



ESCOLA POLITÈCNICA SUPERIOR

Memòria del Treball de Fi de Grau

Assaig de l'eficiència en cultiu *in-vitro* de fungicides sobre fongs de la fusta d'ametller

Kyrian Moses Fabricius

GRAU D'ENGINYERIA AGROALIMENTÀRIA I DEL MEDI RURAL

Any acadèmic 2014-2015

NIE de l'alumne: X-2019478-D

Treball tutelat per Diego Olmo García i Andreu Juan Serra

Departament de Biologia



S'autoritza la Universitat a incloure el meu treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació.

Paraules clau del treball:

Ametller, Botryosphaeriaceae, *Diplodia*, Fungicida, *in vitro*, *Neofusicoccum*.

ÍNDEX.

LLISTA DE FIGURES	Pg. 4
LLISTA DE TAULES	Pg. 5
LLISTA D'ACRÒNIMS	Pg. 6
RESUM	Pg. 7
AGRAÏMENTS	Pg. 8
1. INTRODUCCIÓ	Pg. 9
1.1. EL CULTIU DE L'AMETLLER A MALLORCA.	Pg. 10
1.2. DADES ECONÒMIQUES	Pg. 11
1.3. ELS FONGS DE LA FUSTA EN AMETLLER.	Pg. 14
1.4. ESPÈCIES DE BOTRYOSPHAERIACEAE COM A PATÒGENS DE LA FUSTA.	Pg. 16
1.5. EL CONTROL DE FONGS DE LA FAMÍLIA BOTRYOSPHAERIACEAE.	Pg. 19
2. OBJECTIUS	Pg. 20
3. MATERIAL I MÈTODES	Pg. 22
3.1. AÏLLATS FÚNGICS.	Pg. 23
3.2. FUNGICIDES.	Pg. 23
3.3. SEMBRA I CULTIU.	Pg. 26
3.4. LECTURA DE LES PLAQUES.	Pg. 27
3.5. CÀLCUL DE LA CE ₅₀ .	Pg. 27
4. RESULTATS I DISCUSSIONS	Pg. 29
5. CONCLUSIONS	Pg. 35
6. BIBLIOGRAFIA	Pg. 37
7. ANNEXES	Pg. 43
7.1. DETALL FOTOGRÀFIC DEL CREIXEMENT MICELIÀ DE LA RELACIÓ FONG-FUNGICIDA- CONCENTRACIÓ.	Pg. 44
7.2. EXEMPLE DEL CÀLCUL DE LA CE ₅₀ . CAS PRÀCTIC DEL FUNGICIDA CIPROCONAZOL APLICAT AL FONG <i>NEOFUSICOCCUM LUTEUM</i> .	Pg. 49
7.3. TAULA PRÒBIT.	Pg. 54

LLISTA DE FIGURES.

