



**Universitat de les
Illes Balears**

GRAU EN ENGINYERIA AGROALIMENTÀRIA I DEL MEDI RURAL

**PATOGENICITAT DE FONGS DE FUSTA ASSOCIATS AL
DECAÏMENT D'ÀMETLLERS A MALLORCA**

Projecte Final de Grau

Alumne: Josep Móra Serra

Tutors: Diego Olmo García i Andreu Juan Serra

Setembre 2014

PATOGENICITAT DE FONGS DE FUSTA ASSOCIATS AL DECAÏMENT D'AMETLLERS A MALLORCA

RESUM

L'ametller ha esdevingut un cultiu transcendental a la agricultura mallorquina, citat el seu cultiu des del segle XV, arribà el seu esplendor en el segle XIX com a substitut de les plantacions de vinya afectades per la fil·loxera. El preu de l'ametlla en les dues darreres dècades ha motivat l'abandonament del seu cultiu, situació que s'ha intentat pal·liar amb diversos plans de millora i introducció de noves varietats.

L'any 2008, i amb un focus inicial localitzat a Son Carrió (Sant Llorenç des Cardassar), es donaren els primers avisos de mort i decaïment d'exemplars d'ametller, situació primerament atribuïda a sequera i manca de labors. El Laboratori de Sanitat Vegetal, mitjançant una sèrie de prospeccions aconseguir aïllar i identificar una quinzena de fongs de fusta, alguns dels citats com a patògens encara que a altres espècies hoste.

De la necessitat de relacionar els aïllaments fúngics amb els símptomes observats als arbres que presenten necrosis vasculars, assecaments de branques senceres i fins i tot morts es realitzà aquest estudi on plantejarem les següents preguntes: comprovar la patogenicitat de *Neofusicoccum australe*, *Neofusicoccum luteum*, *Neofusicoccum mediterraneum*, *Neofusicoccum parvum*, *Diplodia olivarum*, *Diplodia seriata*, *Eutypa lata*, *Eutypa leptoplaca* a ametller, avaluar el grau de virulència de cada fong i avaluar també l'efecte varietat a la patogenicitat i virulència dels fongs citats.

L'assaig s'inicia amb la plantació de 500 ametllers i la seva inoculació amb el diferents fongs. Així, al final del cicle del cultiu es varen poder obtenir mesures dels xancres causats a cada arbre.

Els resultats obtinguts han demostrat que hi ha diferències significatives per a cada fong i varietat, és a dir, no podem concloure que una varietat sigui

resistent a tota la miscel·lània de fongs a la que han estat esposades. No podem considerar patògens els fongs *E. Leptoplaca* i *D. olivarum* quan han estat inoculats a les varietats Pons i Jordi. Els fongs amb més virulència han estat els de gènere *Neofussicoccum* a totes les varietats i al contrari, els menys virulents han estat *D. olivarum* i *E. leptoplaca*.

AGRAÏMENTS

Vull donar el meu reconeixement a les persones que han participat en aquesta petita fita, però molt important port dins la llarga travessia cap a Ítaca.

- A qui sempre hem va saber parlar, al meu pare, Pep.
- A na Martina, la meva mare, qui hem dona suport en els moments de desànim.
- Al professorat de la UIB, sobretot a aquells que gaudeixen ensenyant.
- Als pagesos i propietaris de finques que han facilitat les prospeccions, concedint-nos el plaer de visitar els seus ametllers.
- A Semilla, per destinar fons a la sembra dels ametllers.
- A la Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori, per la infraestructura utilitzada.
- Als meus companys de carrera, principalment Josep, Joan Tomàs, Lluç, David, Rubén, Maria de Lluhc i Maite.
- A Alicia Nieto, per el seu treball en el Laboratori de Sanitat Vegetal, ha col·laborat de forma imprescindible en el maneig dels aïllats fúngics en laboratori entre moltes altres tasques.
- A Bernat Canyelles per la seva col·laboració i orientació a l'hora de la plantació dels ametllers.
- Al Dr. Josep Armengol, Universitat Politècnica de Valencia per la seva tasca d'identificació dels aïllats fúngics.
- Al Dr. David Gramaje, per la seva col·laboració en l'anàlisi estadístic de les dades obtingudes.
- Als meus tutors, Andreu Juan Serra i Diego Olmo, pels consells, ànims, correccions, aportacions. Tasca generosa i desinteressada, on han demostrat a més de la seva professionalitat una gran qualitat humana.

INDEX

1	Introducció	11
1.1	L'ametller, origen	11
1.2	L'ametller a Mallorca, importància i dades econòmiques	12
1.2.1	Dades econòmiques	13
1.3	Cultiu amb futur	16
1.4	Plagues i malalties dels ametllers	17
1.4.1	Plagues	18
1.4.2	Malalties	18
1.5	L'asseccament de l'ametller: Problemàtica i situació	19
1.6	Malalties causades per fongs de fusta	22
2	Objectius	28
3	Material i mètodes	30
3.1	Disseny experimental	30
3.2	Preparació del terreny i cultiu	31
3.3	Material vegetal	32
3.3.1	Ferragnes	32
3.3.2	Jordi	32
3.3.3	Pons	32
3.3.4	Vivot	33
3.4	Aïllats fúngics	33
3.4.1	<i>Eutypa lata</i> i <i>Eutypa leptoplaca</i>	33
3.4.2	Botryosphaeraceae	34
3.5	Inoculació	35
3.6	Seguiment dels símptomes	36

3.7	Mesures dels xancres	37
3.8	Reaïllament dels fongs inoculats.....	38
4	Resultats i discussió	40
4.1	Anàlisi de dades	40
4.2	Resultats	40
4.3	Discussió.....	45
5	Conclusions.....	49
6	Bibliografia	51

INDEX DE TAULES

Taula 1 ñ Superfície i producció d'ametlla per comunitats autònomes.	-16-
Taula 2 ñ Relació entre la superfície total del cultiu.	- 16-
Taula 3 ñ Superfície , producció i preu de l'ametlla a Balears.	- 18-
Taula 4 ñ Espècies fúngiques aïllades a les prospeccions.	- 22-
Taula 5 ñ Fongs de fusta aïllats de <i>Prunus</i> spp. arreu del món.	- 26-
Taula 6 - Espècies fúngiques inoculades a l'assaig.	- 35 -
Taula 7 ñ Mitjana de longitud (cm) les necrosis internes.	- 42-
Taula 8 - Anàlisis HDS Tukey.	- 45-

INDEX DE FIGURES

Figura 1 ñ Percentatge de producció d'ametlla per països.	- 15 -
Figures 2 i 3 - Aspecte general de ametllers afectats.	- 21-
Figures 4 a 9 ñ Necrosis sectorials i puntejadures.	- 21-
Figura 10 ñ Vista general de la parcel·la experimental.	- 32 -
Figures 11 a 14 ñ Detall del procés de inoculació.	-36-
Figura 15 ñ Seguiment quinzenal de evolució de danys.	- 37-
Figura 16 ñ Composició realitzada a partir del símptomes.	- 38-
Figures 17 i 18 ñ Necrosis internes provocades per <i>N. parvum</i> .	-39 -
Figures 19 a 22 ñ Gràfics amb les mesures de les necrosis.	- 44-
Figura 23 - Gràfic amb mesures logarítmiques de la lesió.	- 44-
Figura 24 - Representació gràfica de la aparició de símptomes.	- 46-

1. INTRODUCCIÓ

1 INTRODUCCIÓ

1.1 L'ametller, origen.

L'ametller cultivat pertany a la família Rosaceae i es pot trobar a la bibliografia amb distints noms: *Prunus dulcis*, *Prunus amygdalus*, *Prunus communis*. A 1964, degut a les controvèrsies existents en quant al nom, el Comitè General de Nomenclatura Botànica, proposà per a l'ametller cultivat dolç el nom científic *P. dulcis* (Miller) D. A. Webb, ara bé, acceptant com a sinònims *P. amygdalus* y *P. communis* (Felipe, 2000).

És un arbre caducifoli, amb fulles lanceolades i color verd brillant. Les gemmes fructíferes es situen tant a branca mixta com a rams de maig. Les flors son hermafrodites, en la majoria dels casos autoincompatibles amb pètals blancs a rosacis. Ho diferenciem dels fruiters d'os ja que el mesocarpi es poc desenvolupat, pubescent i no comestible. Dins l'endocarpi lignificat, hi trobem la llavor, la part comestible i per tant d'interès. Dins la tipologia de llavor podem fer varies distincions: dolces o amargues, i dins les anomenades dolces, segons el nivell de lignificació de l'endocarpi, trobem clovelles dures, semidures i fluixes o mollars (Agustí, 2004).

El seu origen el situem a les regions muntanyoses d'Àsia Central. L'estudi dels ancestres per botànics russos de la primera meitat del segle XX, considerà que l'ametller cultivat tenia el seu origen en el creuament de *P. fenzilana*, *P. bucharica* i *P. kumarica*. (Grasselly y Crossa-Raynaud, 1984). Un altre possible origen es la domesticació de *P. communis*, donades les similituds entre aquesta espècie i les formes cultivades (Kester *et al.*, 1990; Felipe, 2000).

1.2 L'ametller a Mallorca, importància i dades econòmiques.

Del cultiu de l'ametller a Mallorca, podem citar algunes de les dades publicades a la revisió bibliogràfica de Rallo y Sacarés (1997), *La història de l'ametller a Mallorca mitjançant la bibliografia*. Segons els autors, les primeres dades sobre els ametllers a Mallorca es podrien situar a voltant d'uns 400 aC., ja que es trobaren restes d'ametlla a naufragis, fet que no implica el seu cultiu però sí el seu coneixement i utilització de l'ametlla.

Possiblement el cultiu de l'ametller fou introduït pels romans, encara que no apareixen plantacions documentades fins al segle XV. Ja en el segle XIX, degut a la problemàtica amb la fil·loxera que provocà la desaparició de 30.000 ha de vinya i la seva necessària substitució per un cultiu alternatiu, es sembraren ametllers de forma important (Rubí, 1980).

A la dècada de 1920 l'ametller arribà al seu esplendor, Mallorca esdevé capdavantera en investigació i experimentació (Rubí, 1980), important emissor de tecnologia i tècniques de cultiu a la resta d'Espanya (Rallo i Sacarés, 1997). A Mallorca la superfície del cultiu augmentava, a més les condicions climàtiques eren excel·lents i la demanda creixent.

La decadència s'inicia a la segona meitat del segle XX, quan Mallorca perd la posició capdavantera tant en superfície com en producció (Rubí, 1980). La irrupció del turisme encareix la mà d'obra, i l'activitat agrícola deixar de ser un negoci on invertir. La problemàtica de l'ametller es resumeix en 6 punts, segons Rubí (1980):

1. Edat avançada dels arbres.
2. Plantacions a terrenys poc favorables per aquest cultiu.
3. Manca d'adob i laboreig.
4. Manca de podes.
5. Plagues i malalties sense tractar.
6. Gran nombre de varietats i poca uniformitat del fruit

Malgrat aquesta decadència, l'ametlla continuà essent uns dels productes més importants de Mallorca, prova d'això són les publicacions de Palazón (1968, 1970) i la de Pons i Simonet (1970), entre d'altres obres, desenvolupades a partir d'estudis de varietats locals i plans de reestructuració.

