	0	0	50	0
20	90	0	0	30	0	0	0
21	60	0	0	40	0	60	0
22	60	110	130	0	0	40	0
23	30	0	20	30	0	60	0
24	0	110	0	20	0	0	0
25	110	0	60	0	0	0	0
26	110	0	0	40	0	0	0
27	90	0	0	0	0	80	0
28	110	0	0	20	0	0	0
29	0	130	110	30	0	0	0
30	40	90	90	0	0	0	0
31	120	0	0	0	0	0	0
32	0	0	150	0	0	0	0
33	0	50	40	50	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0	0
35	0	30	0	0	0	0	0
Medias	58,3	36,3	22,9	41,1	21,7	24,6	0,0