- FIGURA 1.** REPRESENTACIÓ DELS PERCENTATGES DE PRODUCCIÓ DELS CINQ PAÏSOS DE MAJOR IMPORTÀNCIA PRODUCTIVA A NIVELL MUNDIAL A L'ANY 2013. _____ PG. 12
- FIGURA 2.** SÍMPTOMES EXTERNS ASSOCIATES A FONGS DE LA FUSTA EN AMETLLERS. _____ PG. 15
- FIGURA 3.** SÍMPTOMES INTERNS DE FONGS DE FUSTA EN TALLS TRANSVERSALS DE RAMES D'AMETLLER. _____ PG. 15
- FIGURA 4.** SÍMPTOMES INTERNS DE FONGS DE FUSTA EN TALLS TRANSVERSALS DE RAMES D'AMETLLER. _____ PG. 15
- FIGURA 5.** DETALL DEL PROCÉS DE CULTIU IN VITRO DELS FONGS PATÒGENS. _____ PG. 28
- FIGURA 6.** REPRESENTACIÓ DE LA CE₅₀ DELS FUNGICIDES RESPECTE A *N. LUTEUM*. _____ PG. 31
- FIGURA 7.** REPRESENTACIÓ DE LA CE₅₀ DELS FUNGICIDES RESPECTE A *N. MEDITERRANEUM*. _____ PG. 32
- FIGURA 8.** REPRESENTACIÓ DE LA CE₅₀ DELS FUNGICIDES RESPECTE A *N. PARVUM*. _____ PG. 32
- FIGURA 9.** REPRESENTACIÓ DE LA CE₅₀ DELS FUNGICIDES RESPECTE A *D. SERIATA*. _____ PG. 33
- FIGURA 10.** DETALL FOTOGRÀFIC DEL CREIXEMENT MICELIÀ DELS FONGS EN FUNCIÓ DE LES CONCENTRACIONS DEL FUNGICIDA BOSCALIDA. _____ PG. 44
- FIGURA 11.** DETALL FOTOGRÀFIC DEL CREIXEMENT MICELIÀ DELS FONGS EN FUNCIÓ DE LES CONCENTRACIONS DEL FUNGICIDA CAPTAN. _____ PG. 44
- FIGURA 12.** DETALL FOTOGRÀFIC DEL CREIXEMENT MICELIÀ DELS FONGS EN FUNCIÓ DE LES CONCENTRACIONS DEL FUNGICIDA CIPROCONAZOL. _____ PG. 45
- FIGURA 13.** DETALL FOTOGRÀFIC DEL CREIXEMENT MICELIÀ DELS FONGS EN FUNCIÓ DE LES CONCENTRACIONS DEL FUNGICIDA FOLPET. _____ PG. 45
- FIGURA 14.** DETALL FOTOGRÀFIC DEL CREIXEMENT MICELIÀ DELS FONGS EN FUNCIÓ DE LES CONCENTRACIONS DEL FUNGICIDA MANCOZEB. _____ PG. 46
- FIGURA 15.** DETALL FOTOGRÀFIC DEL CREIXEMENT MICELIÀ DELS FONGS EN FUNCIÓ DE LES CONCENTRACIONS DEL FUNGICIDA METIL TIOFANAT. _____ PG. 46
- FIGURA 16.** DETALL FOTOGRÀFIC DEL CREIXEMENT MICELIÀ DELS FONGS EN FUNCIÓ DE LES CONCENTRACIONS DEL FUNGICIDA OXICLORUR DE COURE. _____ PG. 47
- FIGURA 17.** DETALL FOTOGRÀFIC DEL CREIXEMENT MICELIÀ DELS FONGS EN FUNCIÓ DE LES CONCENTRACIONS DEL FUNGICIDA PIRACLOSTROBIN. _____ PG. 47
- FIGURA 18.** DETALL FOTOGRÀFIC DEL CREIXEMENT MICELIÀ DELS FONGS EN FUNCIÓ DE LES CONCENTRACIONS DEL FUNGICIDA TEBUCONAZOL. _____ PG. 48
- FIGURA 19.** DETALL FOTOGRÀFIC DEL CREIXEMENT MICELIÀ DELS FONGS EN FUNCIÓ DE LES CONCENTRACIONS DEL FUNGICIDA TIRAM. _____ PG. 48

LLISTA DE TAULES.

TAULA 1. PRODUCCIÓ I PERCENTATGE QUE REPRESENTA ELS CINC PAÏSOS DE MAJOR IMPORTÀNCIA PRODUCTIVA A NIVELL MUNDIAL A L'ANY 2013. _____ Pg. 12

