

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



Estudio de transmisión del hongo *Calosphaeria pulchella* por las heridas de poda en cerezo

TRABAJO FIN DE GRADO EN GRADO EN INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL MEDIO RURAL

ALUMNO/A:

JOSÉ CARLOS GONZÁLEZ PLANELLS

TUTOR/A:

JOSEP ARMENGOL FORTÍ

CO-TUTOR/CO-TUTORA:

MÓNICA BERBEGAL MARTÍNEZ

Curso Académico: 2014/2015

VALENCIA, 06/07/2015



Estudio de transmisión del hongo *Calosphaeria pulchella* por las heridas de poda en cerezo.

RESUMEN:

El hongo *Calosphaeria pulchella* afecta al cultivo del cerezo en Villena (provincia de Alicante) causando desecamiento y muerte de ramas. En este trabajo se estudiaron aspectos relacionados con la posible entrada del hongo en los árboles por las heridas de poda. Se realizaron ensayos de campo para determinar el papel de las tijeras de poda en la transmisión del patógeno y la infección de las heridas. Se evaluó el efecto que tiene sobre la propagación de la enfermedad realizar la poda de verano, así como un estudio de temperaturas donde se determinó el rango de crecimiento del hongo, así como la temperatura óptima de crecimiento. Los resultados mostraron que el hongo *C. pulchella* tiene un rango de crecimiento entre 5 y 35°C, mostrando una temperatura óptima de crecimiento variable. De los cuatro aislados estudiados, tres tenían una temperatura óptima de crecimiento alrededor de los 27°C, y un aislado tenía una temperatura óptima inferior: 24,26°C. El estudio de la transmisión de la enfermedad mediante las herramientas empleadas para la poda de verano mostró que *C. pulchella* se transmite a los árboles a partir del uso de tijeras no desinfectadas, entrando el hongo a partir de las heridas de poda que éstas generan.

Palabras claves: *Calosphaeria pulchella*, cerezo, epidemiología, poda, temperatura.

Alumno/a: José Carlos González Planells

Prof.D. /Prof.Dña.: Josep Armengol Fortí

Prof.D. /Prof.Dña: Mónica Berbegal Martínez

Localidad: Valencia, Julio de 2015

ABSTRACT:

The fungus *Calosphaeria pulchella* affects cherry crops in Villena (Alicante province) causing decline and death of branches. In this work, different aspects related with the infection of the trees through pruning wounds were studied. Field trials were set up in order to determine the role of pruning shears on pathogen spread and plant infection. Pruning performed in summer was studied and, moreover, a temperature growth study was performed to determine the range of temperatures for mycelial growth and the optimum growth temperature. The results obtained showed that the fungus *C. pulchella* has a growth range between 5 and 35°C, with a variable optimum growth temperature. From the four isolates studied, three had an optimum growth temperature of about 27°C, and one isolate had a lower optimum growth temperature: 24,26°C. The study about pathogen dispersal and infection by using pruning shears in summer demonstrated that *C. pulchella* can infect cherry trees by using contaminated shears, being the pruning wounds the main way for infection.

Keywords: *Calosphaeria pulchella*, cherry, epidemiology, pruning, temperature.

Student: José Carlos González Planells

Prof.M. /Prof.Ms.: Josep Armengol Fortí

Prof.M. /Prof.Ms: Mónica Berbegal Martínez

Location: Valencia, July de 2015

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto es el resultado del esfuerzo conjunto de todos los que formamos el grupo de trabajo. Por ello, agradezco a Josep Armengol toda su dedicación y paciencia, así como todos los conocimientos que me ha aportado para aprender y mejorar, tanto en el ámbito académico como personal. Por otro lado quiero agradecer a Mónica Berbegal por toda la ayuda y el apoyo que me ha dado en el presente trabajo, así como a Pepe y a toda la Unidad de Patología Vegetal del departamento de Ecosistemas Agroforestales de la Universidad Politécnica de Valencia. También me gustaría agradecer a la Cooperativa Agrícola de Villena por poner a nuestra disposición parcelas de cerezo para los trabajos de campo.

A mis padres y familia quienes a lo largo de toda mi vida han apoyado y motivado mi formación académica, creyendo en mí en todo momento. Me gustaría agradecer también a Natalia, que con tu apoyo constante conseguí levantarme en más de una ocasión. Y por último a mi segunda familia, compuesta por Sergio, Adrián, Nico, Luis y Andrea entre otros, gracias por todos estos años increíbles a vuestro lado y por hacer de la universidad un segundo hogar.

I	INTRODUCCIÓN	1
1.1	EL CULTIVO DEL CEREZO	1
1.1.1	ORIGEN, CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y CARACTERIZACIÓN AGRNÓMICA	1
1.1.2	IMPORTANCIA ECONÓMICA	3
1.1.3	CONDICIONES DE CULTIVO DEL CEREZO Y SU ADAPTACIÓN ECOLÓGICA	4
1.1.3.1	PLANTACIÓN	4
1.1.3.1.2	ÉPOCA DE PLANTACIÓN	5
1.1.3.2.1	ADAPTACIONES ECOLÓGICAS	6
1.1.3.2.2	CONDICIONES AMBIENTALES EN LA MONTAÑA DE ALICANTE	7
1.1.4	NUTRICIÓN Y NECESIDADES HÍDRICAS	7
1.1.5	FLORACIÓN, POLINIZACIÓN Y FRUCTIFICACIÓN	8
1.1.6.1	PODA Y FORMACIÓN	10
1.1.7	ENFERMEDADES	11
II	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVOS	19
III	FASE EXPERIMENTAL	20
III.1	ESTUDIO DEL CRECIMIENTO MICELIAR DE <i>CALOSPHERIA PULCHELLA</i> A DIFERENTES TEMPERATURAS	20
3.1.1	MATERIAL Y MÉTODOS	20
3.1.1.1	AISLADOS FÚNGICOS UTILIZADOS	20
3.1.1.2	MÉTODO DE INCUBACIÓN	21
3.1.1.3	EVALUACIÓN	21

3.1.2	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
III.2	ESTUDIO DE LA INFECCIÓN DE CEREZOS POR <i>CALOSPHERIA PULCHELLA</i> EN HERIDAS DE PODA DE VERANO	27
3.2.1	MATERIAL Y MÉTODOS	27
3.2.1.1	LOCALIZACIÓN DE LOS ENSAYOS	27
3.2.1.2	REALIZACIÓN DE LOS ENSAYOS	27
3.2.1.2.1	DISEÑO DEL EXPERIMENTO	27
3.2.2.2.2	FECHA DEL EXPERIMENTO	28
3.2.1.3	EVALUACIÓN	28
3.2.2	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
IV	DISCUSIÓN GENERAL	
4.1	DISCUSIÓN GENERAL	
V	CONCLUSIONES	39
5.1	CONCLUSIONES	
VI	BIBLIOGRAFÍA	40
6.1	BIBLIOGRAFÍA	

Tabla 1	Superficie y producción de cerezas en los principales países productores.	4
Tabla 2	Cuadro temporal de tareas anteriores a la plantación, durante la plantación y posteriores a la plantación.	5
Tabla 3	Aislados de <i>Calosphaeria pulchella</i> procedentes de cerezo utilizados en el presente trabajo.	20
Tabla 4	Crecimiento miceliar radial en mm/día de cuatro aislados de <i>Calosphaeria pulchella</i> y su temperatura óptima de crecimiento, así como la ecuación de regresión de la curva de crecimiento.	24
Tabla 5	Porcentaje medio de aislamiento del hongo <i>Calosphaeria pulchella</i> en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 1.	30
Tabla 6	Porcentaje medio de aislamiento del hongo <i>Calosphaeria pulchella</i> en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 2.	31
Tabla 7	Comparación del porcentaje medio de aislamiento de <i>Calosphaeria pulchella</i> entre los tratamientos 1, 2 y 3, en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en los Campos 1 y 2.	32
Tabla 8	Comparación del porcentaje medio de aislamiento de <i>Calosphaeria pulchella</i> entre los tratamientos 1, 2 y 3, en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 1.	34
Tabla 9	Comparación del porcentaje medio de aislamiento de <i>Calosphaeria pulchella</i> entre los tratamientos 1, 2 y 3, en la zona interior y exterior en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 2.	36

Figura 1	Ciclo vegetativo del cerezo	10
Figura 2	En la imagen A se muestra el hongo <i>C. pulchella</i> aislado en una placa de PDA donde se puede apreciar su color rojo-rosa característico. En la imagen B se muestra la necrosis producida por <i>C. pulchella</i> en ramas de cerezos.	
Figura 3	Valores medios de crecimiento radial (mm/día) para el aislado 1786 y el aislado 1789 del hongo <i>Calosphaeria pulchella</i> , para las temperaturas 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40°C y su curva de crecimiento	25
Figura 4	Valores medios de crecimiento radial (mm/día) para el aislado 2677 y el aislado 2678 del hongo <i>Calosphaeria pulchella</i> , para las temperaturas 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40°C y su curva de crecimiento	26
Figura 5	Parcela perteneciente a la localidad de Villena donde se muestran los síntomas en árboles de cerezo provocados por la enfermedad causada por el hongo <i>C. pulchella</i>	27
Figura 6	Comparación del porcentaje medio de aislamiento de <i>Calosphaeria pulchella</i> entre la zona exterior e interior, en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 1. La línea vertical indica el error estándar	33
Figura 7	Comparación del porcentaje medio de aislamiento de <i>Calosphaeria pulchella</i> entre la zona exterior e interior, en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 2. La línea vertical indica el error estándar	33
Figura 8	Comparación del porcentaje medio de aislamiento de <i>Calosphaeria pulchella</i> entre los tratamientos 1, 2 y 3, en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 1. La línea vertical indica el error estándar	35
Figura 9	Comparación del porcentaje medio de aislamiento de <i>Calosphaeria pulchella</i> entre los tratamientos 1, 2 y 3, en la zona interior y exterior en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 2. La línea vertical indica el error estándar	36

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

1.1. El cultivo del cerezo

1.1.1. Origen, clasificación taxonómica y caracterización agronómica

La cereza es un fruto que pertenece al orden Rosales, de familia Rosaceae, subfamilia Prunoides, del género *Prunus*. Dentro del género *Prunus* encontramos dos especies características: *Prunus avium L.* haciendo referencia al cerezo silvestre, muy extendida en todo el hemisferio norte (Europa, Asia, América del Norte) y *Prunus cerasus L.* haciendo referencia al cerezo ácido o guindo (Martija-Ochoa, 2000; Agustí, 2004).

El cerezo es un árbol caducifolio, vigoroso y de gran tamaño, pudiendo alcanzar una altura de 10 a 15 metros. Las plantaciones de cerezos jóvenes tardan cerca de unos 5 años en empezar a producir de forma rentable, mientras que éstos alcanzan el máximo rendimiento a los 10 años de su plantación. Árbol de porte erecto, tronco robusto y madera de color oscuro, brillante, duro y fácil de trabajar, apreciada en la industria del mueble. Tratándose de árboles de copa expandida, constituidos por ramas. Sobre las ramas secundarias y terciarias yacen las distintas yemas, pudiendo ser éstas de madera (dando lugar a la estructura donde se desarrolla la hoja) o bien de flor (dando lugar a inflorescencias o bien grupos de flores en umbela) (Martija-Ochoa, 2000; Agustí, 2004).

En cuanto a los diferentes tipos de ramos que se presentan en el cerezo:

-Ramos de madera: Ramo de gran desarrollo y con yemas terminales y axilares de madera.

-Ramos mixtos: En las axilas de las yemas se sitúan dos yemas de flor y en el centro una yema de madera.

-Brindillas: Ramo de desarrollo limitado y débil, en el que todas sus yemas son de madera.

-Dardos: Ramo de desarrollo corto, en su extremo aparece una yema terminal con una roseta de hojas.