Ja al l'any 1992, gràcies als plans de millora i ajuts que provenien de la Política Agrària Comú, foren substituïdes plantacions de varietats locals amb més de 25 anys, per noves varietats amb millors característiques productives i comercials, també degut a la manca de disponibilitat de varietats locals en els vivers de l'illa. Fet que contribuï a la pèrdua d'algunes varietats locals. Una de les noves varietats incorporades amb els plans de millora fou la varietat obtinguda a l'INRA francès, la Ferragnes, encara que amb el pas dels anys i suposadament per l'augment d'onòcul en el camp, ha esdevingut extremadament sensible a *Phomopsis amygdali* (Delacr.) J.J. Tuset & M.T. Portilla (Tuset y Portilla, 2000). Aquest fet ha contribuït a que aquesta varietat es trobi actualment en regressió.

1.2.1 Dades econòmiques

Segons l'anuari d'estadística agrària de 2010, a Balears foren comptabilitzades 24.000 ha dedicades al cultiu de l'ametller, la setèima comunitat autònoma de l'estat espanyol en quant a superfície amb una producció a l'any 2013 de 6.371 t (Conselleria d'Agricultura, Medi ambient i Territori, dades no publicades). L'estat espanyol és el segon país productor d'ametlla a nivell mundial, encara que és el primer país en quant a la superfície d'ametllerar, la relació t/ha, demostra el baix rendiment degut al tractament de l'ametller com un cultiu marginal, a terrenys pobres i de secà. La mitjana de producció d'ametlla per ha a l'estat espanyol es situa al voltant d'uns 150 kg/ha de bessó, ridícul si es compara amb Califòrnia que es situa al voltant d'uns 2500 kg/ha. La productivitat a Mallorca, segons les fonts oficials, es situa sobre uns 256 kg ha d'ametlla amb clovella, dades poc reals ja que hi ha terreny comptabilitzats com a ametllerar als quals no s'hi recull l'ametlla.

En el món es produeixen 2×10^6 t d'ametlla anualment, on E.E.U.U, és el primer productor amb 731×10^3 t/any, Espanya es situa en segona posició, 167×10^3 t, la resta de producció mundial es reparteix entre països de la conca mediterrània i Austràlia. (Faostat, 2011). A continuació es presenta un gràfic amb el percentatge de producció d'ametlla als principals països productors en relació a la producció mundial i ja centrant-nos en Espanya i Balears dues taules sobre superfície del cultiu al nostre país y comunitat autònoma.

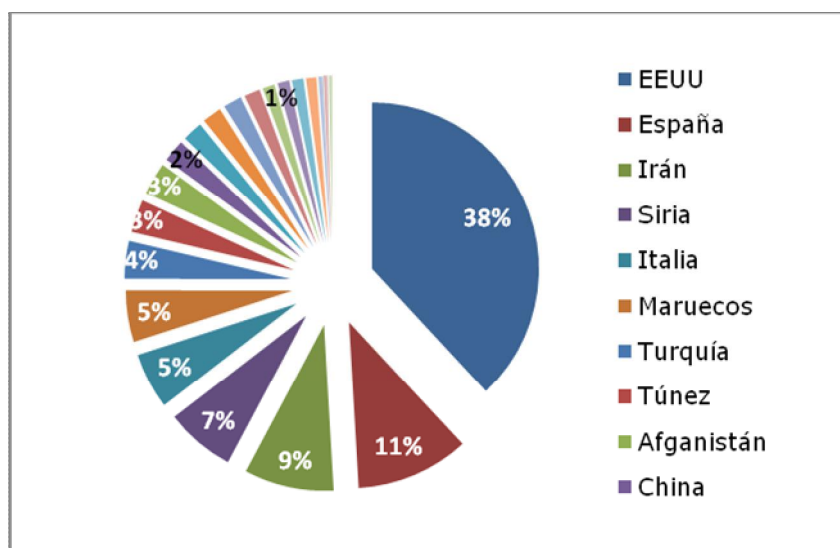


Figura 1 ñ Percentatge de producció d'ametlla amb clovella dels principals països productors en relació a la producció mundial (Faostat, 2011).

Taula 1 **Ha** Superfície i producció d'ametlla per comunitats autònomes. (Anuari de l'Estadística agrària, 2010)

	Ha en secà	Ha en reg	Ha totals	Producció total (t)
ESPANYA	481.002	36.560	517.562	222.217
ANDALUSIA	150.162	4.927	155.089	45.922
C. VALENCIANA	85.569	8.783	94.352	40.663
ARAGÓ	63.721	6.238	69.959	43.022
R. DE MURCIA	61.853	5.601	67.454	25.931
CASTELLA LA MANXA	47.414	5.325	52.739	30.750
CATALUNYA	38.704	3.292	41.996	20.954
BALEARS	20.594	210	20.804	6.073
LA RIOJA	5.975	383	6.358	4.107
NAVARRA	2.730	1.294	4.024	1.709
EXTREMADURA	2.175	480	2.655	1.777
CASTELLA Y LLEÓ	1.288	21	1.309	743
MADRID	497	2	499	238
CANÀRIES	241	4	245	255
PAÍS BASC	75		75	63
CANTABRIA	4		4	10

Taula2 **Ha** Relació entre la superfície total del cultiu de ametller i superfície de cada comunitat autònoma. (Font; Anuari de l'Estadística Agrària, 2010.)

	Ha ametller	Superfície Km2	Ha ametller / Km2
ESPANYA	517.562	504.645	1,02
R. DE MURCIA	67.454	11.313	5,96
BALEARS	20.804	4.992	4,17
C. VALENCIANA	94.352	23.255	4,06
ANDALUSIA	155.089	87.268	1,78
ARAGÓ	69.959	47.719	1,47
CATALUNYA	41.996	32.107	1,31
ESPANYA	517.562	504.645	1,02
CASTELLA LA MANXA	52.739	79.463	0,66

1.3 Cultiu amb futur

El maneig tradicional ha esdevingut obsolet degut a la manca de rendibilitat. Les noves tendències de cultiu van encaminades al tractament de l'ametller com el d'un fruiter, amb l'objectiu d'aconseguir produccions superiors a 2.000 kg/ ha, reg deficitari controlat, ja que es limita l'aportació d'aigua al quallat i engreix del fruit a la primavera, s'interromp a l'estiu i es reinicia a final d'estiu moment on l'arbre acumula reserves, clau per a la futura brotació. Adobaments òptims i tractaments fitosanitaris necessaris, aquestes noves condicions ens permeten marcs de plantació més estrets que no els de plantacions de secà, així esdevé com a factor limitant la llum, i no l'aigua com fins aleshores. En quant a la poda i la recol·lecció, la tendència també s'orienta cap a la mecanització, recol·lecció en continu i màquines de prepoda.

Dins les noves varietats, hi ha línees d'investigació principalment de l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries de Catalunya (IRTA), encaminades a reunir varietats molt productives, resistents a malalties, floracions tardanes i autocompatibles. L'IRTA va sol·licitar el 2005 el Títol d'Obtenció Vegetal del MAGRAMA per les noves varietats, Constantí, Marinada, Tarraco i Vairo. (Miarnau, 2010).

Si bé és cert que aquestes noves varietats estan donant bons resultats a la Península Ibèrica, les peculiaritats climàtiques de Mallorca fan imprescindible un assaig in situ per determinar la seva correcta adaptació.

Si bé és cert que el preu de l'ametlla ha tingut alguns anys de declivi, com s'observa a continuació a la taula 3, la recuperació en els darrers anys pot consolidar-se degut a l'augment de la demanda i l'arribada al sostre de producció de Califòrnia.

Taula 3 **Ev** Evolució de la superfície , producció i preu de l'ametlla a Balears (Font: Conselleria d'Agricultura, Medi ambient i Territori, dades no publicades)

Any	Superfície total (ha)	Superfície en producció (ha)	Producció (t)	Preu (€/100 kg ametlla amb clovella)
2013	24.443	20.804	6.371	123,50
2012	24.443	20.804	6.706	71,50
2011	24.443	20.804	7.289	51,76
2010	24.443	20.804	6.073	60,00
2009	24.443	20.804	5.521	38,75
2008	24.443	20.804	13.580	58,75
2007	24.443	20.804	15.089	69,46
2006	24.443	20.804	14.625	109,90

1.4 Plagues i malalties dels ametllers

L'ametller fins a les hores, ha resultat un arbre de maneig senzill en quant a plagues i malalties, per tant els tractaments que es realitzaven eren gairebé inexistents. Tot i així, s'esmentaran les principals plagues i malalties que es donen a Mallorca.

1.4.1 Plagues

En quant a plagues, l'ametller pot patir atacs per àfids com *Hyalopterus amygdali* (E. Blanchard, 1840) o *Myzus persicae* Sulzer 1776 provocant danys a les fulles, que es deformen i poden arribar a caure, també actua com transmissor de virus, un altre àfid a destacar pels danys que causa als troncs i branques és el *Pterochloroides persicae* (Cholodkovsky, 1899). Els àcars que podem trobar a l'ametller són *Panonychus ulmi* (Koch 1836) i *Aculus cornutus* (Nalepa 1892) també atacant a les fulles on succionen el contingut cel·lular. El coleòpter buprèstid *Capnodis tenebrionis* (Linnaeus, 1758), la larva del qual excava galeries a les arrels, pot causar la mort d'algun peu aïllat si l'atac es sever agreujat en condicions de secà. Altres dos coleòpters escolítids a destacar són *Scolytus rugulosus* (Müller, 1818), i *Scolytus amygdali* (Guerin, 1847) important a zones de secà els anys amb poca pluviometria, són per tant oportunistes manifestant-se principalment a la marina de Lluçmajor. L'hemípter heteròpter de la família dels tígids, *Monosteira unicostata* (Mulsant & Rey, 1852), es tal vegada la plaga més freqüent als ametllers de Mallorca, causant un debilitament de l'arbre, els danys es causen a la fulla degut a la succió de la saba.

1.4.2 Malalties

En quant a malalties d'origen fúngic, *Phomopsis amygdali* (Delacr.) J.J. Tuset & M.T. conegut com a xancra de les branques causa importants danys a les branques, principalment a les varietats introduïdes pels plans de millora com Ferragnes. També són destacables la moniliosi causada per *Monilinia laxa* (Ehrenb.) Sacc. & Voglino. i en menor importància tant per la seva presència com per la seva gravetat, *Taphrina deformans* (Berk.) Tul. El mòrbol, *Armillaria mellea* (Vahl) & P. Kumm, es un fong basidiomicet causant de podridures a les arrels, propi de sòls amb drenatge insuficient. Finalment es troben els fongs objecte del nostre treball, fongs de fusta que s'explicaran amb detall.