TAULA 2. SUPERFÍCIE I PRODUCCIÓ D'AMETLLA PER COMUNITATS AUTÒNOMES A L'ANY 2013. _____ Pg. 13

TAULA 3. PREUS MITJANS PERCEBUTS PELS AGRICULTORS A L'ANY 2013. _____ Pg. 13

TAULA 4. AÏLLATS I ORIGEN DE LES ESPÈCIES DE FONGS QUE S'ELEGIREN PER L'ASSAIG DE CONTROL. _____ Pg. 23

TAULA 5. CARACTERÍSTIQUES DELS FUNGICIDES EMPRATS EN L'AVALUACIÓ *IN VITRO* RESPECTE AL CREIXEMENT MICELIÀ. _____ Pg. 24

TAULA 6. VALORS DE LA CE_{50} PER A LA INHIBICIÓ *IN VITRO* DEL CREIXEMENT MICELIÀ DE *N. LUTEUM*, *N. MEDITERRANEUM*, *N. PARVUM* I *D. SERIATA* PER FUNGICIDES DE DISTINT GRUPS QUÍMICS. _____ Pg. 30

LLISTA D'ACRÒNIMS.

CE ₅₀ :	Concentració Efectiva del 50%.
DMI:	De Methylation Inhibitors.
FAO:	Food and Agriculture Organization of the United States.
FAOSTAT:	Statistical division of the FAO.
FRAC:	Fungicide Resistance Action Committee.
LSD:	Least Significant Difference.
PDA:	Patata Dextrosa Agar.
PPDB:	Pesticide Properties Database.

RESUM.

A l'any 2008 es va detectar una severa decadència dels ametllers a diverses finques de Mallorca (Illes Balears). S'observaren símptomes que incloïen un ràpid col·lapse de branques, clorosi de fulles, la mort de gemmes i brots, uns símptomes interns de la fusta característics, i en els casos més severos, la mort d'individus després de poques setmanes de l'aparició dels primers símptomes.

Arrel d'això, s'han dut a terme estudis a fi de determinar la etiologia, identificant espècies de la família Botryosphaeriaceae com a autors d'aquest símptomes. Fins al moment, no s'han realitzat estudis de control de malalties de la fusta causades per fongs en ametller, no obstant, aquestes malalties han estat molt estudiades en el cultiu de la vinya i lògicament el control és un aspecte que ha estat estudiat en molts dels treballs realitzats. En aquest sentit, considerant que s'ha demostrat que les infeccions d'aquestes malalties es produeixen a través de les ferides de poda, un objectiu principal de les estratègies de control és la protecció de aquestes ferides.

Donats aquests antecedents, en aquest treball es presenta un assaig que pretén ser un punt de partida per al control de les malalties de la fusta causades per fongs Botryosphaeriaceae en ametller, amb un assaig de fungicides *in vitro*. L'assaig va consistir en l'avaluació de l'eficiència de deu fungicides de distints grups químics respecte a la inhibició del creixement micelià en un 50% de quatre espècies de la família Botryosphaeriaceae, *N. luteum*, *N. mediterraneum*, *N. parvum* i *D. seriata*.

L'estudi reflexa que els dos fungicides més eficaços foren el Tebuconazol i el Piraclostrobin en la inhibició de creixement micelià en tots els fong assajats degut als seus baixos valors de CE₅₀. Seguit d'aquests dos fungicides, el Ciproconazol resultà útil en tots els fong exceptuant *N. parvum*, i el Metil Tiofanat exceptuant *N. luteum*. Aquests quatre fungicides són els candidats que es recomanen assajar en futurs estudis de control *in planta*.

AGRAÏMENTS.

Vull donar la meva gratitud a totes les persones i organitzacions que han fet possible aquest estudi.

A la meva família pel seu gran suport i interès continu.

Al suport i ànims de n'Alicia Reyes Molleja, a més de les seves valuoses opinions.

A Diego Olmo García, per la seva gran tasca realitzada a l'hora introduir-me al món de la patologia vegetal durant la nostra relació professor-estudiant, i com a tutor principal, per guiar-me a través del llarg procés d'aquest estudi, aportant a més els seus valuosos consells i continuades correccions.

A Andreu Juan Serra, cotutor d'aquest estudi i ex-professor meu, per facilitar la realització d'aquest estudi en Conselleria, i pel seu interès i gran ajuda prestada en les correccions.