En España las variedades comerciales más importantes de cultivares de cerezo son:

- *Burlat*: Pertenece a la variedad Gordal, de madurez precoz, obteniéndose ésta entre mediados y finales de mayo (dependiendo de las regiones). En cuanto a la floración ésta se da a finales de marzo y mediados de abril. Fruto de forma reniforme de piel color rojo, fundente y jugoso en carne. Sensible al reventón, conservándose únicamente de tres a cuatro días.
- *Marmotte*: Pertenece a la variedad Gordal, de madurez precoz, obteniéndose ésta entre mediados y finales de mayo. La floración se da a finales de junio principios de julio. La forma del fruto es de corazón, de piel brillante y de color rojo-oscuro muy intenso. En cuanto a la carne está firme y crujiente.
- *Sunburst*: Cerezo de media estación, siendo un híbrido obtenido de `Van`x`Stella`. Se trata de un árbol muy ramificado, de vigor medio y con una rápida entrada en producción. En cuanto al fruto, se presenta de color anaranjado y púrpura, siendo grueso. Presenta gran tolerancia al agrietado y relativamente resistente al transporte. Su periodo de maduración oscila entre los 18 días a 20 días después de `Burlat`, es decir, a mediados de junio.
- *Stark Hardy Giant*: Se trata de una variedad semitardía. Presenta como forma de fruto, reniforme y redondeada, siendo de piel púrpura a negro y de carne color rojo claro. De sabor es dulce y jugoso.
- *Hedelfinger*: De madurez tardía, de principios a mediados de julio. La floración se presenta a finales de mayo. Se trata de una variedad que proporciona frutos de piel gorda y negra, en cuanto a su carne y sabor, es roja, firme y jugosa.
- *Ambrunesa*: Se trata de una variedad que presenta su origen en el valle del Jerte. Cerezo de madurez tardía, con fruto de tamaño mediano-grande, redondeado y ligeramente aplanado. En cuanto al color de piel, en su madurez es vinoso, de consistencia firme en su carne y de jugo abundante.
- *Picotas*: Dentro de las picotas encontramos: Las picotas de Pico Negro, Pico Colorado y de Pico Limón, siendo variedades autóctonas del valle del Jerte. Son variedades de madurez tardía de tamaño medio-grande.
- *Van*: Las cerezas Van son grandes y de buena calidad. Tienen forma arriñonada, pudiendo llegar a pesar hasta 9 gramos. Piel de color rojo brillante, de pulpa consistente con tono rosado.
- *Bing*: La variedad Bing da frutos de forma acorazonada. Tienen la piel de color rojo oscuro. La carne es de consistencia dura, crujiente, oscura y jugosa.

El 95% de las variedades empleadas en la llamada zona de la Montaña de Alicante, pertenecen a las variedades Burlat, Stark Hardy Giant, Van y Ambrunesa (Ramón-Llín y Martínez, 2002).

En cuanto a los patrones más comunes utilizados en los cultivos de cerezo son:

- **F 12-1:** Se trata de plantas de cerezo dulce procedentes de semilla, y gracias a esta forma de obtención presentan una gran variabilidad. Patrón adaptado a suelos fríos y profundos, destinados a las formas siguientes: tronco y semitronco. Proporciona vigor considerable a la variedad, inadecuado en plantaciones de alta densidad. Soporta bien el encharcamiento. Presenta un fructificación larga.
- **Guindos o cerezos ácidos (*Prunus cerasus*):** Se adapta bien a los suelos calizos, secos y sueltos, característicos de las zonas mediterráneas. Presenta alta sensibilidad al encharcamiento.
- **Santa Lucia 64:** Patrón de origen clonal. Vigor adecuado para plantaciones de alta densidad, donde se aclimata adecuadamente a terrenos secos. Preferible para trabajar con cerezos en formas enanas como en vaso. Presenta un fructificación rápida. Patrón utilizado en la Comunidad Valenciana.

1.1.2 Importancia económica.

La producción mundial de cerezas oscila alrededor de 2.294.455 toneladas, suponiendo un ingreso mundial de 2.786.437 euros y ocupando un área aproximadamente de 405.128 ha. (FAOSTAT, 2012)

En la Tabla 1 se muestra las cifras de superficies ocupadas por el cultivo de cerezo, así como los datos de producción.

Tabla 1: Superficie y producción de cerezas en los principales países productores (FAO 2012):

Rango	País	Producción (Euros)	Producción (t)	Área (ha)
1	Turquía	658832	480748	51132
2	Estados Unidos	527130	384646	36040
3	Irán	274086	200000	29000
4	Italia	143575	104766	30581
5	España	134850	98400	25300
6	Chile	123338	90000	16243
7	Uzbekistán	115115	84000	12000
8	Siria	112842	82341	29536
9	Ucrania	99493	72600	12400
10	Rusia	98670	72000	16000
11	Rumanía	96673	70542	7079
12	Grecia	82636	60300	12000
13	Polonia	56274	41063	10879
14	Austria	53007	38680	11249
15	China	48650	35500	8200
16	Francia	41715	30440	9173
17	Alemania	31526	23005	5207
18	Líbano	30834	22500	5043
19	Serbia	30441	22213	9300
20	Bulgaria	26740	19512	7520

En esta Tabla se aprecian los principales productores de cerezas a nivel mundial, siendo Turquía el mayor productor, con una cantidad de 480748 t anuales de producción. España se situaría como la quinta productora, con una cantidad de 98400 t de cerezas anuales, suponiendo un ingreso de 110332 euros/año y destinándose unas 25300 ha al cultivo de cerezo, de ellas un gran porcentaje se encuentra en secano, mientras que se está produciendo una tendencia al incremento de superficie en regadío (FAOSTAT, 2012).

1.1.3. Condiciones de cultivo del cerezo y su adaptación ecológica.

1.1.3.1. Plantación

Por lo general se trabaja con un marco de plantación cercano a 6x6, siendo conscientes que dicho valor depende de: del patrón, la variedad, el sistema de conducción, la poda, el tipo de suelo, el clima, el riego y la maquinaria que se utilizará.

Las líneas de plantación han de ser orientadas de Norte-Sur, aprovechándose de ese modo la máxima radiación solar (Martija-Ochoa, 2000; Agustí, 2004; Gil Liarte, 2012).

1.1.3.1.2. Época de plantación

La plantación de los cerezos, se realiza una vez que la planta entra en reposo vegetativo, es decir, entre finales de noviembre a principios de diciembre, sin embargo sería conveniente esperar hasta enero para evitar las posibles heladas invernales, ya que los patrones son sensibles a las bajas temperaturas (Ulmer, 2008; Gil Liarte, 2012). Se puede apreciar en la Tabla 2 las tareas que se realizan a lo largo del cultivo del cerezo en función del mes correspondiente.

Tabla 2. Cuadro temporal de tareas anteriores a la plantación, durante la plantación y posteriores a la plantación (Fuente: Beatriz Gil Liarte, 2012).

Operación	Mes
Subsolado	Noviembre
Labores complementarias	Noviembre
Enmiendas y abonado	Noviembre
Labor de vertedera	Noviembre
Pase de cultivador	Diciembre-Enero
Plantación	Enero
Riego de asentamiento	Enero
Colocación de protectores	Enero
Reposición de marras	Febrero y siguientes

1.1.3.2.1. Adaptaciones ecológicas

El cerezo es un árbol que se encuentra establecido en zonas templadas, zonas templado-cálidas y en las zonas subtropicales. En las latitudes de la Comunidad Valenciana, las mínimas y máximas térmicas en los cerezos no suelen presentar problemas, aunque toleran mal el excesivo calor estival, al igual que en las zonas más cálidas, el invierno puede no satisfacer las necesidades de horas frío.

El cerezo prefiere ambientes frescos y bien ventilados, especialmente en los periodos de floración y maduración.

Su cultivo se encuentra localizado en altitudes comprendidas entre 600 y 800 metros. Requiere de suelos ligeros y permeables. Tratándose de una especie exigente en agua durante el verano para una adecuada mantención de su vegetación, en áreas con pluviometría inferior a los 600 mm/anuales presenta problemas de desarrollo y producción. Los riegos han de ser abundantes y frecuentes desde el cuajado del fruto hasta la recolección, interrumpiéndose éstos cuando el árbol deja de crecer, y reiniciarlos de nuevo una vez finalizada esta etapa (Martija-Ochoa, 2000; Agustí, 2004; Gil Liarte, 2012).

En cuanto a las condiciones meteorológicas que se han de considerar son: la lluvia, el viento y las heladas.

- **La lluvia:** El cerezo se ve favorecido por suelos frescos, aunque no se adapta bien a suelos con excesiva humedad. El efecto sería una asfixia radicular provocando una subida de la savia a través del tronco produciendo derrames de resina. Lluvias abundantes en determinados momentos del ciclo del cerezo como en la floración o en la etapa del cambio de flor al fruto, pueden provocar desequilibrios fisiológicos, además de favorecer la aparición de hongos.
- **El viento:** Vientos demasiado fuertes pueden provocar graves daños ya sean físicos o de desarrollo, es decir, si los vientos son demasiado violentos durante la polinización pueden provocar un aumento de la ausencia de cuajado. El viento también puede desecar las hojas y provocar la caída de frutos, así como la propagación de plagas.
- **Las heladas:** El cerezo se trata de un árbol que resiste bien las heladas invernales, sin embargo durante la etapa de la floración estas pueden causar graves lesiones.

1.1.3.2.2 Condiciones ambientales en la Montaña de Alicante

La llamada zona de la Montaña de Alicante, está comprendida por un conjunto de poblaciones pertenecientes a la provincia de Valencia y de Alicante, por parte de la provincia de Alicante, encontramos las siguientes poblaciones: Agres, Alcocer de Planes, Alcoy, Alfafara, Almudaina, Benajama, Beniarrés, Benillup, Benimarfull, Biar, Castalla, Cocentaina, Confrifes, Cuatretondeta, Gayanes, Gorga, Ibi, Jijona, Lorcha, Millena, Monovar, Muro de Alcoy, Penaguila, Pinoso, Planes, Tollos, Vall d'Alcalá, Vall d'Ebo, Vall de Gallinera, Vall de Laguart y Villena, por parte de la provincia de Valencia encontramos Bocairente y Onteniente (Cejalvo y San Martín, 2002).

En la montaña de Alicante el clima es clasificado como mediterráneo templado. En estas zonas las temperaturas son más bajas y las precipitaciones más abundantes que en el resto de la provincia. Las temperaturas medias anuales se encuentran comprendidas entre los 13°C y 15,5°C y unas precipitaciones medias anuales comprendidas entre los 350 y 600 mm.

Es una zona en la que son raras las heladas primaverales, típicas de los climas mediterráneos (que coinciden con el periodo de floración o los primeros estadios de formación del fruto).

En la zona de la Montaña de Alicante nos encontramos con un suelo compuesto por calizas cretácicas en las montañas y calizas margas en los valles, caracterizándose en general por un alto contenido de caliza y bajo contenido en materia orgánica. Estas características obligan a utilizar el cerezo de santa lucia como patrón más recomendable, siendo éste el más empleado en la actualidad (Cejalvo, D. y San Martín, A. 2002).

1.1.4. Nutrición y necesidades hídricas

En cuanto a las necesidades de nutrientes del cerezo, éste es poco exigente en N. Contenidos elevados de dicho elemento durante la diferenciación floral, pueden provocar un aumento del desarrollo vegetativo, llevando a un aumento de la cantidad de chupones y una reducción del número de yemas de flor. Por el contrario es exigente en K, Ca y Mg (Agustí, 2004).

Hablando en términos medios, las extracciones de dichos elementos son: 8 kg de N, 3 kg de P y 10 kg de K, por tonelada de cosecha. Las dosis anuales de abonado de restitución recomendadas son de 80, 75 y 160 UF/ha, de cada elemento respectivamente. El Mg suele aportarse en cantidades de 30 UF/ha y año.

Otros elementos minerales que son necesarios en el cerezo son: azufre, cinc, manganeso, boro y hierro (Agustí, 2004; Ulmer, 2008).

El cerezo presenta una baja exigencia en agua, sus necesidades anuales se encuentran comprendidas entre 500 a 600 mm/ anuales. Inferiores a estos valores hídricos, el cultivo presentaría problemas de desarrollo y de producción.

El 80 % del cultivo de cerezo se encuentra cultivado en secano, pero son cada vez más numerosas las plantaciones en regadío, en particular con riego localizado. En general los riegos han de ser abundantes y frecuentes, desde el cuajado del fruto hasta la recolección, como ya se dijo anteriormente, realizando un parón hídrico en la etapa de crecimiento.

