

## RESUMEN

El Repilo del olivo, causado por el hongo *Spilocaea oleagina* (Castagne) Hughes (Sinónimo de *Cycloconium oleaginum*) es una enfermedad extendida por toda la región Mediterránea, así como por otras áreas templadas y subtropicales del mundo donde se cultiva el olivo. Esta enfermedad provoca graves defoliaciones prematuras que conllevan el debilitamiento progresivo del árbol y una disminución importante de productividad. Además hay que considerar el coste económico y medioambiental de los tratamientos fungicidas rutinarios utilizados para su control. La utilización de fungicidas protectores, especialmente cúpricos, para el control del Repilo constituye una práctica habitual del cultivo del olivo. Sin embargo, a pesar de la importancia de la lucha química contra este hongo, pocos estudios se han realizado respecto al tema y la información sobre la eficacia comparativa de fungicidas en condiciones controladas es escasa o basada sobre evaluaciones en condiciones de campo. Además, otro parámetro de gran importancia para ensayos de eficacia de fungicidas cúpricos es su resistencia al lavado por lluvia. Por ello, se planteó el presente trabajo cuyos objetivos fueron conocer el efecto de diferentes fungicidas sobre la germinación *in vitro* de conidias y sobre la eficacia preventiva y curativa frente al patógeno en plantones de olivo previamente inoculados y en olivos adultos en campo, evaluar la persistencia del cobre en hojas separadas lavadas por agitación en matraces, en plantones y en olivos lavados por lluvia, estudiar la distribución del cobre en la copa de los árboles y por último determinar el posible efecto fitotóxico de estos productos sobre la caída de hojas y la fructificación del olivo. Los experimentos del efecto sobre la germinación de *S. oleagina* han mostrado que los fungicidas cúpricos difirieron significativamente, con una  $DI_{50}$  oscilando entre 5.7 y 158.8 mg Cu/L, indicando así que la eficacia *in vitro* de estos productos no depende únicamente de la concentración de cobre, sino también de la formulación del producto comercial. La evaluación de la eficacia en plantones mostró un efecto preventivo muy claro, llegando a inhibir casi el 100% de la infección en la mayoría de los casos. Este efecto se mantuvo aunque con menor intensidad, hasta 14 días después de la inoculación para la mayoría de los fungicidas evaluados, indicando una posible capacidad de inducción de resistencia de los productos cúpricos. En los ensayos de campo se observó una baja eficacia de los fungicidas frente al Repilo, debido a las bajas dosis de cobre aplicadas. Asimismo la distribución del cobre en la copa del olivo no fue uniforme, existiendo menor concentración de cobre en las partes interiores, altas o laterales del árbol. La persistencia de varios fungicidas cúpricos se ha evaluado utilizando el método de extracción de cobre mediante incubación de hojas en

ácido HCl 0.1N y posterior medición del cobre por espectrofotometría de absorción atómica. Nuestros resultados revelaron diferencias entre fungicidas respecto a su resistencia al lavado. Estas diferencias variaron en función del tipo de lavado aplicado a las hojas de olivo y de la formulación comercial del producto, pero no del tipo de sal de cobre. Entre los productos que dieron mayor persistencia destacaron Cuprocol (oxicloruro), Cuproflow (oxicloruro), Nordox (óxido) y Glufer (gluconato), aunque su persistencia dependió del método de lavado aplicado. En cuanto los efectos secundarios de los productos cúpricos evaluados, ninguno de ellos resultó fitotóxico sobre hojas sanas de olivo. Únicamente, el sulfato de cobre puro produjo una caída selectiva de hojas infectadas de Repilo. Todos los fungicidas cúpricos comerciales y el sulfato de cobre puro no tuvieron ningún efecto significativo ni sobre la caída de inflorescencias ni sobre el cuajado del fruto.

## SUMMARY

Olive leaf spot or scab, caused by the fungus *Spilocaea oleagina* (= *Cycloconium oleaginum*), is widespread in the Mediterranean basin and other world regions where olive trees are grown. The disease induces a premature leaf fall bearing a progressive tree weakening and yield decrease. Also, it is necessary to take in account the economical and environmental costs derived from fungicide treatments used for disease control. The use of protective fungicides, particularly copper compounds, against olive scab is a customary practice for growing olives in Spain. Besides the importance of fungicides for disease control, information about comparative efficacy of fungicides under controlled conditions is very scarce and it usually comes from field observations. A factor greatly influencing protective efficacy of fungicides is their persistence on olive leaves or resistance to rain washing. The main objectives of this work were: a) to know the effect of different copper fungicides on germination of conidia of *S. oleagina*, b) to determine the protective and curative efficacy of copper fungicides applied on rooted olive plants and under field conditions, c) to evaluate the persistence of copper on olive leaves from different origins treated with several fungicides and washed by shaken or by natural rain, d) to study copper distribution in the tree canopy, and e) to determine the phytotoxic effect of copper compounds on leaf fall and fruit setting. Copper fungicides significantly differed by their effect on germination of conidia of *S. oleagina*. The estimated  $CI_{50}$  varied from 5.7 up to 158.8 mg / L, suggesting that the efficacy of copper fungicides depends on commercial formulation, besides of copper concentration. The preventive effect of fungicides was very good, reaching almost 100% reduction of infection for most products. All fungicides also showed a slight curative effect, even up to 14 days after inoculation, suggesting a possible induction of systemic acquired resistance in olive trees by copper compounds. There was a low efficacy of fungicides against olive scab under field conditions, probably due to low doses of copper applied. Copper distribution in the olive canopy was not uniform, being the copper concentration lower on leaves from internal, higher or lateral parts of the canopy. The persistence of copper on olive leaves was evaluated after incubation of the leaves in 0.1N HCl and determination of copper concentration in the solution by atomic absorption spectrometry. Results showed significant differences amongst fungicides in relation to washing resistance. These differences varied with the washing type applied to the olive leaves, and with the commercial formulation of the product, but not with the type of copper salt. Fungicides with higher persistence were Cuprocol (oxichloride), Cuproflow (oxichloride), Nordox (oxide), and Glufer (gluconate). However, their persistence