Com a bacteri, *Agrobacterium tumefaciens* (Smith & Townsed) causa tumors i agalles a les arrels dels ametllers infectats.

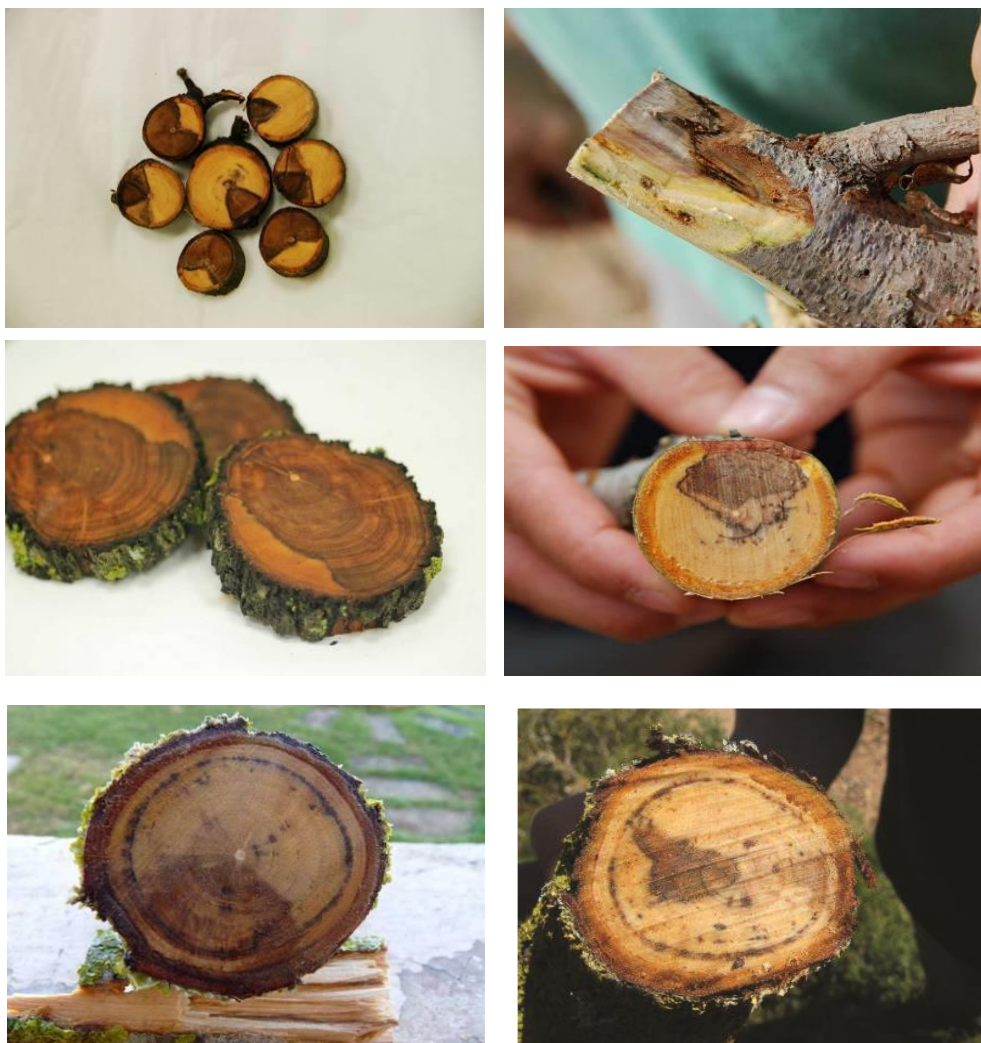
1.5 L'assecament de l'ametller a Mallorca: Problemàtica i situació.

A partir de l'any 2008, s'alertà de la mort sobtada d'ametllers principalment al llevant de Mallorca. La Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori realitzà prospeccions amb la finalitat de determinar els agents causants d'aquesta afecció. En quant a l'estat de les plantacions, presentaven un sever estat d'abandonament, on per falta de laboreig i coincidint amb anys de poca pluviometria els arbres acusaven l'estrés hídric, a més de manca de poda, manca d'adobs i nuls tractaments fitosanitaris. A aquesta circumstància s'ha d'afegir que, la senescència dels arbres també suposa un problema en quant a la seva feblesa, hem de tenir en compte que gran part de les plantacions d'ametller de Mallorca superen els 50 anys, exceptuant les renovades pels plans de millora elaborats dues dècades enrera. A la problemàtica exposada s'hi ha de sumar l'extremada sensibilitat de la varietat ferragnes a *Phomopsis amygdali*, fet que també afecta greument al vigor de l'arbre.

No obstant això, en les prospeccions realitzades pels tècnics de la Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori, es seleccionaren parcel·les amb pràctiques culturals adequades i la simptomatologia observada d'assecaments de branques, fulles cloròtiques i necrosis sectorials i puntejats obscurs, que recordaven a les causades pels anomenats fongs de fusta (Figures 2 a 9). De fet, una vegada descartades fisiopaties i qualsevol altre plaga o malaltia de les citades anteriorment, a partir de la observació dels símptomes detectats als teixits necrosats, s'evidencià que un possible agent causant d'aquesta situació eren aquests fongs (Gramaje et al., 2012). L'anàlisi dels teixits afectats en medis d'aïllament específics per fongs demostraren la presència d'una gran diversitat d'espècies fúngiques on destaquen les de la família Botryosphaeriaceae, *Neofusicoccum* spp. i Diatrypaceae, *Eutypa lata* i *Eutypa leptoplaca* (veure taula 4)



Figures 2 i 3 - Aspecte general de ametllers afectats per fongs de fusta, observats durant les prospeccions efectuades entre 2009 i 2013



Figures 4 a 9 - Necrosis sectorials i puntejats trobats als ametllers en Mallorca durant les prospeccions efectuades entre 2009 i 2013

Parcel·la	Localitat	Fongs Aïllats																	
		Np	Nl	Na	Nm	Dc	Do	Ds	Da	Phi	Phv	Pham	Phal	Ch	El	Ele	Bas	Pr	Otros
1	San Llorenç des Cardassar	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+
2	San Llorenç des Cardassar	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
3	San Llorenç des Cardassar	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4	San Llorenç des Cardassar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
5	San Llorenç des Cardassar	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
6	San Llorenç des Cardassar	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
7	San Llorenç des Cardassar	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	San Llorenç des Cardassar	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
9	Sencelles	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
10	Son Servera	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
11	Manacor	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Santa Maria	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+
13	Santa Maria	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
14	Santa Maria	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
15	Santa Maria	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
16	Llucmajor	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
17	Llucmajor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
18	Llucmajor	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
19	Santa Maria	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
20	Binissalem	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-
21	Sant Joan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
22	Consell	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%Freqüència respecta al total de parcel·les		40,91	27,27	13,64	9,09	4,55	13,64	27,27	9,09	9,09	4,55	4,55	4,55	22,73	22,73	9,09	40,91	36,36	50,00

Taula 4- Espècies fúngiques aïllades a les prospeccions de fongs de fusta d'almetller realitzades pel Laboratori de Sanitat Vegetal entre els anys 2009 i 2012.i distribució per parcel·les mostrejades. **Np**: *Neofusicoccum parvum*, **Nl**: *Neofussiccocum luteum*, **Na**: *Neofusicoccum austral.*, **Dc**: *Diplodia corticola*, **Do**: *Diplodia olivarum*, **Ds**: *Diplodia seriata*, **Da**: *Diplodia alatafructa*, **Phi**: *Phaeacremonium iranianaum*, **Phv**: *Phaeoacremonium venezuelense*, **Pha**: *Phaeoacremonium amygdalinum*, **Phal**: *Phaeoacremonium aleophilum*, **C**: *Collophora hispanica*, **El**: *Eutypa lata*, **El**: *Eutypa leptoplaca*, **Bas**: *Basidiomicets*, **Pr**: *Pleurostomophora ricahrdidae*.

1.6 Malalties causades per fongs de fusta

Les malalties fúngiques de la fusta estan causades per una àmplia diversitat de fongs, a la vegada que també és gran el nombre d'hostes on els trobem. Aquests fongs causen alteracions a la fusta que es manifesta de forma diversa, ja sigui en forma de necrosis o podridures seques que arriben a obstruir els vasos i per tant impedir el flux de la saba, les necrosis esmentades són causades enzim digestius, metabolits elaborats pel fong i requerits per alimentar-se degut a la seva naturalesa heteròtrofa, aquests enzims actuen a polisacàrids estructurals o bé a fotoassimilats transportats via floema. (García et al., 2008).

Ja foren citats fongs de fusta a la vinya, durant l'època clàssica en els tractats d'agronomia de Plini el vell (Larignon 2004), i és el cultiu on hi trobem més informació sobre fongs de fusta degut a la seva proliferació durant els darrers danys on hi ha contribuït la prohibició dels tractaments amb arsenit de sodi, gairebé l'única matèria activa utilitzada fins a les hores per al seu control (Chiarappa, 2000; Graniti et al., 2000). Dins les malalties fúngiques de la vinya podem remarcar l'eutipiosi causada per el fong *Eutypa lata*. La simptomatologia que presenta a vinya són sarments dèbils, entrenusos curts, fulles petites i cloròtiques i raïms avortats (Moller et al. 1974). La bibliografia parla de necrosis sectorials en forma de V, si es realitza un tall transversal, que s'estén de la part externa del xilema fins a la medul·la, simptomatologia que també presentaven alguns dels arbres amb signes de decaïment prospectats a Mallorca a partir de l'any 2009.

A altres espècies llenyoses d'interès agrícola també es coneixen malalties fúngiques de fusta, com els xancres causats per *Nectria galligena* Bres. a fruiters de llavor, els xancres causats per *Phomopsis* spp., els xancres causats per *Valsa* sp., el mal del plom dels fruiters de pinyol provocat per el basidiomicet *Chondrostereum purpureum* (Pers.) Pouzar i l'eutipiosi causada per

el fong *Eutypa lata* (Mateo-Sagasta, 2000a; Tuset 2000, Mateo-Sagasta, 2000b, Melgarejo, 2000; Mateo-Sagasta, 2000c).

A l'òlivera Moral et al. (2010) varen identificar *Neofusicoccum mediterraneum* Crous, M.J. Wingf. & A.J.L. Phillips i *Diplodia seriata* De Not. com agent causant de la seca tant a l'estat espanyol com a Califòrnia. Posteriorment, Urbez-Torres et al. (2013) identificaren 18 espècies fúngiques associades al decaïment de brots i branques d'òlivera a Califòrnia on destaquen per la seva virulència *N. mediterraneum* i *D. mutila* (Fr.) Mont.