El riego es un factor de manejo necesario para lograr un crecimiento regular de los árboles, para un intercambio óptimo de gases para la fotosíntesis, para una correcta absorción de nutrientes del suelo, y para una óptima expansión de la pulpa de los frutos durante la elongación celular. El riego en el cerezo, se realiza por superficie o bien por riego localizado (Agustí, 2004; Gil Liarte, 2012)

1.1.5. Floración, polinización y fructificación.

El cerezo es un árbol de hoja caduca, por lo que experimenta una caída de las hojas, dándose ésta en otoño, cuando el árbol pasa a encontrarse en una fase de reposo invernal o latencia. Durante la latencia o reposo invernal, la planta no muestra ningún tipo de crecimiento. Por otro lado, las yemas entran en un estado de quiescencia, estado relacionado con las condiciones ambientales, pero de origen endógeno. Cuando el nivel de ácido abscísico desciende, se rompe la latencia y la yema brota, fenómeno que se ve favorecido por un aumento de temperaturas tras haberse superado el invierno (Agustí, 2004).

Durante el periodo de reposo invernal o latencia, el cerezo ha de satisfacer la necesidad de horas frío, cuando estas necesidades de frío invernal no son satisfechas, se presentan diversos desordenes fisiológicos, siendo éstos más graves cuanto mayor es el déficit de frío que sufren. Estos desordenes ocurren en especies frutales cultivadas en zonas templadas. Los síntomas característicos de dichos desordenes son:

- Retraso en la apertura de las yemas.
- Brotación irregular y dispersa.
- Caída de yemas.

Esto quiere decir que durante un periodo de tiempo más o menos largo los árboles deben estar sometidos a temperaturas suficientemente bajas, considerándose eficaces las inferiores a 7°C.

Pasado el invierno y seguido del consecuente aumento de las temperaturas, van apareciendo los primeros síntomas de actividad en la parte aérea de la planta. El cerezo presenta una cualidad, y es que las yemas florales se abren antes que las yemas de madera, por lo que se produce la aparición de las hojas después de haberse producido previamente la floración del árbol. La época de floración de los cerezos, es un factor que depende de las variedades de cerezo con la que se estén trabajando, de la zona y del clima así como del patrón en el que esté injertado (Cejalvo, y San Martín, 2002).

En la zona de la Montaña de Alicante las variedades más precoces florecen a mediados de febrero, haciéndolo el resto de variedades a finales del mes de marzo y principios de abril. Si la floración es irregular, la maduración de las cerezas en el árbol será escalonada, con lo que cierta proporción de fruta no podrá ser comercializada por estar verdes los frutos, ya que las cerezas, al contrario que otras frutas, no pueden continuar con su proceso de maduración una vez han sido separadas del árbol.

Para que el cerezo fructifique adecuadamente y en abundancia debe ser polinizado. Se tratan de especies autoestériles, por tanto han de ser polinizadas por variedades compatibles tanto los cerezos dulces como los verdaderos cerezos. Estos polinizadores, deben ser de una variedad compatible con la que se está trabajando, además de que sea de floración coincidente con la misma para que haya una buena disponibilidad de polen en el momento de la fecundación (Cejalvo, D. y San Martín, 2002).

Sin embargo la polinización del cerezo, mayoritariamente se realiza mediante insectos. Los agentes polinizadores más fáciles de introducir son las abejas, seguidas por los abejorros. La temperatura óptima para que las abejas liben oscila entre 10 a 12°C. En ningún caso deben aplicarse tratamientos fitosanitarios cuando las abejas están realizando esta función. Una buena fructificación se da cuando se encuentra un 10% de las flores polinizadas.

Tras la floración y la fecundación, se produce el crecimiento del ovario, dando lugar a la semilla y al fruto. El desarrollo de la cereza es muy rápido, transcurren apenas 100 días desde la floración hasta el momento de recolección, siendo el primer fruto de hueso que aparece en el mercado (Cejalvo y San Martín, 2002 y Agustí, 2004). El resumen del ciclo vegetativo del cerezo se muestra en la Figura 1.



Figura 1: Ciclo vegetativo del cerezo.

1.1.6.1. Poda y formación.

En los cerezos se busca la reducción de su tamaño para facilitar las labores de cultivo, debido a que su recolección se realiza a mano. El cerezo es una especie que no soporta podas repetidas o realizadas con demasiadas frecuencias.

La poda se realiza dos veces concretas al año, por un lado, el desrame del árbol (poda de formación) debe realizarse en invierno, el problema es que durante la parada invernal el árbol cicatriza, por tanto una medida, es cubrir las heridas con una masilla fungicida y cicatrizante o bien realizar la poda de formación durante la época de desarrollo vegetativo.

Por otro lado encontramos la poda de fructificación, la cual se realiza fundamentalmente tras la recolección, a más tardar a comienzos del otoño. La finalidad de la poda de formación es renovar la madera envejecida, favorecer la insolación de la copa y contener el desarrollo vegetativo del árbol.

En cuanto a la poda de fructificación, una vez revestido el eje de ramas principales, al cabo de cuatro a cinco años, se rebaja la altura de la planta cortando el eje por encima del piso más alto. Ello provocará la emisión de chupones que deberán controlarse con pinzamientos en primavera. También se han de limitar la longitud de las ramas laterales desviándolas sobre una ramificación débil, para evitar cruzamientos con árboles vecinos. Estos cortes de retroceso se efectúan sobre madera de al menos dos años. Se deben esperar a renovar las ramas fructíferas hasta que se desnuden de yemas de flor, lo que sucede en general, al cabo de 3 años. Antes de proceder a eliminar las ramas, se deberá elegir otras próximas para sustituirlas. Si no existen, se deberá cortar a algunos centímetros de su inserción para favorecer la salida de nueva vegetación en el tocón conservado (Coque y Díaz, 2005)

1.1.7. Enfermedades.

A continuación, se indican las enfermedades más importantes que afectan a la parte aérea del cultivo del cerezo.

Enfermedades Víricas:

1. Ilarvirus en frutales de hueso y de pepita.

Los Ilarvirus se tratan de un grupo de virus caracterizados por poseer estructura isométrica, por ser extremadamente lábiles y en general ocasionar típicos síntomas en anillos. Los principales Ilarvirus que afectan a los frutales de hueso son el virus de las manchas en anillo de los *Prunus* (PNRSV), el virus del enanismo del ciruelo (PDV) y el virus del mosaico del manzano (ApMV). Los tres virus están filogenéticamente muy relacionados y se encuentran distribuidos por todo el mundo.

Los tres virus presentan una amplia gama de huéspedes e infectan a la mayoría de las especies de *Prunus*, siendo en general, los síntomas muy agudos durante los primeros años de infección y posteriormente al hacerse crónica la enfermedad, son más leves observándose una aparente recuperación de los árboles. La descripción de las enfermedades víricas mencionadas son:

- **PNRSV** afecta especialmente al cerezo y melocotonero, aunque almendros, ciruelos y albaricoqueros pueden infectarse presentando o no síntomas. Los síntomas típicos de éste virus, consisten en clorosis (suele ser en forma de anillo, bandas, líneas, moteado o mosaico), necrosis (suele afectar a las hojas en forma de anillo), deformación foliar (pueden presentar distorsión en el limbo o rugosidad) y reducción del crecimiento.
- **PDV** afecta especialmente al cerezo, melocotonero, ciruelo europeo y almendro. La sintomatología general es muy similar a la causada por el PNRSV, aunque en este caso la reducción del vigor o crecimiento suele ser muy acusada. Las enfermedades causadas por el PDV pueden ser:
 - El enanismo del ciruelo, donde el virus reduce la longitud de los entrenudos, las hojas son pequeñas y aparecen brotes defoliados.
 - El amarilleo del guindo o cerezo ácido, acompañada de deformación de brotes y reducción de la cosecha y tamaño del fruto.
 - El moteado anular del cerezo dulce, que implica una importante reducción de la cosecha.

- **ApMV** afecta especialmente al manzano, cerezo y almendro entre los frutales. La sintomatología general varía desde un típico mosaico hasta otros con manchas amarillentas casi blancas. Pueden aparecer clorosis nerviales en las hojas y arabescos casi simétricos.

La principal vía de diseminación de los tres virus se realiza a través del uso del material de propagación infectado. La dispersión natural es habitualmente lenta aunque puede alcanzar un 10 % por año en los melocotoneros y cerezos. En muchas especies de *Prunus*, el PNRSV y el PDV se localiza tanto en el polen como en semilla.

La medida de control para las enfermedades causadas por los Ilarvirus es el uso de material sano de trabajo y la eliminación de árboles infectados para evitar la propagación de éstos por vías como el polen o semilla (Bello Pérez, 2000).

2. Enrollamiento clorótico de hojas del Albaricoquero (ACLR).

Los huéspedes más importantes del ACLR son el albaricoquero y el ciruelo japonés. Se ha demostrado que el mismo patógeno induce también enfermedades en melocotonero, almendro y cerezo ornamental japonés.

Los síntomas causados por la enfermedad son:

- Brotaciones anticipadas de las hojas, antes de la floración, en pleno invierno.
- Pardeamiento de la corteza (necrosis del líber) en los árboles que han salido prematuramente del reposo invernal.
- Floración escasa e irregular.
- Hojas cloróticas y enrolladas en forma de cono durante el verano.

3. Nepovirus.

Se trata de un virus transmitido por injerto, produciendo las enfermedades conocidas como:

- El virus de las hojas enrolladas del cerezo. Esta enfermedad produce decaimientos más o menos intensos en cerezos y melocotoneros.
- Virus de las manchas anulares del frambueso.
- Virus de las manchas anulares latentes de la fresa.
- Virus de las manchas anulares del tomate.

4. Virus filamentosos.

Dentro de los virus filamentosos, encontramos como enfermedades presentes en los cultivos de cerezo:

- Virus del moteado anular verde del cerezo. Este virus produce notables pérdidas de cosecha en cerezos ácidos (guindos).
- Virus de la cereza pequeña. Provisionalmente incluido en los closterovirus, induce graves pérdidas de cosecha en cerezos dulces y ácidos.
- Virus de las hojas moteadas del cerezo. Transmitida por el ácaro *Eriophyes inaequalis* (Bello Pérez, 2000).

Enfermedades causadas por bacterias:

1. Chancros y marchitez bacteriana de los frutales de hueso (*Pseudomonas* spp.).

En la mayoría de los casos los chancros y marchitez bacteriana de los frutales de hueso, están causadas por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Los síntomas que presentan las enfermedades causadas por las bacterias de tipo *Pseudomonas* son frecuentemente causantes de chancros en ramas y tronco, pudiendo producir síntomas en brotes, hojas y frutos. Los síntomas más visibles suelen ser los chancros que están localizados en las ramas y afectan a árboles de todas las edades. Si un chancro rodea completamente una rama, se produce su muerte. Si el tronco se ve afectado, el árbol sobrevive por lo general poco tiempo.

2. Tumores bacterianos de los frutales de hueso y de pepita (*Agrobacterium* spp.).

Los tumores causados por *Agrobacterium* se encuentran localizados en el cuello, raíces y con menor frecuencia en la parte aérea, los tumores suelen presentar mayor tamaño en plantas vigorosas. Constituyen un problema frecuente en vivero y en algunos casos en plantaciones comerciales. Los problemas son especialmente graves en España en viveros, sobretodo en algunos patrones híbridos de cerezo.

Enfermedades causadas por Hongos:

1. Momificación de los frutales de hueso (*Monilinia* spp).

La podredumbre parda o el momificado de frutos es una de las enfermedades más importantes de los frutales de hueso cultivados en casi todas las regiones del mundo, afectando

en menor medida a los frutales de pepita. Los frutales de hueso más afectados por dicha enfermedad son: melocotonero, cerezo, albaricoquero, nectarino, ciruelo, guindo y almendro. En España se encuentra presente en todas las zonas de cultivo de frutales, teniendo especial importancia en las primaveras lluviosas.

Los síntomas de la enfermedad son marchitez de yemas y brotes, chancros en ramas y podredumbre de frutos.