depended on washing method applied. No one of commercial copper fungicides evaluated was phytotoxic to healthy olive leaves, although pure copper sulfate caused a serious fall of scab-affected leaves. Commercial fungicides and pure copper sulfate did not affected to flowering and to fruit setting in olive trees.

## RESUMÉ

L'oeil de paon est une maladie de l'olivier causée par le champignon *Spilocaea oleagina* (Castagne) (Synonyme de *Cyloconium oleaginum*). Elle est étendue dans toute la région Méditerranéenne, ainsi que d'autres endroits tempérés et subtropicales du monde d'où se cultive l'olivier. Cette maladie provoque de graves défoliations prématurées qui engendrent l'affaiblissement progressif de l'arbre et une importante diminution de la productivité. En plus il faut prendre en considération le coût économique et environnemental des traitements fongicides utilisés pour le contrôle de ladite maladie. L'utilisation de fongicides protecteurs, spécialement cupriques, pour le contrôle de l'oeil de paon constitue une pratique habituelle dans la culture de l'olivier. Cependant, malgré l'importance de la lutte chimique contre ce champignon, peu d'études ont été réalisées dans ce sens et l'information existante sur la comparaison de l'efficacité de fongicides en conditions contrôlées est rare ou basée sur des évaluations de champ. En plus, un autre paramètre de grande importance pour des essais d'efficacité des fongicides c'est la résistance au lavage de la pluie. Pour cela, il a été proposé le présent travail dont les objectifs sont: Connaître l'effet de différents fongicides sur la germination *in vitro* des conidies, sur l'efficacité préventive et curative sur le pathogène sur des plants d'olivier inoculés au préalable ainsi que sur des oliviers adultes au champ, évaluer la persistance du cuivre dans des feuilles séparées lavées par agitation dans des érlenmeyers, dans des feuilles issues de plants et d'oliviers adultes soumis au lavage de la pluie, étudier la distribution du cuivre dans la frondaison de l'arbre et en fin déterminer la possibilité d'effet fitotoxique de ces produits sur la chute des feuilles et sur la fructification. Les essais de l'effet sur la germination de *S. oleagina* ont montré que les fongicides cupriques sont différents significativement, avec une  $DI_{50}$  oscillant entre 5.7 et 158.8 mg Cu/L, indiquant ainsi que l'efficacité *in vitro* de ces produits ne dépend pas seulement de la concentration du cuivre, mais aussi de la formulation du produit commercial. L'évaluation de l'efficacité sur les plants a montré un effet préventif très clair arrivant à inhiber dans la majorité des cas 100% de la infection. Cet effet s'est maintenu, même si avec une faible intensité, jusqu'à 14 jours après la inoculation pour la majorité des fongicides évalués. Ce qui indique une possible capacité d'induction de résistance par les produits cupriques. Dans les essais au champ, il a été observé une baisse de l'efficacité des fongicides sur la maladie, due aux faibles doses appliquées. Dans ce sens, la distribution du cuivre dans la frondaison de l'olivier n'a pas été uniforme, montrant une faible concentration du cuivre dans les parties intérieures, hautes ou latérales de l'arbre. La persistance de divers fongicides cupriques a été évaluée utilisant la méthode d'extraction

de cuivre par incubation des feuilles dans l'acide chlorhydrique HCl 0.1N et postérieure mesure du cuivre par spectrophotométrie à absorption atomique. Nos résultats ont révélé des différences significatives par rapport à leur résistance au lavage. Ces différences varient en fonction du type de lavage appliqué aux feuilles d'olivier et de la formulation du produit commercial, mais non du type de sel du cuivre. Parmi les produits qui ont donné meilleur résultat de persistance on distingue Cuprocol (oxichlorure), Cuproflow (oxichlorure), Nordox (oxyde) et Glufer (gluconate), même si leur persistance dépend de la méthode de lavage utilisée. Quant aux effets secondaires des produits cupriques évalués, aucun d'eux ne s'est montré phytotoxique sur les feuilles saines. Uniquement, le sulfate de cuivre pur qui a entraîné une chute sélective de feuilles infectées par l'œil de paon. Aussi, tous les autres fongicides cupriques commerciaux et le sulfate de cuivre pur n'ont manifesté aucun effet significatif ni sur la chute des inflorescences ni sur la nouaison du fruit.