Si parlem dels hostes del gènere *Prunus*, podem destacar patògens del melicotoner com *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces. & De Not., *D. seriata*, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. (Pusey et al., 1995). A més a aquestes tres cites, Farr et al. (1989) afegeix el *Neofusicoccum ribis* (Slippers, Crous & M.J. Wingf). així com també Laudon (1973) i Sutton (1980), citaren *D. mutila*. Els estudis de Slippers et al. (2007) demostraren la presència de varies soques de *D. seriata* y *N. australe* a fruiters de pinyol. El cas de les eutipiosis, ja esmentat quant he parlat dels fongs de la vinya i d'altres hostes, és recurrent en els fruiters del gènere *Prunus* i trobem cites de *Eutypa lata* a ametllers (Carter 1982), albercoquers (Carter 1957), cirerers de Virgínia (*P. Virginiana*) (English y Davis 1965), prunera japonesa (Carter 1982) i cirerer (Munkwold y Marois, 1994). Fongs de la família Diatrypaceae han estat aïllats a *Prunus* i associats a la simptomatologia del decaïment. Per altra banda tenim l'exemple de *Phaeoacremonium aleophilum* citat a *Prunus armeniaca*, trobat a Sud-àfrica per (Mostert et al. 2006). També ha estat aïllat *Phaeoacremonium parasiticum* (Ajello, Georg & C.J.K. Wang) W. Gams, Crous & M.J. Wingf. a Tunísia per (Hawksworth et al. 1976) i a cirerers cultivats a Grècia per (Rumbos 1986).

La taula 5, adaptada i actualitzada a partir del treball de Gramaje et al. (2012) mostra un recull de fongs de fusta aïllats arreu del món. No obstant, tot i que com es pot apreciar s'han trobat espècies de Botryosphaeriaceae, i també de *Eutypa* sp. en ametller i altres *Prunus*, el seu paper com a patògens en ametller encara no es ben conegut perquè no s'han realitzat suficients estudis de patogenicitat en aquest cultiu.

Taula 5 **¶** Fongs de fusta aïllats de *Prunus* spp. arreu del món. (Adaptació i ampliació a partir de Gramaje et al. 2012)

Família	Espècie	<i>Prunus</i> spp.	País	Referència
Botryosphaeriaceae	<i>Aplosporella indica</i> , <i>A. phyllanthina</i>	<i>P. domestica</i>	Índia	Agarwal et al. (1992)
	<i>A. pruni</i>	<i>P. armeniaca</i>	Austràlia	McAlpine (1902)
	<i>A. prunicola</i>	<i>P. persica</i> var. <i>nucipersica</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2007b)
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	<i>P. dulcis</i>	EEUU	Inderbitzin et al. (2010)
		<i>P. persica</i>	Distribució mundial	Pusey et al. (1995)
		<i>Prunus</i> spp.	E.E.U.U.	Farr et al. (1989)
	<i>Diplodia africana</i>	<i>P. persica</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2007a)
	<i>D. mutila</i>	<i>P. armeniaca</i> , <i>P. persica</i>	Desconegut	Sutton (1980)
		<i>P. persica</i>	Nueva Zelanda	Laundon (1973)
	<i>D. pinea</i>	<i>P. persica</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2007a)
	<i>D. rosulata</i>	<i>P. africana</i>	Etiòpia	Gure et al. (2005)
	<i>D. roumegueri</i> var. <i>santonensi</i>	<i>P. laurocerasus</i>	França	Wollenweber y Hockpfel (1941)
	<i>D. seriata</i>	<i>P. armeniaca</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2007a)
		<i>P. dulcis</i>	E.E.U.U.	Inderbitzin et al. (2010)
		<i>P. laurocerasus</i>	Itàlia	Quaglia et al. (2013)
		<i>P. persica</i>	Distribució mundial	Inderbitzin et al. (2010)
		<i>P. persica</i> , <i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2007a), Slippers et al. (2007)
		<i>P. persica</i> var. <i>nucipersica</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2007a)
		<i>Prunus</i> spp.	E.E.U.U.	Farr et al. (1989)
	<i>Dothiorella sarmentorum</i>	<i>P. armeniaca</i> , <i>Prunus</i> spp.	Europa, Nord-americà	Wollenweber (1941)
		<i>P. dulcis</i>	E.E.U.U.	Inderbitzin et al. (2010)
	<i>Lasiodiplodia plurivora</i>	<i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2007a)
	<i>L. theobromae</i>	<i>P. persica</i>	Distribució mundial	Pusey et al. (1995)
		<i>Prunus</i> spp.	E.E.U.U.	Farr et al. (1989)
	<i>Macrophomina phaseolina</i>	<i>P. dulcis</i>	E.E.U.U.	Inderbitzin et al. (2010)
	<i>Neofusicoccum australe</i>	<i>P. armeniaca</i> , <i>P. persica</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2007a)
		<i>P. dulcis</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2007a)
		<i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2007a), Slippers et al. (2007)
	<i>N. mediterraneum</i> , <i>N. nonquaesitum</i> , <i>N. parvum</i>	<i>P. dulcis</i>	E.E.U.U.	Inderbitzin et al. (2010)
	<i>N. ribis</i>	<i>Prunus</i> spp.	E.E.U.U.	Farr et al. (1989)
	<i>N. vitifusiforme</i>	<i>P. persica</i> , <i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2007a)
	<i>Spencermartinsia viticola</i>	<i>P. persica</i> var. <i>nucipersica</i> , <i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2007a)
	<i>Sphaeropsis peckii</i>	<i>Prunus</i> spp.	E.E.U.U.	Farr et al. (1989)
Calosphaeriaceae	<i>Calosphaeria africana</i>	<i>P. armeniaca</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2008a)
	<i>Jattaia mookgoponga</i>	<i>P. persica</i> var. <i>nucipersica</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2008a)
	<i>J. prunicola</i>	<i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2008a)
Coniochaetaceae	<i>Coniochaeta africana</i>	<i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2010)
	<i>Ca. ambigua</i>	<i>P. armeniaca</i> , <i>P. avium</i>	Moldàvia	Popushoi (1971)
	<i>Ca. calva</i>	<i>P. avium</i> , <i>P. domestica</i>	Moldàvia	Popushoi (1971)
	<i>Ca. lignaria</i>	<i>P. domestica</i>	Moldàvia	Popushoi (1971)
	<i>Ca. prunicola</i> , <i>Ca. velutina</i>	<i>P. armeniaca</i> , <i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2010)

Diaporthaceae	<i>Phomopsis ambigua</i>	<i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Smit et al. (1996)
	<i>Ps. amygdali</i>	<i>P. dulcis</i> , <i>P. persica</i>	Distribución mundial	Tusset y Portilla (1989)
	<i>Ps. mali</i> , <i>Ps. padina</i> , <i>Ps. parabolica</i> , <i>Ps. perniciosa</i> , <i>Ps. pruni</i> , <i>Ps. prunorim</i> , <i>Ps. stipata</i> , <i>Ps. ribetjana</i> .	<i>P. dulcis</i> , <i>Prunus</i> spp.	Distribución mundial	Uecker (1988)
	<i>Ps. theicola</i> , <i>Phomopsis</i> sp.	<i>P. dulcis</i>	Portugal	Diogo et al. (2010)
Diatrypaceae	<i>Cryptovalsa ampelina</i>	<i>P. armeniaca</i>	E.E.U.U.	Trouillas et al. (2010)
	<i>Diatrype oregonensis</i>	<i>Prunus</i> spp.	Sud-àfrica	Damm et al. (2009)
	<i>Eutypa lata</i>	<i>P. armeniaca</i>	E.E.U.U.	Trouillas et al. (2010)
		<i>P. avium</i>	Distribución mundial	Munkvold y Marois (1994)
		<i>P. armeniaca</i>	Distribución mundial	Carter (1957)
		<i>P. dulcis</i> , <i>P. salicina</i>	Distribución mundial	Carter (1982)
		<i>P. virginiana</i>	Distribución mundial	English y Davis (1965)
	<i>Etyella prunastri</i>	<i>P. avium</i> , <i>P. dulcis</i> , <i>P. salicina</i> , <i>P. spinosa</i>	Distribución mundial	Groove (1935), Ellis y Ellis (1997)
Herpotrichiellaceae	<i>Phaeomoniella dura</i> , <i>Pa. effusa</i> , <i>Pa. prunicola</i> , <i>Pa. zymoides</i>	<i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2010)
	<i>Pa. tardicola</i>	<i>P. armeniaca</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2010)
Montagnulaceae	<i>Paraconiothyrium africanum</i>	<i>P. persica</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2008c)
	<i>Pc. brasiliense</i>	<i>P. persica</i> var. <i>nucipersica</i> , <i>P. persica</i> , <i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2008c)
	<i>Pc. variabile</i>	<i>P. persica</i> , <i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2008c)
Togniniaceae	<i>Phaeoacremonium aleophilum</i>	<i>P. armeniaca</i>	Sud-àfrica	Mostert et al. (2003, 2006), Damm et al. (2008c)
		<i>P. armeniaca</i>	Iran	Arzanlou et al. (2013)
		<i>P. pennsylvanica</i>	Canada	Hausner et al. (1992)
		<i>P. persica</i> , <i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2008b)
	<i>Pm. australiense</i> , <i>Pm. fuscum</i> , <i>Pm. griseorubrum</i> , <i>Pm. mertoniae</i> , <i>Pm. prunicolum</i> , <i>Pm. viticola</i>	<i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2008b)
	<i>Pm. iraniana</i> , <i>Pm. pallidum</i> , <i>Pm. subulatum</i> , <i>Togninia africana</i> , <i>Tg. griseo-olivacea</i>	<i>P. armeniaca</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2008b)
	<i>Pm. parasiticum</i>	<i>P. avium</i>	Grècia	Rumbos (1986)
		<i>P. armeniaca</i>	Tunisia	Hawksworth et al. (1976)
		<i>P. armeniaca</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2008b)
	<i>Pm. scolyti</i>	<i>P. armeniaca</i> , <i>P. persica</i> , <i>P. persica</i> var. <i>nucipersica</i> , <i>P. salicina</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2008b)
Desconeguda	<i>Collophora africana</i> , <i>Co. capensis</i> , <i>Co. parula</i> , <i>Co. pallida</i>	<i>P. persica</i> , <i>P. persica</i> var. <i>nucipersica</i>	Sud-àfrica	Damm et al. (2008b)
	<i>Co. rubra</i>	<i>P. dulcis</i> , <i>P. persica</i> , <i>P. persica</i> var. <i>nucipersica</i> ,	Sud-àfrica	Damm et al. (2008b)

2. OBJECTIUS

2 OBJECTIUS

La rellevància del cultiu de l'ametller, tant a nivell econòmic com a nivell paisatgístic, conjuntament amb la irrupció del fongs de fusta i el seu poc coneixement com a patogen, varen justificar aquest treball plantejant-nos els següents objectius:

- Comprovar la patogenicitat de *Neofusicoccum australe*, *Neofusicoccum luteum*, *Neofusicoccum mediterraneum*, *Neofusicoccum parvum*, *Diplodia olivarum*, *Diplodia seriata*, *Eutypa lata*, *Eutypa leptoplaca* a ametller.
- Avaluar el grau de virulència de cada fong.
- Avaluar l'efecte varietal a la patogenicitat i virulència dels fongs citats.