La marchitez de flores y brotes comienza en primavera, las flores infectadas se marchitan y se pegan al brote en forma de masas gomosas. Si el tiempo es húmedo sobre las flores se forma abundante esporulación. Los brotes y las yemas se infectan generalmente a partir de las flores o de otros brotes infectados. Se producen nuevas esporas sobre los tejidos muertos, que se extienden a otros brotes, tallos y frutos.

A partir de los brotes o ramas infectadas se originan chancros elípticos o fusiformes, con una producción masiva de goma. Las hojas de estos brotes infectados se vuelven de color marrón y permanecen sobre el brote sin caerse. Si la madera infectada no se poda, los chancros son fuente de inóculo puesto que en ellos se observa una abundante esporulación durante varios años.

El fruto puede ser infectado en cualquier momento de su desarrollo, pero normalmente la enfermedad no es importante hasta que el fruto comienza a madurar. Los primeros síntomas sobre frutos maduros son pequeñas manchas marrones, que rápidamente muestran podredumbre. Sobre estas zonas se desarrollan pústulas de conidias. Los frutos maduros se infectan directamente de otros frutos, o de conidias que proceden de otros tejidos infectados. Normalmente el fruto infectado permanece sobre el árbol, perdiendo su contenido en agua y dando lugar a momias. En frutos verdes las infecciones pueden permanecer en estado latente hasta la madurez.

Monilinia laxa, *M. fructigena* y *M. fructicola*, son los hongos que causan el momificado en los frutales de hueso y de pepita en España.

El patógeno inverna en forma de micelio o conidios sobre las momias que se encuentran en el árbol o en el suelo, o sobre los brotes y ramas infectadas, especialmente en el caso de *M. laxa*. En primavera, este micelio produce nuevos conidios, que unidas ya a las existentes, infectan las flores.

Los conidios se dispersan por el aire, agua o bien insectos. El hongo crece intercelularmente al principio y macera los tejidos que toman un color pardo. El patógeno no infecta directamente hojas o corteza. La susceptibilidad de los frutos a la infección aumenta con la maduración. Los conidios penetran en los frutos a través de heridas o aperturas naturales y colonizan los tejidos con rapidez. Un fruto infectado puede pudrirse en pocos días y, o bien cae al suelo o permanece unido al árbol. Los frutos que caen generalmente se descomponen. Sin embargo, aquellos que quedan unidos al árbol, se secan, se arrugan y se convierten en las momias características de la enfermedad. La infección de los frutos se produce también después de la cosecha, en el transporte y almacenaje del producto.

El control se realiza por aplicación de fungicidas durante el estado de botón rosa, floración, caída de pétalos y antes de la recolección. En periodos de lluvia puede ser necesario aplicaciones durante la cosecha. Los fungicidas deben ser aplicados antes o inmediatamente después de periodos con temperatura y humedad óptimos en el momento que las partes florales son susceptibles. Los fungicidas no deben ser aplicados sobre los frutos inmaduros al menos que las condiciones climáticas sean especialmente favorables a la infección, o si se han producido muchas heridas, provocadas por insectos o el frío.

Para el control de la infección en la postcosecha, es necesario almacenar los frutos en frío rápidamente, aunque puede ser necesario aplicar fungicidas (Bello Pérez, 2000).

2. Royas de los frutales de hueso.

Las royas que afectan a frutales de hueso, principalmente a especies del género *Prunus* (cerezo, ciruelo, almendro, melocotonero y nectarina), pertenecen mayoritariamente al género *Tranzschelia*, de la familia de las Pucciniáceas, se incluyen en el grupo de las royas macrocíclicas.

2.1. Royas causadas por *Tranzschelia*.

Los síntomas en las hojas son similares en todos los frutales de hueso. Empiezan con lesiones angulares claras, amarillo verdosas, en las dos superficies de la hoja, que con el tiempo se vuelven de color amarillo brillante. En la cara inferior se desarrollan las típicas pústulas marrón anaranjadas llevando las urediosporas, que con el tiempo adquieren color marrón rojizo y se forman las teliosporas. Las infecciones en ramas son más frecuentes en melocotonero que en ciruelo, son lesiones superficiales que no suelen producir daños por si solas, pero pueden ser una fuente importante de inóculo hibernante.

Tranzschelia completa su ciclo biológico sobre dos huéspedes distintos. Pasa una primera fase (estadios picnídico y ecídico) sobre algunas plantas herbáceas como anémonas y ranúnculos, y una segunda fase (estadios uredio y telio) sobre varias especies arbóreas del género *Prunus*. No obstante en la mayoría de casos *Tranzschelia* funciona como una roya asexual. El hongo pasa el invierno como micelio en ramas o como teliosporas sobre las hojas que han caído al suelo o en ramas de árboles. Puede invernar en estadio uredinal, aunque la viabilidad de las urediosporas en la superficie de las ramas es muy reducida durante los meses de invierno. Las infecciones de ramas pueden producir urediosporas en dos años sucesivos. En primavera las urediosporas dispersan la enfermedad iniciando nuevos ataques localizados, mientras que las teliosporas, utilizadas para pasar de un huésped a otro, son transportadas por el viento sobre las plantas herbáceas en las que, en presencia de humedad o lluvia, iniciarán la infección y la consiguiente formación de picnios y de picniosporas. Estos últimos darán lugar a la formación de ecios y de eciosporas, las cuales, transportadas por el viento, infectarán las plantas arbóreas sobre cuyas hojas, al cabo de cierto tiempo, se diferenciarán y harán visibles las primeras urediosporas, órganos de difusión estival de la enfermedad. Las urediosporas son liberadas con viento seco. La lluvia o riego por aspersión también pueden provocar un aumento en las urediosporas del aire. A finales de verano se formarán las teliosporas que permitirán la conservación y perpetuación del ciclo biológico del hongo.

No siempre es necesario un control específico de la enfermedad, debido a que en melocotonero y albaricoquero, donde la infección aparece tardíamente y provoca pocos daños directos, el tratamiento expreso resulta superfluo.

En otros casos, son justificadas acciones preventivas de fungicidas (ditiocarbamatos o derivados de triazoles) limitadas a variedades muy receptivas situadas en zonas en que la enfermedad aparece todos los años regularmente (Bello Pérez, 2000).

2.2. Roya del cerezo causada por *Puccinia*.

Se trata de una enfermedad causada por *Puccinia cerasi*, está extendida por toda Europa. Afecta principalmente al cerezo aunque causa daños en otras drupáceas cultivadas o espontáneas. Los síntomas son similares a los causados por *Tranzschelia*, diferenciándose de éstos solamente en el color y la distribución de las pústulas, que casi nunca son aisladas. Los órganos afectados por esta enfermedad son las hojas, en cuya cara inferior aparecen numerosas pústulas blanquecinas (urediosporas o teliosporas). Con el tiempo las hojas infectadas adquieren coloración marrón rosada y caen precozmente.

Los daños son proporcionales al grado de defoliación de la planta, pero generalmente no son muy graves.

Se trata de una roya heteroica que completa su ciclo vital sobre diversos huéspedes, en los que algún estadio reproductivo se desarrolla sobre la ranunculácea *Erianthis hymenalis*. El hongo se conserva en forma de uredio o teliosporas sobre las hojas de cerezo caídas al suelo. En primavera, en presencia de condiciones ambientales favorables, las urediosporas reemprenden su actividad patogénica infectando las hojas del cerezo, mientras que las teliosporas son transportadas por el viento sobre el huésped herbáceo dando lugar a un nuevo ciclo biológico, formando primeramente picnios, que contienen las picniosporas y después los ecidios que producirán las ecidiosporas que transportadas por el viento reinfectarán al cerezo dando origen a la formación de nuevas pústulas. Se utiliza sales de cobre como producto para su control (Bello Pérez et, 2000).

3. Chancro causado por *Calosphaeria* (*Calosphaeria pulchella*).

Calosphaeria pulchella es un hongo patógeno aislado de chancros en cerezo, que causa una nueva enfermedad presente en esta especie de frutal de hueso en España y que es responsable de la muerte regresiva del árbol (Bebegal et al., 2014). El hongo *C. pulchella* también ha sido descrito en zonas de cultivo de cerezo en California, en el Sur de Australia y en Europa (Trouillas et al., 2012). En otoño del año 2012, se observaron chancros y muerte regresiva de cerezos dulces en huertos ubicados en dos zonas diferentes de cultivo dentro de la provincia de Alicante. En los árboles afectados, se observaron síntomas de necrosis en la madera, que se asociaron a la enfermedad causada por el hongo *C. pulchella*. Se realizaron aislamientos procedentes de ramas afectadas. El hongo fue identificado como *C. pulchella* basándose en su morfología. La identificación de los aislamientos de dicho hongo, fue confirmada por comparación de secuencias en la base de datos GenBank, donde las secuencias mostraron el 100 % de identidad con el aislado de referencia 115999 *C. pulchella* (Bebegal et al., 2014).

La enfermedad, que en ingles se denomina “*Calosphaeria canker*”, se desarrolla en ramas de árboles, como necrosis de tejidos; que se observan en secciones transversales de las ramas o troncos que evolucionan a chancros internos. La infección por el hongo *C. pulchella* se inicia alrededor de la médula, e invade progresivamente el xilema, el cambium, el floema y los tejidos corticales.

En cuanto a los síntomas externos, éstos son habitualmente menos visibles durante las primeras etapas de la infección, particularmente en ramas de gran diámetro. Conforme se va desarrollando la infección en los árboles afectados, se produce el marchitamiento progresivo de las ramas dañadas, así como la aparición de chancros externos. Además, en ocasiones se puede observar la presencia de peritecios de *C. pulchella* debajo de la peridermis de ramas infectadas y troncos.

No se conocen bien las formas de dispersión de la enfermedad, pero hay evidencias que sugieren que las ascosporas del hongo formadas en los peritecios, puedan constituir el inóculo primario de la enfermedad. Éstas son liberadas en respuesta de la humectación causada por la lluvia o el riego. Son transportadas, por el viento y las salpicaduras de las gotas y por la utilización de herramientas de poda no desinfectadas previamente.

De este modo, la infección se produce normalmente durante la poda, cuando las heridas de poda frescas quedan expuestas al aire o a las salpicaduras de las gotas, o incluso con las propias herramientas de trabajo (Trouillas *et al.*, 2012).

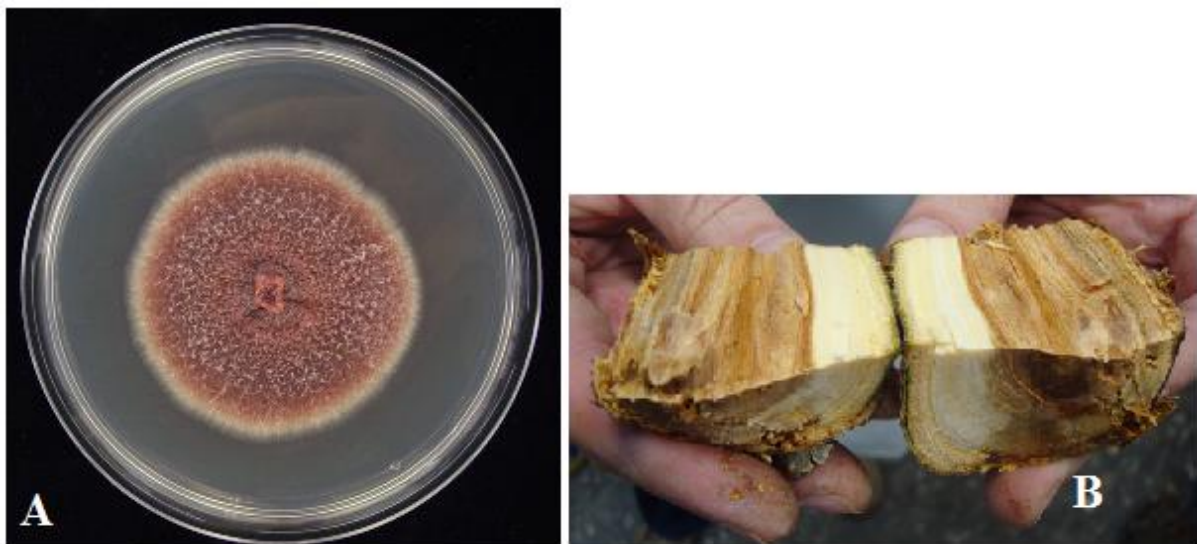


Figura 2: En la imagen A se muestra el hongo *C. pulchella* aislado en una placa de PDA donde se puede apreciar su color rojo-rosa característico. En la imagen B se muestra la necrosis producida por *C. pulchella* en ramas de cerezos.

II. OBJETIVOS

2.1.- OBJETIVOS

Como se ha comentado en la introducción *Calosphaeria pulchella* es el agente causal de una nueva enfermedad que afecta al cultivo del cerezo en la zona de Villena. El objetivo del presente trabajo será estudiar aspectos relacionados con la posible dispersión del hongo e infección de los árboles por medio de las herramientas de poda.

Para ello, se realizará un estudio de temperaturas para determinar cuál es el rango óptimo de temperaturas de crecimiento del hongo *C. pulchella*. Posteriormente, se realizará un segundo estudio que consistirá en evaluar si la poda de verano puede influir significativamente en la transmisión de la enfermedad en los árboles.

III. FASE EXPERIMENTAL

III.1.-ESTUDIO DEL CRECIMIENTO MICELIAR DE *Calosphaeria pulchella* A DIFERENTES TEMPERATURAS

3.1.1- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1.1 - Aislados fúngicos utilizados.

Para este apartado experimental se utilizaron 4 aislados de *Calosphaeria pulchella*, hongo perteneciente a la familia Calosphaeriaceae. Todos ellos fueron obtenidos de chancros y necrosis en ramas de cerezo en Villena (Alicante) (Tabla 3).

Los aislados de *C. pulchella* se obtuvieron a partir de las ramas de cerezo obtenidas en parcelas de Villena con la finalidad de poder realizar los estudios de este trabajo. Para ello, fragmentos de ramas se hicieron crecer en medio de cultivo Agar Extracto de Malta con Sulfato de Estreptomicina (MEAS) y se incubaron a una temperatura de 25°C. El hongo *C. pulchella* presenta un desarrollo lento en medios de cultivo del tipo Patata Dextrosa Agar (PDA), por lo que la finalidad de dicho medio, era conseguir un crecimiento fúngico en el menor tiempo posible, por otro lado la incorporación del antibiótico, era la de evitar el crecimiento bacteriano.

Una vez que se produjo el crecimiento suficiente de los aislados, éstos se replicaron en medio de cultivo Patata Dextrosa Agar (PDA), aplicando la técnica de la triple estría, teniendo como finalidad, la de aumentar la superficie de crecimiento del hongo en la placa. A partir de estas placas se realizaron copias para poder llevar a cabo el estudio de temperaturas.

Tabla 3: Aislados de *Calosphaeria pulchella* procedentes de cerezo utilizados en el presente trabajo.

Especie	Código	Órgano	Provincia	Localidad
<i>Calosphaeria pulchella</i>	1786	Rama	Alicante	Villena
<i>Calosphaeria pulchella</i>	1789	Rama	Alicante	Villena
<i>Calosphaeria pulchella</i>	2677	Rama	Alicante	Villena
<i>Calosphaeria pulchella</i>	2678	Rama	Alicante	Villena

3.1.1.2. – Método de incubación.

Como medio de cultivo se utilizó Patata Dextrosa Agar (PDA). Para el estudio de temperaturas, se cortaron fragmentos circulares de 8 mm de diámetro de las colonias de *C. pulchella* en crecimiento preparadas anteriormente y se colocaron en la zona central de placas Petri. Se realizaron 3 repeticiones por cada aislado y para cada temperatura. Los aislados se sometieron a 8 temperaturas distintas: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40°C, realizándose dos repeticiones del experimento.

Las placas se introdujeron en incubadores diferentes para cada una de las temperaturas seleccionadas durante el tiempo necesario para que las colonias crecieran y se pudiera determinar su crecimiento radial (de 10 a 20 días al tratarse de un hongo de crecimiento lento en placas Petri de PDA).

3.1.1.3. – Evaluación.

Para determinar el ratio de crecimiento de las colonias a cada temperatura, se midió el diámetro sobre los dos ejes perpendiculares en la placa Petri, realizándose una media de éstos. La velocidad de crecimiento se expresa como el crecimiento en milímetros que se produce en un día, es decir mm/día, para ello se aplicó la fórmula:

$$R = \frac{\text{Diámetro} - d}{2 \cdot N}$$

Siendo:

R: Ratio o velocidad de crecimiento expresada en mm/día.

D: Diámetro de crecimiento de la colonia expresado en mm.

N: Número de días en incubación.

d: Diámetro del disco de micelio con el que se incorporó el inóculo en la placa Petri expresado en mm.

Durante el experimento, se observó que algunos aislados de *C. pulchella* presentaban un desarrollo escaso o nulo. Con el fin de comprobar y determinar si la temperatura a la que el hongo estaba expuesto, era letal o no para su desarrollo, éste se sacó de la estufa y se incubó a una temperatura de unos 25°C, dejándose el tiempo suficiente como para comprobar si, efectivamente, el aislado estaba muerto, o las esporas seguían vivas, presentando por tanto un crecimiento miceliar.

3.1.2. – RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En la Tabla 4 se muestra el crecimiento radial medio en mm/día para cada uno de los 4 aislados de *C. pulchella* procedentes de cerezo a las temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40°C en las que fueron incubados. Esta Tabla también incluye las ecuaciones de regresión con la que se determinaron las curvas de crecimiento de *C. pulchella* a las diferentes temperaturas, así como las temperaturas óptimas, determinadas a través de la resolución de la primera derivada de dicha ecuación e igualando el diferencial de y (dy) a cero.

En general, para todos los aislados, se observó que los valores máximos de crecimiento se dieron entre las temperaturas de 25°C a 30°C, superando los 1,2 mm diarios para los aislados 1786, 2677 y 2678, teniendo como temperatura óptima media entre los tres aislados mencionados de 27,3°C aproximadamente. El aislado que presentó una mayor tasa de crecimiento a 30°C fue el aislado 1786, con un crecimiento diario a esta temperatura de 1,96 mm.

Por otra parte, se observó que el aislado 1789 presentaba un crecimiento radial diferente al resto de aislados, presentando diferencias de crecimiento respecto de los otros aislados a temperaturas superiores a 25°C. A 30°C, este aislado comenzaba a presentar una importante reducción de su crecimiento diario, indicando que comenzaba a entrar dentro de los valores críticos para su desarrollo. En cuanto a la temperatura óptima de crecimiento para este aislado, ésta fue de 24,26°C, muy por debajo del resto de aislados. No obstante, es importante señalar también los valores de crecimiento del aislado 1789 para el intervalo de temperaturas de 5°C a 25°C, ya que presenta un crecimiento miceliar inferior al resto de aislados para cualquier temperatura, tratándose de la misma especie de hongo.

Los valores críticos de temperaturas para los aislados de *C. pulchella* se encontraron entorno a los 5°C y a los 35°C, donde el hongo presentó problemas de crecimiento. No obstante, no se vio paralizado su desarrollo, siendo capaz de resistir dichos valores de temperaturas. El

aislado 1789, mostró una temperatura crítica de 35°C a 30°C, siendo más sensible a las altas temperaturas respecto al resto de los aislados.

Ningún aislado creció a la temperatura de 40°C, por lo que se comprobó si las esporas y el micelio de *C. pulchella* se encontrarán afectados por esta temperatura. Para ello, se realizó un estudio complementario que consistió en incubar los aislados tratados a esta temperatura en una cámara a 25°C durante una semana. El resultado obtenido fue que todos los aislados estaban vivos, produciéndose crecimiento miceliar en la placa.

A continuación se determinó la curva de crecimiento a partir de los valores medios de crecimiento y las ecuaciones de regresión. Las curvas de crecimiento de *C. pulchella* para las temperaturas estudiadas se pueden ver en las Figuras 3 y 4.

Los aislados 1786, 1789, 2677 y 2678, presentaron un desarrollo lento entre los intervalos de temperaturas de 5°C y 10°C, al situarse en zonas críticas para su óptimo desarrollo. A medida que se sobrepasaron los 15°C, se produjo un crecimiento más rápido, situándose el máximo crecimiento para los aislados 1786, 2677 y 2678 entre los rangos de 25°C y 30°C, a partir de ahí comenzó a observarse una reducción de crecimiento hasta alcanzar temperaturas de 40°C donde se detuvo el crecimiento. Por otra parte, el aislado 1879 presentó el máximo de crecimiento entre el intervalo de 20°C y 25°C, a partir de ahí comenzó a mostrar una reducción de desarrollo hasta alcanzar la temperatura de 35°C donde el crecimiento de este aislado fue prácticamente nulo.

Tabla 4: Crecimiento micelial radial en mm/día de cuatro aislados de *Calosphaeria pulchella* y su temperatura óptima de crecimiento, así como la ecuación de regresión de la curva de crecimiento.

Aislado	Código	CRECIMIENTO RADIAL (mm/día)							
		5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C	40 °C
<i>C. pulchella</i>	1786	0,10145	0,2795	0,6369	1,2689	1,87495	1,9629	0,20745	0
<i>C. pulchella</i>	1789	0,0651	0,1651	0,31425	0,8863	1,3055	0,1354	0,00278	0
<i>C. pulchella</i>	2677	0,04944	0,2211	0,43313	0,8333	1,57278	1,47752	0,190875	0
<i>C. pulchella</i>	2678	0,045	0,20165	0,55	0,912855	1,21154	1,6222	0,3587	0
Aislado	Código	REGRESIÓN							
		ECUACIÓN						R ²	T ^a ÓPTIMA
<i>C. pulchella</i>	1786	y = -0,000231314141x ³ + 0,010299049784x ² - 0,050291659452x + 0,041535714286						0,785	27 °C
<i>C. pulchella</i>	1789	y = -0,000227537778x ³ + 0,009811838095x ² - 0,074288079365x + 0,175997142857						0,664	24,26 °C
<i>C. pulchella</i>	2677	y = -0,000196446970x ³ + 0,009211528788x ² - 0,062699824675x + 0,113715714286						0,774	27,37 °C
<i>C. pulchella</i>	2678	y = -0,000191953636x ³ + 0,009084674026x ² - 0,063402098485x + 0,134871785714						0,836	27,56 °C

^a La temperatura óptima ha sido calculada resolviendo la derivada de la ecuación de regresión, la cual relaciona la velocidad de crecimiento en función de la temperatura.