3.MATERIAL I METODEDES

3 MATERIAL I MÈTODES

3.1 Disseny experimental

Per a l'assaig de patogenicitat dels fongs de fusta foren escollides quatre varietats d'ametller. Les varietats d'ametller que es varen seleccionar per a l'assaig són algunes de les més utilitzades en els camps mallorquins. Totes aquestes varietats tenien com a porta empelt, el peu híbrid GF677, escollit per la seva utilització generalitzada, bon vigor, resistència a la sequera, clorosis fèrrica i adaptació a la calcària activa. Concretament les varietats escollides foren: Ferragnes, originària de França (INRA), Pons, Vivot i Jordi, varietats tradicionals mallorquines.

La parcel·la on s'ha realitzat l'experiència és el camp experimental de la Conselleria d'Agricultura situada al Carrer Eusebi Estada a Palm, polígon 24, parcel·la 9.000, recinte 10.

Per a l'assaig es va dividir la parcel·la en quatre blocs, amb distribució a l'atzar de les varietats d'ametller en cada un d'ells. A cada bloc, es van inocular 3 arbres de cada varietat per cadascuna de les espècies fúngiques i tres arbres inoculats amb agar estèril com a controls.



Figura 10 Vista general de la parcel·la experimental de la Conselleria d'Agricultura on es realitza la plantació i inoculació.

3.2 Preparació del terreny i cultiu.

La plantació dels 500 peus d'ametller, va anar precedida per labors de preparació del terreny, passada de subsolador a una profunditat de 50 cm, i cultivadors.

La plantació fou manual, amb arbres amb arrel nua i amb un marc de plantació 1 x 4 metres, on s'administrà un reg d'implantació per assegurar el contacte de les arrels amb el sòl.

S'instal·là un sistema de reg per degoteig, que s'ha utilitzat en funció de les necessitats, sempre assegurant una disponibilitat hídrica òptima per el correcte desenvolupament dels ametllers.

Pel manteniment del sòl, s'han combinat escardes mecàniques amb cultivadors i químiques amb la materia activa herbicida glufosinat.

3.3 Material vegetal

3.3.1 *Ferragnes*

És una varietat obtinguda a l'INRA per Grasselly del creuament de Cristomorto X Aï.

Arbre mitjanament vigorós encara que a sols fèrtils i amb disponibilitat hídrica pot ser molt vigorós, port semi-erecte i poc ramificat, fructificació sobre branca mixta i ramets de maig, preferentment sobre ramets de maig. Floració tardana i producció abundant, auto incompatible. Sensibilitat molt marcada a *Phomopsis amygdali*. Closca semidura, amb un rendiment del 40% bessó/clovella. Fruits d'un sol gra i mida gran.

A Mallorca, fou introduïda amb els plans de millora del sector dels fruits secs, utilitzant com a pol·linitzador la Masbovera i Glorieta. Podem considerar una varietat en regressió i a rebutjar per futures plantacions degut a la seva sensibilitat a *Phomopsis amygdali*.

3.3.2 *Jordi*

Varietat local cultivada a Mallorca, originària de Campos. Es tracta d'un arbre molt vigorós i port arrodonit amb floració primerenca i autoincompatible.

Varietat molt productiva, amb un 10% de bessó doble i un 29% de rendiment bessó/clovella. La mida el fruit és aproximadament de 30,6 x 20,1mm.

3.3.3 *Pons*

Varietat local també coneguda com a Ponsina, o Inquera i estesa per tota la illa. Creixement vegetatiu amb verticalitat exagerada, fet que ens condicionarà la poda. Floració que oscil·la entre mitjan gener i mitjan juliol.

El bessó és d'aproximadament 29,6 x 24,3 mm, amb un rendiment del 27,2% bessó/clovella, i un percentatge de bessó doble proper al 14 %.

3.3.4 Vivot

Varietat local Mallorquina, també coneguda com a Pons Bord, originària de Son Vivot al terme municipal d'Inca, sosté principalment pel Raiguer. El seu branquament és similar al de la varietat Pons. Requereix sols bons encara la seva productivitat és baixa. Bon vigor, port mitjà, i fructificació a branca mixta.

Bessó simple d'aproximadament 33,8 x 21,3 mm, i rendiment del 25,4 % bessó/clovella.

3.4 Aïllats fúngics

Els fongs utilitzats per a la inoculació provenen de les prospeccions anteriorment citades, havien estat identificats pel Laboratori de Sanitat Vegetal de la Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori i en col·laboració amb el Laboratori de referència de fongs fitopatògens del Ministeri d'Agricultura Alimentació i Medi Ambient (Patologia Vegetal, ETSIAM i Universitat Politècnica de València). La identificació s'havia realitzat basant-se inicialment en aspectes morfològics de les colònies de micelis i morfo mètrics dels conidis, completant-se amb la seqüenciació del ITS i el factor d'elongació 1- β . Pertanyen a dues famílies diferents de fongs, a les Diatrypàcies i a les Botryosphaèries, a continuació es presenta la seva classificació taxonòmica i una taula resum de les espècies inoculades.

3.4.1 *Eutypa lata* i *Eutypa leptoplaca*.

Els fongs inoculats, *Eutypa lata* i *E. lectoplaca*, Ascomycota, classe Sordariomycetes ordre Xylariales i família Diatrypaceae.

3.4.2 Botryosphaeraceae

Els fongs *Neofusicoccum parvum*, *N. australe*, *N. mediterraneum*, *N. luteum*, *Diplodia olivarum*, *D. seriata*, es classifiquen dins els ascomicets, pertanyen a l'ordre Botryosphaeriales (Dothideomycetes, *incertae sedis*) i a la família Botryosphaeraceae

Taula 6 - Espècies fúngiques inoculades a l'assaig de patogenicitat

Espècie	Família
<i>Neofusicoccum australe</i>	Botryosphaeriaceae
<i>Neofusicoccum luteum</i>	
<i>Neofusicoccum parvum</i>	
<i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	
<i>Diplodia seriata</i>	
<i>Diplodia olivarum</i>	
<i>Eutypa lata</i>	Diatrypaceae
<i>Eutypa leptoplaca</i>	

3.5 Inoculació

El mes d'abril de 2013, s'inocularen els fongs als ametllers. La metodologia seguida per a la inoculació es basava en realitzar una obertura de 0,6 mm de diàmetre a l'escorça, on hi dipositarem un disc amb l'aïllat fúngic compost per el medi de cultiu i miceli d'igual diàmetre que l'obertura de manera que el fong entres en contacte amb el càmblum, finalment tapàvem l'orifici i el dipòsit fúngic amb una banda de Parafilm® amb la qual s'evitava la deshidratació del fong i es protegia la ferida de altres infeccions no desitjades. De tots els fongs aïllats a les prospeccions de camp, es varen seleccionar per aquest assaig vuit dels, seleccionats segons la seva freqüència d'aparició durant les prospeccions, cites bibliogràfiques que demostren el seu caràcter patogen i també per la manca de bibliografia d'algun dels.



Fig. 11 a 14 *Detall del procés de inoculació., Plaques amb els cultius dels fongs utilitzats. Eliminació d'escorça. Dipòsit del disc de PDA i el cultiu fúngic. Recobriment de dels disc amb Parafilm®.*



Figura 15 *Seguiment quinzenal de evolució de danys a cada arbre inoculat amb el seu corresponent fong.*

3.6 Seguiment dels símptomes

Quinzenalment, es va fer un seguiment del cultiu per assegurar que el desenvolupament de la plantació era el correcte, absència de plagues, regs que es requerien, etc. A més es recollien dades referents a la simptomatologia que anava apareixent a la plantació, principalment la aparició de goma associada a la zona de la inoculació, necrosis de branques o aparició de xancres, dades que foren utilitzades com indicador qualitatiu del caràcter patogènic dels fongs, ens permeteren determinar quins fongs afectaven amb major rapidesa.

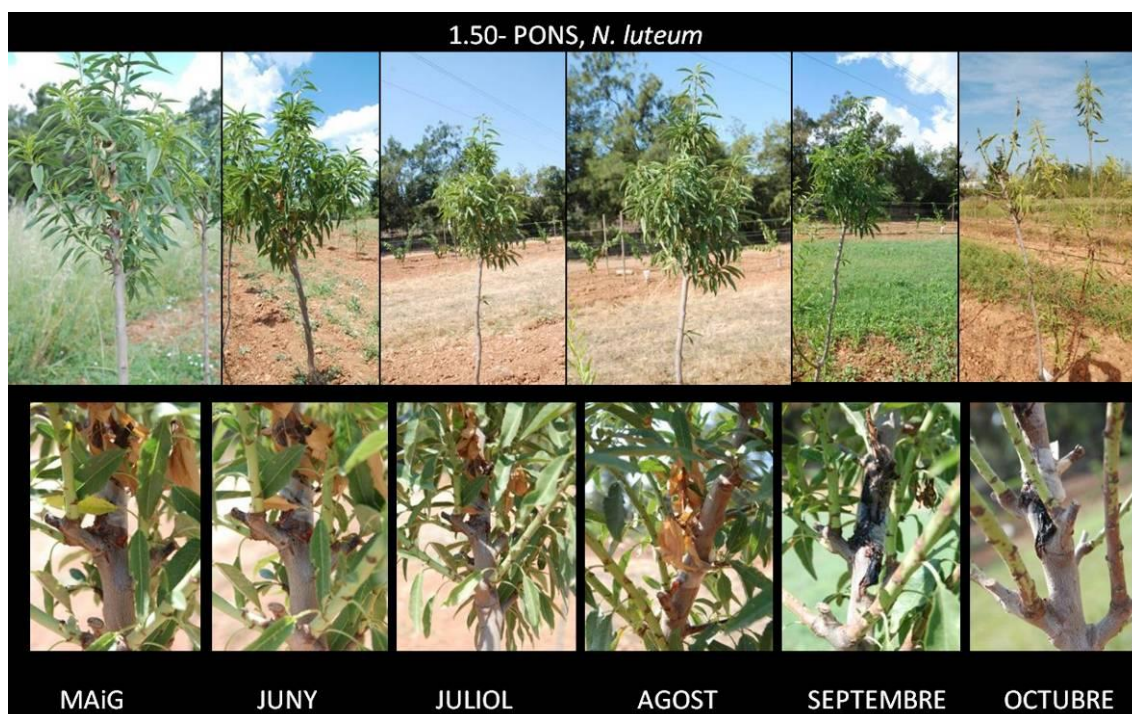


Figura 16 *Composició realitzada a partir del símptomes observats a la varietat Pons inoculada amb N. luteum.*

3.7 Mesures dels xancres

El mes de gener, transcorreguts 9 mesos des de la inoculació tal i com Pitt et al. (2013) fan al seu estudi de patogenicitat de fongs Diatrypaceae en vinya, es tallaren les zones necrosades de cada arbre, amb la finalitat de mesurar el xancres i les necrosis internes en cada cas. Es va mesurar l'avanç del fong des de el punt central on s'havia realitzat la inoculació, tant per la part superior com per la inferior. Aquestes mesures foren utilitzades per l'elaboració de l'estudi estadístic, ja que relacionarem les dimensions del teixit necrosat amb la virulència del fong.