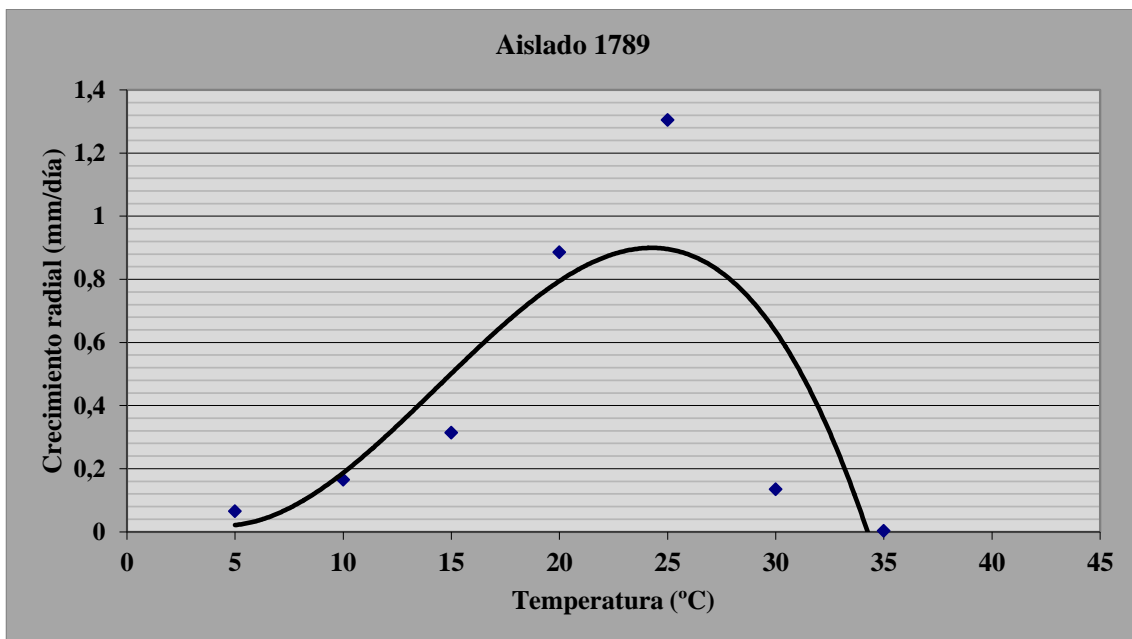
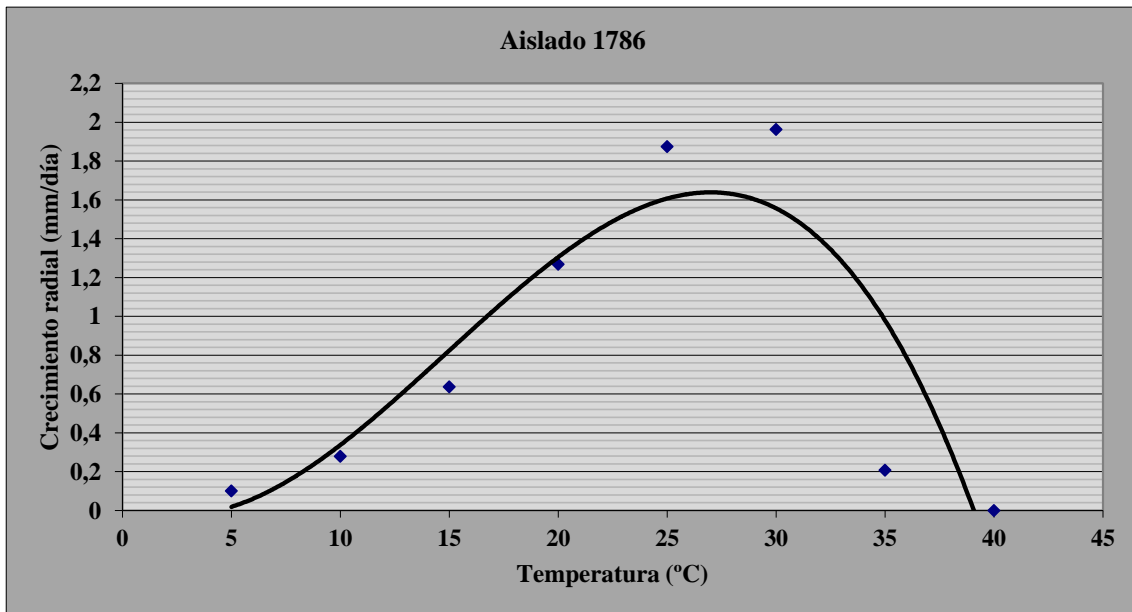


Figura 3. Valores medios de crecimiento radial (mm/día) para el aislado 1786 y el aislado 1789 del hongo *Calosphaeria pulchella*, para las temperaturas 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40°C y su curva de crecimiento.

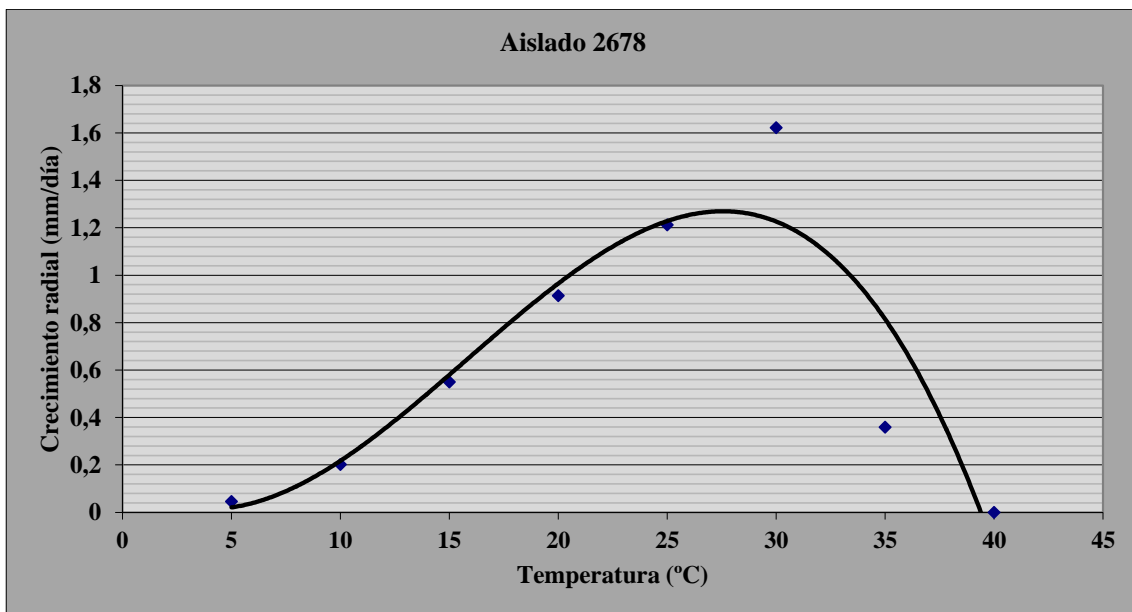
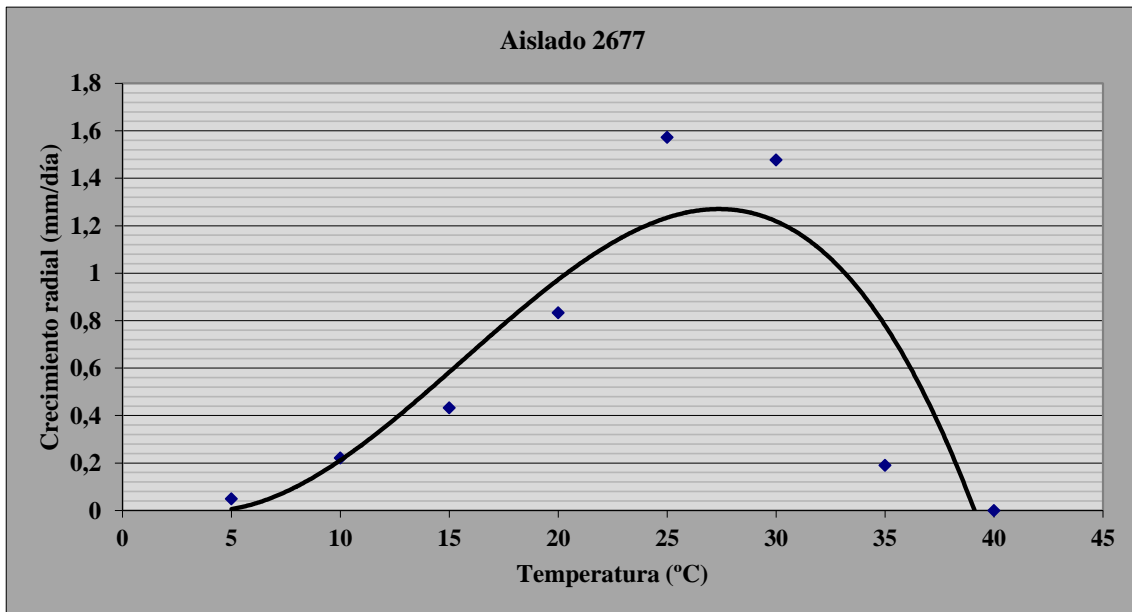


Figura 4. Valores medios de crecimiento radial (mm/día) para el aislado 2677 y el aislado 2678 del hongo *Calosphaeria pulchella*, para las temperaturas 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40°C y su curva de crecimiento.

III.2.-ESTUDIO DE LA INFECCIÓN DE CEREZOS POR *Calosphaeria pulchella* EN HERIDAS DE PODA DE VERANO

3.2.1.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1.1. – Localización de los ensayos.

Los ensayos se llevaron cabo en dos parcelas de la localidad de Villena, pertenecientes a la provincia de Alicante. La primera parcela, se encuentra situada en el paraje de Peña Rubia (donde se detectó la enfermedad en 2012), mientras que la segunda parcela se encuentra situada en el paraje de La Boquera (en la que se detectó la enfermedad en 2013). La variedad de cerezo en las parcelas era la 470. En la Figura 5 se muestra una imagen de una de las parcelas donde se muestran los daños provocados por *C. pulchella*.



Figura 5: Parcela perteneciente a la localidad de Villena donde se muestran los síntomas en árboles de cerezo provocados por la enfermedad causada por el hongo *C. pulchella*.

3.2.1.2. – Realización de los ensayos.

3.2.1.2.1.- Diseño del experimento

Los ensayos consistieron en estudiar si la poda de verano sobre las ramas de cerezo podía ser una fuente de transmisión de la enfermedad causada por *C. pulchella*. Para ello, en cada parcela se seleccionaron 15 árboles con ramas sanas, realizando en ellos tres tipos de poda:

1. **Tratamiento 1. Control:** Corte de una rama sana con tijeras de poda limpias (tratadas con lejía diluida al 50 %).
2. **Tratamiento 2. Transmisión “natural”.** Con las tijeras de poda se cortó previamente una rama afectada por la enfermedad, a continuación, se procedió al corte de una rama asintomática con estas mismas tijeras sin limpiar. Este proceso se llevó a cabo cada vez que se podaba una rama.
3. **Tratamiento 3. Transmisión “artificial”.** Con tijeras de poda se cortó una rama asintomática y sobre el corte de poda se colocó un trozo de agar colonizado por el hongo *C. pulchella*.

Dentro de los 15 árboles seleccionados, la distribución se realizó separando en tres bloques de cinco árboles para cada tratamiento, seleccionando 2 ramas por cada árbol. El aislado de *C. pulchella* seleccionado para la inoculación fue el 1789.

Una vez en campo, se podó el primer grupo de 5 árboles aplicando el Tratamiento 1, realizando una limpieza de las tijeras de poda con lejía al 50 % cada vez que se podó. A continuación se aplicó el Tratamiento 2 para el segundo bloque de 5 árboles seleccionados. Por último, se realizó para los otros 5 árboles restantes el Tratamiento 3, el cual consistió en realizar un corte con tijeras limpias, y en la misma herida depositar el inóculo 1789 de *C. pulchella*.

En todos los casos, después del corte de poda, éste se selló con una capa de parafilm que se recubrió con papel de aluminio para impedir la infección natural de las heridas con otros hongos.

3.2.1.2.2.- Fecha del experimento

La poda en las parcelas experimentales, se realizó el día 17 de julio de 2014. A continuación, se esperó un tiempo de unos 9 meses para la revisión del estado de las ramas podadas y la toma de muestras para la comprobación del efecto de los tres tipos de tratamientos realizados. La fecha de recogida de la muestras fue el 28 de enero de 2015.

3.2.1.3. – Evaluación.

Las ramas expuestas a sus respectivos tratamientos seleccionadas en campo, fueron trasladadas al laboratorio, donde se intentó aislar el hongo *C. pulchella* en medio de cultivo PDAS para los distintos tratamientos realizados.

En primer lugar, las ramas fueron peladas superficialmente con la ayuda de un cuchillo para observar la lesión provocada por el hongo y su frente de avance.

El siguiente paso, consistió en la desinfección externa del material vegetal seleccionado. De cada rama se cortaron dos trozos, uno cercano a la herida de poda y otro en el frente de avance de la lesión observada en la rama. Posteriormente éstos fueron expuestos en un baño con alcohol al 70 % durante 1 minuto, seguido de un flameado.

A continuación, se cortó el material vegetal afectado en pequeños fragmentos que se sembraron en placas de medio de cultivo PDAS, que posteriormente se introdujeron en la estufa a 25°C en oscuridad. Las placas se revisaban regularmente hasta que se apreciara un crecimiento fúngico. Éstas fueron incubadas durante al menos 15 días para la producción de esporas.

En total se sembraron 7 trozos de madera en medio de cultivo PDAS para cada fragmento de rama.

Una vez pasado el tiempo establecido, se llevó a cabo el recuento de los aislados de *C. pulchella* que aparecieron en las placas para las correspondientes ramas y sus respectivos tratamientos, siendo estos anotados en una hoja de cálculo. Con los resultados establecidos, se llevó a cabo el estudio estadístico que se muestra a continuación.

3.2.2. – Resultados y discusión.