Figures 17 i 18 *ñ* Necrosis internes provocades per *N. parvum*, exemple de necrosis utilitzada per mesurar el dany causat pel fong.

3.8 Reaïllament dels fongs inoculats

Seguint els postulats de Koch, s'aïllaren novament els fongs que foren identificats morfològicament i mitjançant seqüenciació de regions ITS i factor d'elongació 1- α , assegurant així que la simptomatologia present era provocada pel fong que s'havia inoculat.

El material vegetal a partir del que s'havien de fer els reaïllaments era desproveït d'escorça i banyat amb alcohol i flamejat fins a tres vegades d'on s'extreien petits fragments de fusta i es col·locaven al medi de cultiu, treballant dins la càmera de flux laminar, pel reaïllament del fong s'utilitzà medi de cultiu MEA-S, (agar, extracte de malta, estreptomicina) medi selectiu amb antibiòtic, on es dipositaren petits fragments de teixit provinents dels xancres interns, una vegada apareixen els primers micelis foren repicats a PDA pel seu estudi i reconeixement.

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4 RESULTATS I DISCUSSIÓ

Per a l'obtenció de resultats, com ja s'ha comentat a material i mètodes, foren mesurats els xancres com a dades quantitatives. A nivell qualitatiu, amb el seguiment de l'aparició dels símptomes s'establiren diferències de velocitat d'afectació per a cada tractament.

4.1 Anàlisi de dades

La mesura de les necrosis vasculars com ja havia fet al cultiu de la vinya (Phillips 1998), fou relacionada amb la patogenicitat de cada fong i amb l'efecte varietal. Per a l'anàlisi d'aquestes variables contínues es realitzà un anàlisi de variància (ANOVA) a més de tests comparatius LSD i HSD .

Per al tractament de les dades referents a l'aparició de la simptomatologia s'elaborà un quadre on apareixen fongs i varietats juntament a la simptomatologia observada per ordre cronològic, això ens permeté comparar i establir relacions amb la promptitud d'aparició dels símptomes i la patogenicitat de cada fong.

Els programes utilitzats per el processament estadístic de les dades ha estat Statistix® i Excel®.

4.2 Resultats

Es va realitzar un test Levene per garantir una homogeneïtat de la variància acceptable ($P > 0.05$) tant per la varietat com per el tractament on es varen obtenir uns resultats de entre 0.044 ñ 0.049, que podríem considerar acceptables.

Els resultats van mostrar que la interacció varietat x fong va ser significativa, indicant que hi ha diferències de susceptibilitat entre varietats d'ametller depenent del patogen inoculat. Tots els fongs van causar lesions de longitud significativament més gran que les obtingudes en els controls, exceptuant les

varietats Jordi i Pons inoculades amb *E. leptoplaca* i la varietat Pons inoculada amb *D. olivarum*. En totes les varietats es va observar que les espècies del gènere *Neofusicoccum* van ser les més virulentes, mentre que les espècies *D. olivarum* i *E. leptoplaca* van ser les menys virulentes.

A la taula següent es presenten les mitjanes de la longitud de la necrosis interna en cada arbre, en el moment en que es tallaren els fragments inoculats afectats, 9 mesos després de la inoculació.

Taula 7 Mitjana de longitud (cm) les necrosis internes causades pels fongs inoculats als 9 mesos de la inoculació (Lletres diferents indiquen diferències significatives entre els fongs inoculats ($p>0,05$) dins la mateixa varietat.)

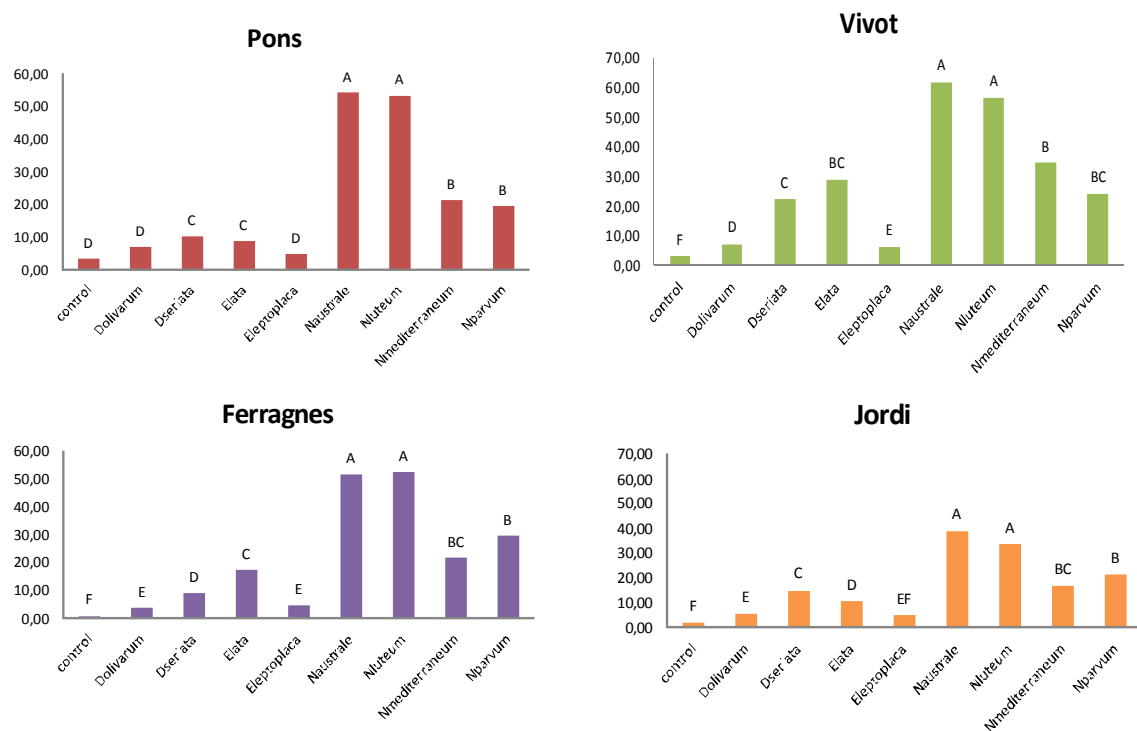
	Ferragnes	Jordi	Pons	Vivot
<i>Neofusicoccum australe</i>	51.59 ^A	39.01 ^A	54.37 ^A	61.73 ^A
<i>Neofusicoccum luteum</i>	52.52 ^A	33.46 ^A	53.38 ^A	56.67 ^A
<i>Neofusicoccum parvum</i>	29.77 ^B	21.3 ^B	19.62 ^B	23.90 ^{BC}
<i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	21.94 ^{BC}	16.66 ^{BC}	21.41 ^B	34.43 ^B
<i>Diplodia seriata</i>	9.12 ^D	14.94 ^C	4.04 ^C	22.33 ^C
<i>Diplodia olivarum</i>	3.93 ^E	5.57 ^E	5.67 ^D	7.16 ^D
<i>Eutypa lata</i>	17.49 ^C	10.54 ^D	3.05 ^C	28.70 ^{BC}
<i>Eutypa leptoplaca</i>	4.79 ^E	4.81 ^E	2.5 ^D	6.26 ^E

A la taula anterior, apareixen remarcades en verd i vermell les mesures del major i menor xancre resultat de la inoculació amb cada fong, dels que podem destacar com a varietat més sensible a més fongs, la varietat Vivot, concretament als fongs: *Neofusicoccum australe*, *N. luteum*, *N. mediterraneum*, *Diplodia seriata*, *D. olivarum*, *Eutypa lata* i *E. leptoplaca*.

Per altra banda, les varietats que poguérem qualificar com a menys sensibles a més fongs foren: la varietat Pons, que presenta menor sensibilitat a *Neofusicoccum parvum*, *Diplodia seriata*, *Eutypa lata* i *Eutypa leptoplaca* i la varietat Jordi, menys sensible als fongs *Neofusicoccum australe*, *N. luteum* i *N. mediterraneum*.

La varietat Ferragnes va presentar valors intermedis per a la majoria dels fongs encara que fou la més sensible a *Neofusicoccum parvum*, i la menys sensible a *Diplodia olivarum*.

A continuació es presenten les gràfiques elaborades a partir de les mitjanes tant amb les dades obtingudes directament de la mesura com també transformades a logaritmes per que s'acomplissin condicions de homogeneïtat i normalitat, procediment habitual per aquest tipus d'experiments (Quinn i Keough 2002).



Figures 19 a 22: Gràfics on apareixen les mesures de les necrosis internes 9 mesos després de la inoculació per a cada tractament i cada varietat.

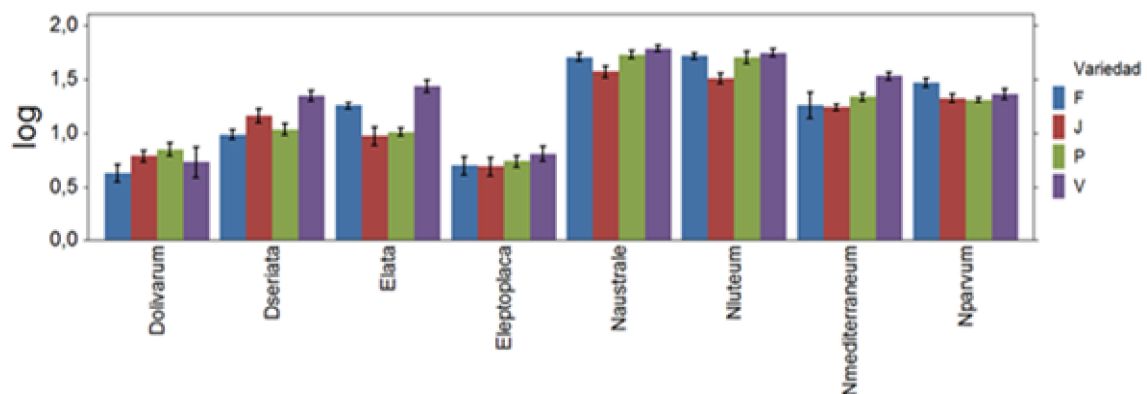


Figura 23: Gràfic amb mesures logarítmiques de la lesió interna als 9 mesos de la inoculació.

Podem observar que els fongs amb un major caràcter patogènic a totes les varietats són: *N. australe* i *N. luteum* seguits per *N. parvum* i *N. mediterraneum*.

Per altra banda, *Diplodia seriata*, *D. olivarum*, *Eutypa lata* i *Eutypa leptoplaca* pareixen ser els fongs que generalment han causat menys danys i per tant els menys patògens.

A continuació es presenta la taula HDS Tukey, on es va veure clarament una distribució en tres grups de patogenicitat, on els grup dels *Neofussicoccum* resultà el més virulent.

Taula 8: Anàlisi HDS Tukey que estableix grups homogenis a partir de les diferències.

Varietat	Tractament	Mesures log	Grups
V	N. australe	1,7862	A
V	N. luteum	1,7464	AB
P	N. australe	1,7303	AB
F	N. luteum	1,7167	ABC
F	N. australe	1,7059	ABC
P	N. luteum	1,7024	ABCD
J	N. australe	1,5704	ABCDE
V	N. mediterraneum	1,5323	ABCDEF
J	N. luteum	1,5088	ABCDEF
F	N. parvum	1,4697	ABCDEFG
V	E. lata	1,4361	BCDEFG
V	N. parvum	1,3659	CDEFGH
v	D. seriata	1,3446	DEFGHI
F	N. mediterraneum	1,3375	EFGHI
J	N. parvum	1,3278	EFGHIJ
P	N. parvum	1,3073	EFGHIJK
F	N. mediterraneum	1,2556	EFGHIJK
F	E. lata	1,2525	EFGHIJK
J	N. mediterraneum	1,2369	FGHIJK
J	D. seriata	1,1592	GHIJKL
P	D. seriata	1,0311	HIJKLM
P	E. lata	1,0071	IJKLM
F	D. seriata	0,9827	JKLM
J	E. lata	0,9681	KLMN
P	D. olivarum	0,8471	LMN
V	E. leptoplaca	0,8069	MN
P	E. leptoplaca	0,7373	MN
V	D. olivarum	0,729	MN
F	E. leptoplaca	0,696	MN
J	E. leptoplaca	0,686	MN
F	D. olivarum	0,6256	MN

Per altra banda, el seguiment dels símptomes, amb la finalitat d'associar la rapidesa en l'aparició de gomosis amb la virulència dels fongs ens ha permès relacionar aquets paràmetre qualitatiu amb els anteriorment analitzats. La figura presentada a continuació demostra novament que els fongs que han mostrat símptomes externs, d'aparició de goma, amb més rapidesa han estat els *Neofussicocum* spp, tots els arbres inoculats amb fongs del grup *Neofussicocum* spp, mostraren símptomes durant el primer mes després de ser inoculats, amb menor mesura els *Diplodia* spp i amb una diferència clara respecte a *E. lata* i *E. leptoplaca* que mostrà els símptomes molt lentament.

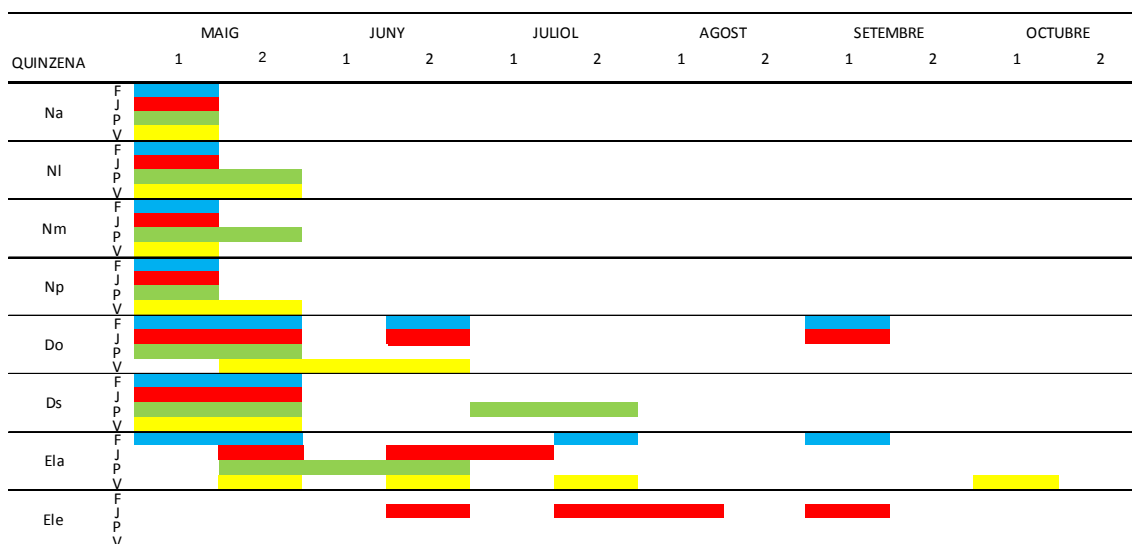


Figura 24: Representació gràfica de la aparició en el temps de la simptomatologia de gomosis als ametllers inoculats.

4.3 Discussió

Dins la varietat de fongs i hostes que s'han citat als treballs referents als anomenats fongs de la fusta és important remarcar, per les implicacions agronòmiques que té, la variació de la virulència dels fongs atribuïda a diferents soques fúngiques o a efectes de l'ambient. Un bon exemple d'això són

les cites de *D. seriata*, aïllat en múltiples ocasions a vinya d'Europa i associat al seu decaïment (Úrbez-Torres et al. 2006). Mentre *D. seriata* és considerat un patogen virulent a Xile, Austràlia i Sud-àfrica (Úrbez-Torres et al. 2006), ha estat qualificat com un patogen dèbil a Portugal (Phillips 2002) inclús com a paràsit secundari o sapròfit a Austràlia (Taylor et al. 2005). De fet, les espècies de la família Botryosphaeriaceae, les quals distribueixen en zones de climes temperats i tropicals arreu del planeta, majoritàriament s'han considerat endòfits i s'han trobat en gairebé totes les plantes llenyoses que s'han analitzat, tant en angiospermes com en gimnospermes (Slippers i Wingfield 2007). Generalment les seves espècies s'han descrit com sapròfits (Smith et al. 1996), i ocasionalment paràsits, causant xancres, decaïment i altres malalties en hostes llenyosos (Michailides 1991; Phillips 2002; Slippers et al. 2004, Denman et al. 2003). De fet, Von Arx i Müller (1954) havien descrit les espècies de Botryosphaeriaceae com cosmopolites causants de xancres en un ampli nombre d'hostes llenyosos.

Els resultats obtinguts de l'assaig de patogenicitat dels fongs de fusta podríem qualificar-los com a els esperats, en quant a que el grup dels *Neofussicocum* ha esdevingut el més patogen i en concret *N. australe*, fet que ja fou demostrat per Martos (2008) en els seus estudis de patogenicitat de *N. parvum* i *N. luteum* a vinya i Nieto et al. (2010) en els seus assajos preliminars amb els mateixos fongs i utilitzant l'ametller com a hoste.

Per altra banda, la lleu patogenicitat de les Diatrypaceae, ha sorprès en el cas de la *E. lata* fong causant de l'èutipiosis de la vinya, ja que es tracta d'una malaltia prou coneguda i estudiada a la vinya, si bé és cert que *E. lata* ha demostrat un cert caràcter patogen a diferència de *E. leptoplaca*, per afirmar quin és el seu paper en el decaïment dels ametllers, s'hauria d'aprofundir en les possibles interaccions entre la vinya i l'ametller i quina és la virulència de *E. lata*, i si es tracta d'un fong realment generalista o no.

En quant a l'efecte varietal a la patogenicitat dels fongs, com s'ha vist, existeixen diferències significatives en les interaccions varietat x patogen. No obstant això, considerant el número de casos de major o menor amplària de les

lesions després de la inoculació (taula 7) hem pogut considerar Vivot com la varietat més sensible i Pons com la més resistent.

5. CONCLUSIONS

5 CONCLUSIONS

- La interacció varietat x fong ha estat significativa, indicant que hi ha diferències de susceptibilitat entre varietats d'ametller depenent del patogen inoculat.
- Tots els fongs van causar lesions de longitud significativament més gran que les obtingudes en els controls, per tant afirmam que tots ells tenen un caràcter patogen i per tant una probable implicació en el decaïment dels ametllers, exceptuant les varietats Jordi i Pons inoculades amb *E. leptoplaca* i la varietat Pons inoculada amb *D. olivarum*.
- *Eutypa leptoplaca* a la varietat Jordi i Pons, *Diplodia olivarum* a la varietat Pons, no han causat xancres significativament diferents al control.
- En totes les varietats d'ametller es va observar que les espècies de fongs del gènere *Neofusicoccum* van ser les més virulentes, mentre que les espècies *D. olivarum* i *E. leptoplaca* van ser les menys virulentes.
- Les varietats Pons i Jordi han presentat els xancres de menor tamany per a la majoria de fongs.
- La varietat Vivot ha esdevingut la més sensible a tots el fongs manco a *Neofussicoccum parvum*.
- S'ha demostrat que la rapidesa de l'emissió de goma per part de l'arbre al voltant de la lesió causada pel fong es relaciona directament amb la virulència d'aquest, calculada com a longitud de la lesió interna.
- Amb la confirmació d'aquests fongs com a patògens, serà necessari en un futur respondre les següents preguntes: influència de l'estrés hídric i estat nutricional, influència de l'augment de la temperatura global, a més de propagació i cicles del fongs causants de la malaltia.

6. BIBLIOGRAFIA

6 BIBLIOGRAFIA

- AGARWAL, D.K., CHOWDHRY, P.N., SARBHOY, A.K. 1992. Contributions to our knowledge of *Aplosporella*. Mycotaxon 45: 389-403
- AGUSTÍ, M. . 2004. Fruticultura. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España. 496 pp.
- CARTER, M.V. 1957. *Eutypa armeniaca* Hansf. & Carter, sp. nov., an airborne vascular pathogen of *Prunus armeniaca* L. in southern Australia. Australian Journal of Botany 5: 21-35.
- CARTER, M.V. 1982. Additional hosts of *Eutypa armeniaca* in Australia. Australasian Plant Pathology 11: 46-48
- CHIARAPPA, L. 2000. Esca (black measles) an over review. Phytopathologia Mediterranea 39:11-15.
- DAMM, U., CROUS, P.W. y FOURIE, P.H. 2007a. Botryosphaeriaceae as potential pathogens of *Prunus* species in South Africa, with descriptions of *Diplodia africana* and *Lasiodiplodia plurivora* sp. nov. Mycologia 99: 664-680.
- DAMM, U., CROUS, P.W. y FOURIE, P.H. 2008a. A bitunicate ascus mechanism in the Calosphaeriaceae, with novel species of *Jattaea* and *Calosphaeria* on *Prunus* wood. Persoonia 20: 39-52.
- DAMM, U., CROUS, P.W. y FOURIE, P.H. 2009. Stone fruit trees - an inoculum source of grapevine trunk disease pathogens? Phytopathologia Mediterranea 48: 175-176.
- DAMM, U., FOURIE, P.H. y CROUS, P.W. 2007b. *Aplosporella prunicola*, a novel species of anamorphic Botryosphaeriaceae. Fungal Diversity 27: 35-43.
- DAMM, U., FOURIE, P.H. y CROUS, P.W. 2010. Coniochaeta (Lecythophora), Collophora gen. nov. and Phaeomoniella species associated with wood necroses of *Prunus* trees. Persoonia 24: 60-80.
- DAMM, U., MOSTERT, L., CROUS, P.W. y FOURIE, P.H. 2008b. Novel *Phaeoacremonium* species associated with necrotic wood of *Prunus* trees. Persoonia 20: 87-102.