El porcentaje medio de aislamiento del hongo *C. pulchella* en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 1, están representados en la Tabla 5. Se observó que para el Tratamiento 1, se produjo una pequeña detección del hongo en ambas zonas de las ramas localizadas solo en el árbol 1. El número de ramas infectadas por *C. pulchella* para este tratamiento fue de solo una, siendo superior el porcentaje de aislamientos del hongo en la zona exterior, con un porcentaje de aislamiento del 87,75 %, que en la zona interior de la rama que presentó un porcentaje de aislamiento del 14,28 %.

El porcentaje de ramas infectadas se incrementó en el Tratamiento 2, donde se detectó un total de 7 de ramas infectadas. Se observó que para este tratamiento, donde se usaron tijeras infectadas para la poda, el porcentaje de ramas infectadas con *C. pulchella* fue superior al Tratamiento 1. Los porcentajes de aislamiento que se obtuvieron para el Tratamiento 2, se encontraron comprendidos entre el 14,28 % al 100 %.

Por último, en el Tratamiento 3, tratamiento donde se aplicó el inóculo artificialmente, fue donde se encontró una mayor incidencia de ramas con *C. pulchella*, observándose un total de 10 ramas infectadas. En ellas, el máximo porcentaje de aislamiento obtenido fue del 100 %.

De igual modo, se estudió para el Campo 2 el porcentaje medio de aislamiento del hongo *C. pulchella* para cada tipo de tratamiento. Como se observa en la Tabla 6, el Tratamiento 1 presentó una única rama infectada, detectándose el hongo solamente en la zona exterior de esa rama con un 42,85 % de aislamiento.

En el Tratamiento 2, el valor obtenido de ramas infectadas por *C. pulchella*, fue de un total de 4 ramas, variando el porcentaje de aislamiento del hongo obtenidos en ellas entre el 71,42 % y el 100 %, dándose este valor máximo en varias ocasiones.

Por último, en el Tratamiento 3, se observó de igual modo que en el Campo 1, el máximo porcentaje de ramas infectadas, nueve. El máximo porcentaje de aislamiento del hongo, se dio preferentemente en la zona exterior de la rama, ya que para la zona interior, la incidencia de *C. pulchella* fue, en general, algo menor.

Tabla 5: Porcentaje medio de aislamiento del hongo *Calosphaeria pulchella* en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 1.

Campo 1		Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3	
Árbol	Rama	Exterior	Interior	Exterior	Interior	Exterior	Interior
1	1	85,75 ^a	14,28	42,85	85,75	85,75	0
	2	0	0	42,85	0	57,14	100
2	1	0	0	85,75	14,28	100	100
	2	0	0	0	0	100	14,28
3	1	0	0	0	0	0	14,28
	2	0	0	0	14,28	100	100
4	1	0	0	100	100	100	100
	2	0	0	71,42	100	100	14,28
5	1	0	0	0	0	100	14,28
	2	0	0	0	14,28	71,42	85,75

^a Número de puntos de aislamiento positivo respecto del total de 7 puntos de aislamiento realizados, expresados como porcentaje.

Tabla 6: Porcentaje medio de aislamiento del hongo *Calosphaeria pulchella* en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 2.

Campo 2		Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3	
Árbol	Rama	exterior	interior	exterior	interior	exterior	interior
1	1	0	0	71,42 ^a	0	85,75	14,28
	2	0	0	0	0	85,75	0
2	1	0	0	85,75	85,75	100	100
	2	0	0	0	0	100	0
3	1	42,85	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	100	14,28
4	1	0	0	0	0	100	0
	2	0	0	0	0	100	0
5	1	0	0	100	85,75	42,85	0
	2	0	0	100	100	100	14,28

^a Número de puntos de aislamiento positivo respecto del total de 7 puntos de aislamiento realizados expresados como porcentaje.

A continuación, se realizó un estudio estadístico para comprobar si los tratamientos fueron significativos. En primer lugar, se estudió si el tipo de zona seleccionada para realizar el aislamiento, influía o no respecto a los resultados. Para ello, se realizó un ANOVA, comparando la zona interior o exterior de aislamientos para el porcentaje medio de aislamientos obtenidos en los distintos campos seleccionados. Si los resultados obtenidos nos indicaban que sí existían diferencias significativas entre las zonas exteriores e interiores, el estudio estadístico posterior para los tratamientos debería realizarse por separado para ambas zonas. Por otro lado, si el estudio nos indicaba que no existen diferencias significativas entre exterior e interior, el estudio del efecto de los tratamientos se realizaría juntando ambas zonas.

La comparación del porcentaje medio de aislamiento de *C. pulchella* entre los tratamientos 1, 2 y 3, en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en los Campos 1 y 2 se puede observar en la Tabla 7 y en las Figuras 6 y 7.

Tabla 7: Comparación del porcentaje medio de aislamiento de *Calosphaeria pulchella* entre los tratamientos 1, 2 y 3, en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en los Campos 1 y 2.

Zona de aislamiento	% medio de aislamiento	
	Campo 1	Campo 2
Interior	41,43 a ^x	40,47 a
Exterior	29,52 a	13,81 b

^x ANOVA. En la misma columna letras diferentes indican diferencias significativas con $p < 0,05$.

En primer lugar, para el Campo 1 se observó que no hubo diferencias significativas entre las zonas de aislamiento exterior e interior, con un intervalo de confianza de 95 % y un $P=0.0289$, indicando por tanto, que en el Campo 1 no había diferencias significativas entre la zona exterior e interior.

En cuanto al Campo 2, se observó que sí hubo diferencias significativas entre las zonas de aislamiento exterior e interior. En este caso el P fue de 0.012, indicando, que si había diferencias significativas entre la zona exterior e interior. Por tanto, el estudio estadístico para comprobar si el efecto del tratamiento empleado en la propagación de la enfermedad, se realizó separando zonas.

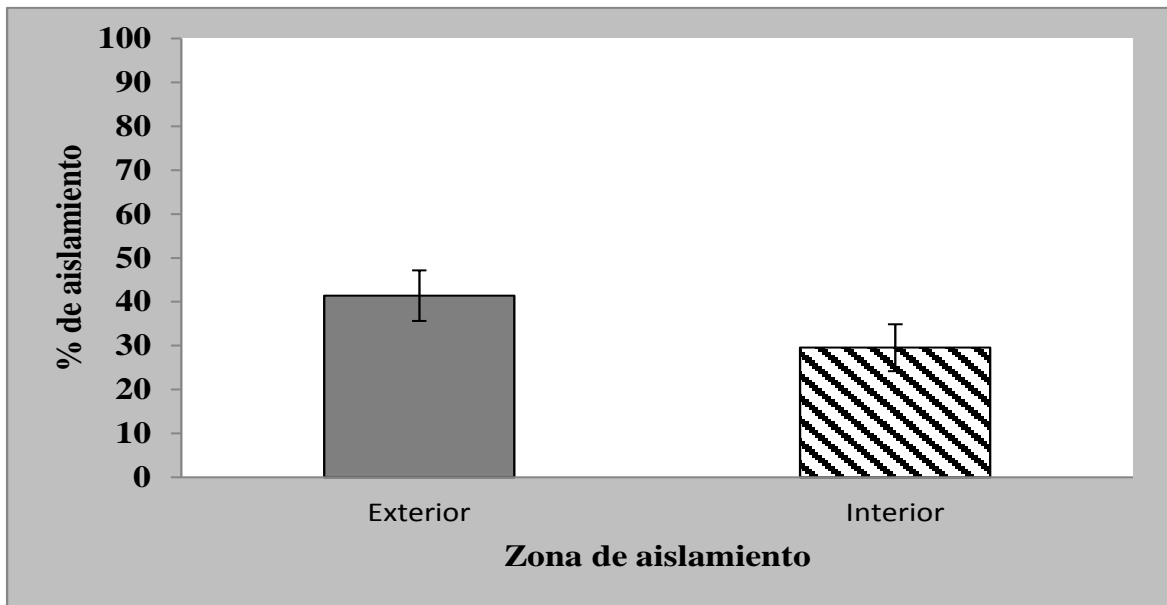


Figura 6: Comparación del porcentaje medio de aislamiento de *Calosphaeria pulchella* entre la zona exterior e interior, en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 1. La línea vertical indica el error estándar.



Figura 7: Comparación del porcentaje medio de aislamiento de *Calosphaeria pulchella* entre la zona exterior e interior, en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 2. La línea vertical indica el error estándar.

Una vez realizado el estudio estadístico entre las zonas de aislamiento exterior e interior para comprobar si hubo diferencias significativas entre ambas, realizadas para el Campo 1 y Campo 2, el siguiente paso fue estudiar, si el efecto del tratamiento influía en la transmisión de *C. pulchella* en las ramas de cerezo.

En primer lugar, se realizó una comparación del porcentaje medio de aislamiento del hongo entre los tratamientos 1, 2 y 3, en muestras de ramas de cerezo en el Campo 1, tal y como se muestra en la Tabla 9 y en la Figura 6. En la Tabla, se incluye también el resultado del ANOVA realizado a partir de los porcentajes medios de aislamientos positivos obtenidos en el Campo 1 juntando las dos zonas de aislamiento (exterior e interior) y siendo éstas agrupadas con sus respectivos tratamientos.

Tabla 8: Comparación del porcentaje medio de aislamiento de *Calosphaeria pulchella* entre los tratamientos 1, 2 y 3, en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 1.

Tratamiento	% medio de aislamiento
1	5,00 a ^x
2	33,57 b
3	67,85 c

^xANOVA. En la misma columna letras diferentes indican diferencias significativas con $p < 0.05$.

En el ANOVA, el valor de P obtenido fue inferior al 0,05, indicando por tanto que el factor tratamiento si influye en la propagación del hongo.

Como se aprecia en la Tabla 8 y en la Figura 8, se observa la diferencia que hay entre los porcentajes medios de aislamientos positivos de *C. pulchella* para cada tratamiento realizado. Se detectó un incremento notable en la presencia del hongo en los aislamientos conforme se pasó del tratamiento de tijeras limpias al resto de tratamientos, siendo todos ellos significativos.

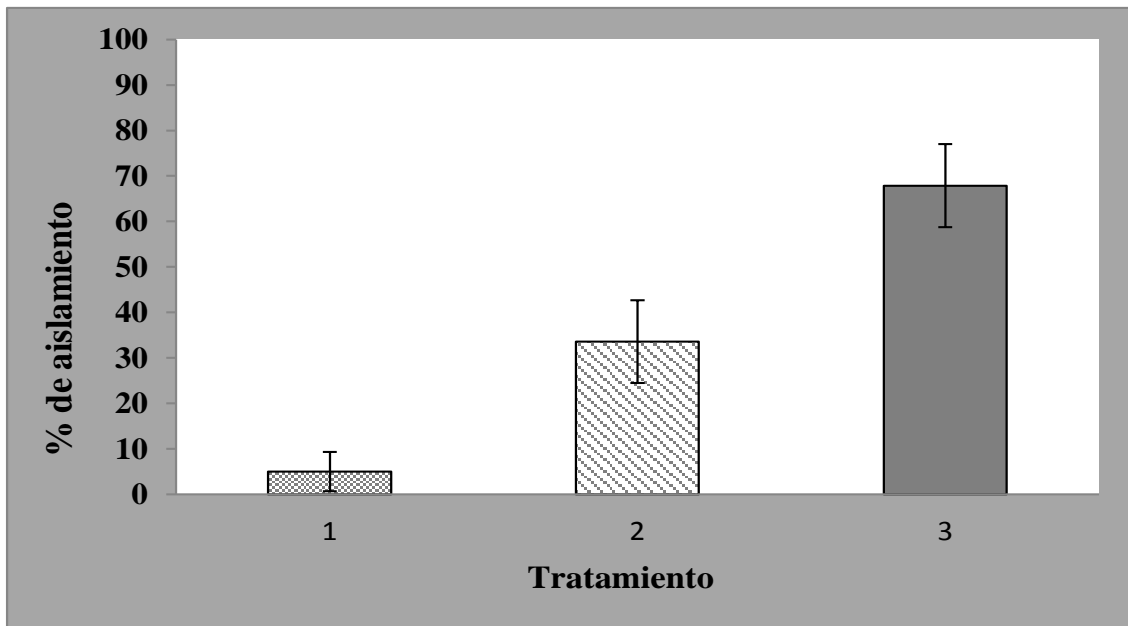


Figura 8: Comparación del porcentaje medio de aislamiento de *Calosphaeria pulchella* entre los tratamientos 1, 2 y 3, en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 1. La línea vertical indica el error estándar.

De forma similar se realizó el estudio para el Campo 2, comparando el porcentaje medio de aislamiento de *C. pulchella* entre los distintos tratamientos, pero en este caso para las zonas exterior e interior, debido a que había diferencias significativas entre ambas. Los valores medios de los porcentajes de aislamiento en el Campo 2 se muestran en la Tabla 9 y en la Figura 9. En la Tabla, se incluye también el resultado del estudio estadístico (ANOVA).

Los resultados indicaron que, teniendo en cuenta los datos de aislamiento del hongo de la zona interior, no había diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0.05$), mientras que para el estudio realizado a partir de la zona exterior, sí había diferencias significativas entre cada tratamiento realizado ($P < 0.05$), indicando por tanto también en este campo que el factor tratamiento sí influye sobre la propagación del hongo, siendo superior la transmisión de la enfermedad cuando se utilizan tijeras contaminadas o se inoculan las heridas de poda directamente con el hongo.

Tabla 9: Comparación del porcentaje medio de aislamiento de *Calosphaeria pulchella* entre los tratamientos 1, 2 y 3, en la zona interior y exterior en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 2.

Tratamiento	% medio de aislamiento	
	Interior	Exterior
1	0 a ^x	4,28 a
2	27,15 a	35,71 b
3	14,28 a	81,43 c

^x ANOVA. En la misma columna letras diferentes indican diferencias significativas con $p < 0.05$.

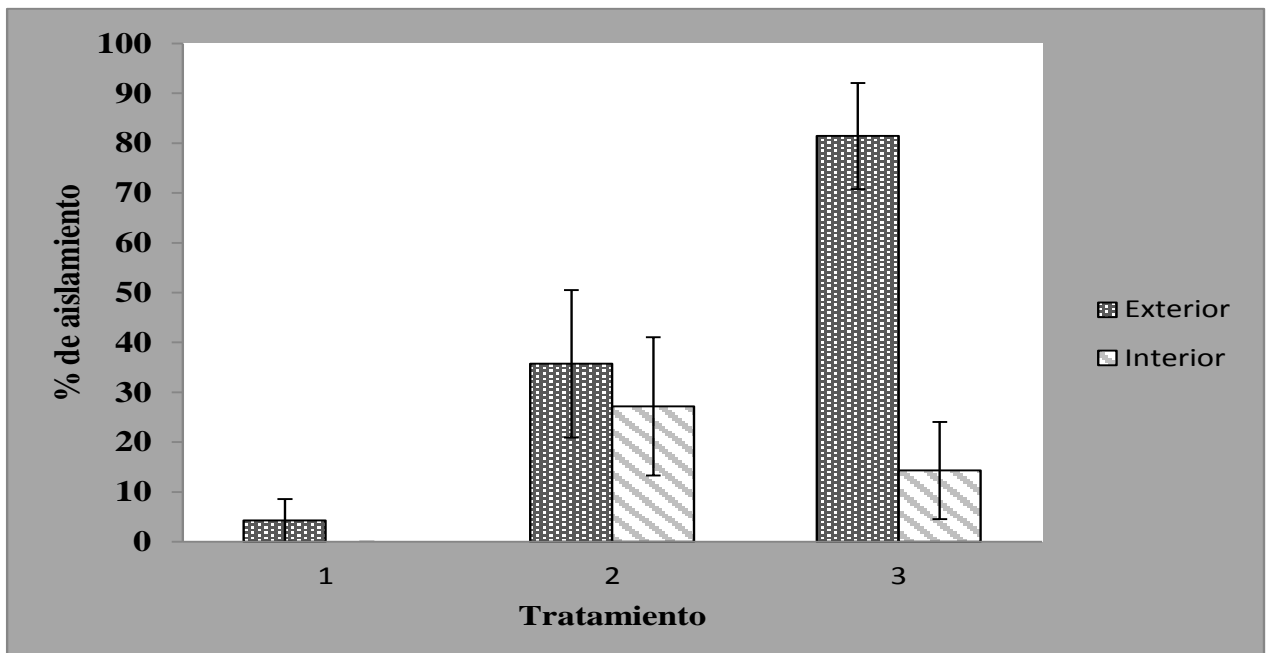


Figura 9: Comparación del porcentaje medio de aislamiento de *Calosphaeria pulchella* entre los tratamientos 1, 2 y 3, en la zona interior y exterior en muestras de ramas de cerezo podadas con diferentes tratamientos en el Campo 2. La línea vertical indica el error estándar.

IV. DISCUSIÓN GENERAL

4.1.- DISCUSIÓN GENERAL

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo se ha visto que *Calosphaeria pulchella* es un hongo que presenta una variabilidad en lo que respecta a su temperatura óptima de crecimiento. Por lo general, se observó un óptimo de temperatura para su desarrollo de 27°C, considerándose por tanto una especie fúngica que se ve favorecida por temperaturas altas en su crecimiento micelial. No obstante, habría que señalar que se observó un crecimiento diferente de la temperatura óptima mencionada anteriormente en el aislado 1789, que presentó una temperatura óptima de crecimiento entorno a los 24°C. Por ello, en el futuro había que ampliar el estudio de temperaturas realizado en este trabajo ya que podría existir la posibilidad de la presencia de diferentes aislados dentro de la especie *C. pulchella* adaptados a crecer en distintas condiciones de temperatura.

Con respecto al estudio para determinar si las tijeras de poda son responsables de la transmisión del hongo *C. pulchella*, como se ha visto en los resultados obtenidos en la segunda parte de este trabajo, se observó que sí hubo diferencias significativas en función del tratamiento. El Tratamiento 1, donde se utilizó una tijera de poda limpia, mostró que apenas hubo aparición de ramas infectadas, mientras que en el Tratamiento 2, donde se utilizó una tijera de poda sin limpiar (que había sido utilizada previamente para cortar ramas infectadas), tuvo como consecuencia un aumento significativo de ramas infectadas, siendo éstas comparables con el número de ramas infectadas obtenidas en el Tratamiento 3, donde se realizó una inoculación artificial para comparar con los tratamientos 1 y 2. Estos resultados fueron consistentes en los dos campos.

Hay que comentar que en estudios realizados por la universidad de California, se ha determinado que las esporas del hongo son liberadas en respuesta de la humectación causada por la lluvia o el riego (en las zonas en las que utilizan riego por aspersión). Siendo estas esporas transportadas por el viento y las salpicaduras de las gotas (ya sea por lluvia o bien por un sistema de riego por aspersión) (Trouillas *et al.*, 2012). Esto implica, por tanto, la posibilidad de que en los campos experimentales de Villena las esporas de *C. pulchella*, trasladadas por los agentes mencionados anteriormente, se encuentran ya depositadas sobre las ramas del árbol y, por tanto, tras su poda, éstas penetraron a través de las heridas causadas por las herramientas. Dicha hipótesis explicaría la presencia de *C. pulchella* presente en las ramas infectadas en el Tratamiento 1, donde se realizó la poda con herramientas desinfectadas.

C. pulchella es un hongo cuya biología y epidemiología se siguen estudiando en la actualidad, ya que son muchos los aspectos que se desconocen. No obstante, apoyándonos en los

resultados del presente estudio, podemos considerar una propuesta para el control de dicha enfermedad y evitar así su propagación. En función de los resultados, la infección de la enfermedad en los árboles puede ser transmitida por la utilización de herramientas de poda no desinfectadas previamente a cada corte y, además, ésta se va a ver favorecida en las podas de verano, cuando nos encontramos condiciones de temperaturas altas, ya que *C. pulchella* es un hongo que en general presenta un óptimo de temperatura alto, en torno a los 27°C.

Para proponer una posible solución al problema planteado, se pueden tener en cuenta los estudios realizados en el presente trabajo, así como en los estudios realizados en la universidad de California (Davis) (Trouillas *et al.*, 2012). La poda depende de varios aspectos, por un lado estará bajo las condiciones climatológicas y por otro lado bajo un protocolo específico. Como se ha dicho anteriormente, las esporas pueden encontrarse depositadas en las ramas del árbol, al ser transportadas por el viento, lluvia o riego por aspersión, iniciando por tanto la infección del árbol a través de las heridas de poda o lesiones de quemaduras solares.

Dentro del estudio realizado en California, se demostró la presencia de altas concentraciones de esporas de *C. pulchella* en el aire, a lo largo de la temporada de lluvias de California, ésta también fue alta durante los eventos de riego por aspersión en los meses de primavera y verano en Lodi (Trouillas *et al.*, 2012). Por ello, recomiendan realizar la poda cuando no han habido fuertes vientos durante la temporada de lluvias, viéndose como posible opción, la de proteger el cultivo con vallas metálicas que corten el viento y eviten aumentar el porcentaje de transmitir las esporas del hongo. Por otro lado no se podrá podar si ha habido precipitaciones recientes, evitando usar también el sistema de riego por aspersión, ya que éste aumenta los riesgos de mojar el tronco de los árboles, contribuyendo de manera significativa a la liberación de las ascosporas de *C. pulchella*, viéndose como posibles alternativas el uso de riego por goteo o riego por surcos, teniendo éstos menos probabilidad de causar la propagación de la enfermedad (Trouillas *et al.*, 2012).

Otro factor climatológico que condicionará el momento de poda es la temperatura, no se deberá podar si es posible, cuando las temperaturas de la zona oscilen entre 23°C a 28°C, evitando así entrar en la temperatura óptima de crecimiento del hongo. Por otro lado, la poda se encontrará condicionada bajo un protocolo de actuación estricto. Las herramientas de poda se deberán desinfectar por cada corte que se realice en el árbol, reduciendo así las posibilidades de transferir las esporas de *C. pulchella* en las heridas causadas.

V. CONCLUSIONES

5.1.- CONCLUSIONES

- El hongo *Calosphaeria pulchella* tiene un rango de crecimiento entre 5 y 35°C, mostrando una temperatura óptima de crecimiento variable. De los cuatro aislados estudiados, tres tenían una temperatura óptima de crecimiento alrededor de los 27°C, y un aislado tenía una temperatura óptima inferior: 24,26°C.

- El estudio de la transmisión de la enfermedad mediante las herramientas empleadas para la poda de verano mostró que *C. pulchella* se transmite a los árboles a partir del uso de tijeras no desinfectadas, entrando el hongo a partir de las heridas de poda que ésta generan.

VI. BIBLIOGRAFÍA

6.1.- BIBLIOGRAFÍA

Agustí, M. (2004). Fruticultura. Universidad Politécnica de Valencia, España. Ediciones Mundi-Prensa. 507 pp.

Bello Pérez, A. (2000). Enfermedades de los frutales de pepita y de hueso. Sociedad Española de Fitopatología. España. Ediciones Mundi-Prensa. 147 pp.

Berbegal, M. García Jiménez, J. y Armengol, J. (2014). Enfermedades de las plantas, “Primer informe de *Calosphaeria pulchella* en árboles de cerezos dulces en España”. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia.

Cejalvo, D. y San Martín, A. (2002). La cereza de la Montaña de Alicante. Colección “De la terra a la taula”. Valencia. 83 pp.

Coque, M. y Díaz, M B. (2005). Poda de frutales y técnicas de propagación y plantación. España. Ediciones Mundi-Prensa. 267 pp.

FAOSTAT (2012). Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura.

Gil Liarte, B. (2012). Plantación de 10.87 ha de cerezo con pradera artificial en Lagunilla de Jubera (La Rioja). Universidad la Rioja. 802 pp.

Martija-Ochoa, M. (2000). Guía completa del cultivo de las cerezas, variedades y propiedades, recolección y conservación, tamaño e injertos. Editorial de Vecchi. 93 pp.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (Magrama), (2012).

Trouillas, E., Peduto, F. y Lorber, J. (2012). Departamento de Patología Vegetal. Universidad de California.

Ulmer, E. (2008). Kirschen und Zwetschenanbau (Cultivo de cerezos y ciruelos). Alemania. Editorial OMEGA. 135 pp.