- DAMM, U., VERKLEY, G.J.M., CROUS, P.W., FOURIE, P.H., HAEGI, A. y RICCIONI, L. 2008c. *Paraconiothyrium* species on stone fruit trees and other woody hosts, including *P. variable* and *P. africanum* spp. nov. *Persoonia* 20: 9-17.
- DENMAN, S., CROUS, P. W., GROENEWALD J. G., SLIPPERS B., WINGFIELD B.D., WINGFIELD M.J. 2003 Circumscription of *Botryosphaeria* species associated with Proteaceae based on morphology and DNA sequence data. *Mycologia* 95: 294-307.
- FAOSTAT. División de estadística de la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Disponible *online*: <http://faostat.fao.org> (Consulta:17 de abril de 2013)
- FARR, D.F., BILLS, G.F., CHAMURIS, G.P., ROSSMAN, A.Y. 1989. Fungi on plants and plant products in the United States. St Paul, American Phytopathological Society.
- FELIPE, J.A. 2000. El almendro: I El material vegetal. Ed. Mira, Zaragoza, España. 464 pp.
- GARCÍA, F., TORRES, E., MARTOS, S., CALVET, C., CAMPRUBÍ, A., ESTAÚN V., LUQUE, J. 2005. Enfermedades de la madera de la vid en Cataluña. *Viticultura/Enología profesional*, 99:19-28.
- GRAMAJE, D., AGUSTÍ-BRISACH, C., PÉREZ-SIERRA, A., MORALEJO, E., OLMO, D., MOSTERT, L., DAMM, U., ARMENGOL, J. 2012 Fungal trunk pathogens associated with wood decay of almond trees on Mallorca (Spain) *Persoonia* 28, 2012: 1-13
- GRANITI, A., SURICO, G. Y MUGNAI, L. 2000. Esca of grapevine: a disease complex or a complex of diseases. *Phytopathologia Mediterranea* 39:16-20.
- GURE, A., SLIPPERS, B., STENLID, A. 2005. Seed-borne *Botryosphaeria* spp. from native *Prunus* and *Podocarpus* trees in Ethiopia, with a description of the anamorph *Diplodia rosulata* sp. nov. *Mycological Research* 109: 1005-1014.
- HAWKSWORTH, D.L., GIBSON, I.A.S., GAMS W. 1976. *Phialophora parasitica* associated with disease conditions in various trees. *Transactions of the British Mycological Society* 66: 427-431.
- INDERBITZIN, P., BOSTOCK, R.M., TROUILLAS, F.P., MICHAILIDES, T.J. 2010. A six locus phylogeny reveals high species diversity in Botryosphaeriaceae from California almond. *Mycologia* 102: 1350-1368.
- KESTER, D. E., GRADZIEL, T. M., GRASSELLY, C. 1990. Almonds (*Prunus*) en Moore, J. N. y Ballington, J. R. (Ed.), Genetic resources of temperate fruit and nut CROPS. ACTA HORT. 290 :701-758.

- LARIGNON, P. Y DUBOS B., 1987. Les sequences parasitaires impliquées dans le syndrome de l'esca. Symposium sur la lutte intégrée en viticulture. Logrono, Portugal, 3-5 marzo 1987.
- LAUNDON, G.F. 1973. *Botryosphaeria obtusa*, *B. stevensii* and *Othia spireae* in New Zealand. Transactions of the British Mycological Society 61: 369-374.
- MARTOS, S. 2008. El decaimiento de la vid. Enfermedades de la madera relacionadas con hongos de la familia Botryosphaeriaceae. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona.
- MATEO-SAGASTA, E. 2000a. Chancro común causado por *Nectria* spp. en frutales de pepita. En Montesinos, E. et al. (Edit.): Enfermedades de los frutales de pepita y hueso 71. Sociedad Española de Fitopatología y Mundi-Prensa, Madrid, España. 148 pp.
- MATEO-SAGASTA, E. 2000b. Chancro y secas causados por *Valsa* sp. En Montesinos, E. et al. (Edit.): Enfermedades de los frutales de pepita y hueso 73. Sociedad Española de Fitopatología y Mundi-Prensa, Madrid, España. 148 pp.
- MATEO-SAGASTA, E. 2000c. *Eutypa lata* en frutales de hueso. En Montesinos, E. et al. (Edit.): Enfermedades de los frutales de pepita y hueso 74. Sociedad Española de Fitopatología y Mundi-Prensa, Madrid, España. 148 pp.
- MCALPINE, D. 1902. Fungus diseases of stone-fruit trees in Australia and their treatment. Agriculture Department of Victoria, Melbourne, Australia.
- MELGAREJO, P. 2000. Mal del plomo (*Chondrostereum purpureum*). En Montesinos, E. et al. (Edit.): Enfermedades de los frutales de pepita y hueso 74-75. Sociedad Española de Fitopatología y Mundi-Prensa, Madrid, España. 148 pp.
- MICHAILIDES T. J. 1991 Pathogenicity, distribution, sources of inoculum, and infection courts of *Botryosphaeria dothidea* on Pistachio. Phytopathology 81: 566-573.
- MIARNAU, X. 2010. Aspectos importantes en la plantaciones de almendro en regadio. Fruticultura, numero extraordinari.
- MOLLER, W. 1974. A dying arm disease of grape in California. Plant Disease Reporter 58, 869-871.
- MORAL, J., MUÑOZ-DIEZ, 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
- MOSTERT, L., GROENEWALD, J.Z., SUMMERBELL, R.C., GAMS, W., CROUS, P.W. 2006. Taxonomy and pathology of *Togninia* (Diaporthales) and its *Phaeoacremonium* anamorphs. Studies in Mycology 54: 1-115.

- NIETO, A., SASTRE-CONDE I., MORALEJO, E., **OLMO, D.** 2010. Estudios de patogenicidad de hongos de madera en variedades de almendro de Mallorca. XV Congreso de la sociedad española de fitopatología. Vitoria (Spain), 27 de Septiembre ñ 1 de octubre de 2010
- PALAZÓN, J. 1968. Variedades de almendras, en Diez temas sobre frutos secos. Publicaciones de Capacitación Agraria. Ministerio de Agricultura Madrid, España. pp. 103-125
- PALAZÓN, J. 1970. El almendro en Baleares. Instituto nacional de Investigaciones Agronómicas. pp. 154.
- PHILLIPS, A.J.L. 1998. *Botryosphaeria dothidea* and other fungi associated with excoriose and dieback of grapevines in Portugal. Journal of Phytopathology 146: 327-332.
- PHILLIPS, A.J.L. 2002. *Botryosphaeria* species associated with diseases of grapevines in Portugal. Phytopathologia Mediterranea 41: 318.
- PITT, W. M., TROUILLAS, F. P., GUBLER, W. D., SAVOCCHIA, S., I SOSNOWSKI, M. R. 2013. Pathogenicity of diatrypaceous fungi on grapevines in Australia. Plant Dis. 97:749-756.
- POPUSHOI, I.S. 1971. Microflora plodovykh derevyayev SSSR (Mycoflora of fruit trees in the USSR). Moscow.
- PONS, A. I SIMONET, B., 1970. Planificación del cultivo del almendro. Dirección General de Agricultura, Jefatura Agronómica de Baleares. Imp. Jorvich. Palma de Mallorca, España. 52 pp.
- PUSEY, P.L., KITAJIMA, H., WU, Y. 1995. Fungal gummosis. In: Ogawa, J.M., Zehr, E.I., Bird, G.W., Ritchie, D.F., Uriu, K., Uyemoto, J.K. (eds), Compendium of stone fruit diseases: 98. St Paul, APS Press.
- QUAGLIA M., MORETTI, M., BUONAURO, R. 2013 Molecular characterization of *Diplodia seriata*, a new pathogen of *Prunus laurocerasus* in Italy. Phytoparasitica. DOI 10.1007/s12600-013-0350-9
- QUINN, G.P I KEOUGH, M.J. 2002. Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge University Press, Cambridge (Gran Bretanya). 537 pp.
- RALLO, J. Y SACARÉS, J. 1997. La història de l'almetler a Mallorca Mitjançant la bibliografia. Ed. De pinte en Ample. Lluçmajor, España. 52 pp.
- RUBÍ, V. 1980. El Almendro. Ed. Delegación del Ministerio de Agricultura en Baleares. Dilagro, Lérida, España. 267 pp.
- RUMBOS, I.C. 1986. *Phialophora parasitica*, causal agent of cherry dieback. Journal of Phytopathology 117: 283ñ287.

- SLIPPERS, B., SMIT, W.A., CROUS, P.W., COUTINHO, T.A., WINGFIELD, B.D., WINGFIELD, M.J. 2007. Taxonomy, phylogeny and identification of Botryosphaeriaceae associated with pome and stone fruit trees in South African and other regions of the world. *Plant Pathology* 56: 128-139.
- SMIT, W., VILJOEN, C., WINGFIELD, B., WINGFIELD, M., CALITZ, F. 1996. A new canker disease of apple, pear, and plum rootstocks caused by *Diaporthe ambigua* in South Africa. *Plant Disease* 80: 1331-1335.
- SUTTON, B.C. 1980. The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew.
- TAYLOR, A., HARDY, G. E. ST. J., WOOD, P., Y BURGESS, T. 2005. Identification and pathogenicity of *Botryosphaeria* species associated with grapevine decline in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 34:187-195.
- TROUILLAS, F.P., ÚRBEZ-TORRES, J.R., GUBLER, W.D. 2010. Diversity of diatrypaceous fungi associated with grapevine canker disease in California. *Mycologia* 102: 319-336.
- TUSET, J.J. 2000. Chancros en ramas causados por *Phomopsis* spp. En Montesinos, E. et al. (Edit.): Enfermedades de los frutales de pepita y hueso 72-73. Sociedad Española de Fitopatología y Mundi-Prensa, Madrid, España. 148 pp.
- TUSET, J.J., PORTILLA, M.T. 1989. Taxonomic status of *Fusicoccum amygdali* and *Phomopsis amygdalina*. *Canadian Journal of Botany* 67: 1275-1280.
- UECKER, F.A. 1988. A world list of *Phomopsis* names with notes on nomenclature, morphology, and biology. *Mycologia Memoir* No. 13. Cramer, Berlin.
- ÚRBEZ-TORRES J. R., LEAVITT G. M., VOEGEL T. M. Y GUBLER W. D. 2006. Identification and Distribution of *Botryosphaeria* spp. Associated with Grapevine Cankers in California. *Plant Disease* 90: 1490-1503
- VON ARX J, MÜLLER E. 1975 A re-evaluation of the bitunicate ascomycetes with keys to families and genera. *Studies in Mycology* 9:1-159.
- WOLLENWEBER, H.W. 1941. *Diplodia sarmentorum* Fries und ihre Verbreitung. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, Abteilung 2*, 103: 347-357.
- WOLLENWEBER HW, HOCHAPFEL H. 1941. Beiträge zur Kenntnis parasitärer und saprophytischer Pilze 1. *Diplodia* und ihre Beziehung zur Fruchtfäule. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 12: 167-250.