A Alicia Nieto, per la seva ajuda general al laboratori.

A la Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori i a SEMILLA EPE, per deixar-me emprar les seves infraestructures i material, imprescindible per dur a terme aquest estudi.

A Dr. David Gramaje i Dr. Josep Armengol per les seves opinions aportades en moments de confusió i/o desconeixement.

Al professorat de la UIB que m'han sabut transmetre alguns dels coneixements necessaris per dur a terme un estudi d'aquesta disciplina.

1. INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIÓ.

1.1. EL CULTIU DE L'AMETLLER A MALLORCA.

L'ametller cultivat, *Prunus dulcis* (Miller) D.A. Webb, amb sinonímia acceptada *P. amygdalus* i *P. communis*, pertany a la família Rosaceae, i és un arbre fruital originari de les regions muntanyoses d'Àsia Central, comercialitzat per la seva llavor a diferència d'altres fruiters d'os (Felipe, 2000; Agustí, 2004).

És un arbre caducifoli d'hivern, amb fulles lanceolades i color verd brillant. Les gemmes fructíferes es situen tant a branca mixta com a rams de maig. Les flors són hermafrodites, en la majoria dels casos autoincompatibles amb pètals blancs a rosacis. Ho diferenciem d'altres fruiters d'os ja que el mesocarpi és poc desenvolupat, pubescent i no comestible. Dins l'endocarpi lignificat, hi trobem la llavor, la part comestible i 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 (Agustí, 2004).

Les primeres dades que fan referència al coneixement i utilització de l'ametlla a Mallorca se situa al voltant de l'any 400 aC., gràcies a la seva presència trobada a naufragis (Rallo i Sacarés, 1997).

Es pensa que el seu cultiu es va iniciar gràcies a la seva introducció per part dels romans, però les primeres plantacions documentades no apareixen fins al segle XV. Ara bé, el seu cultiu s'incrementa de forma important en el segle XIX a causa de la necessitat de substituir el cultiu de la vinya degut a l'efecte devastador de la fil·loxera de la vinya (*Viteus vitifoliae* (Fitch)).

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 del país (Rallo i Sacarés, 1997). La demanda d'ametlla anava en augment, i la superfície de cultiu a Mallorca creixia a més de disposar d'unes condicions climàtiques excel·lents.

A la segona meitat del segle XX, s'inicia una època de decadència causada per la pèrdua de la posició capdavantera de Mallorca tant en superfície com en producció (Rubí, 1980). L'explosió turística va encarrir la ma d'obra, i l'activitat agrícola deixà de ser un negoci on invertir. Malgrat aquesta decadència, l'ametller continuà essent un dels productes més importants a Mallorca.

La problemàtica de l'ametller es resumeix en sis punts, segons Rubí (1980):

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

A l'any 1992, foren substituïdes plantacions d'ametllers de varietats locals amb més de 25 anys, per noves plantacions amb varietats més productives i de major qualitat comercial, gràcies als plans de millora i ajuts de la PAC (Política Agrària Comuna).

1.2. DADES ECONÒMIQUES.

A nivell mundial es produeixen al voltant d'uns 3×10^6 tones anuals d'ametlla amb clovella, produïdes a 48 països, obtenint durant la campanya del 2013 un total de 2.960.894 t. Els països de més importància productiva es localitzen típicament a zones amb clima mediterrani, sent el productor de major importància els EE.UU. amb un 61% de la producció mundial, seguit en segon lloc per Austràlia amb un 6%, i en tercer lloc amb un 5%, l'estat Espanyol (FAOStat, 2015).

Cal destacar però, que l'estat Espanyol és el país líder en quant a superfície d'ametllera, però pel fet de ser típicament un cultiu marginal cultivat en secà i a terrenys pobres, amb una poca o nul·la tecnificació, fa que sigui un sistema productiu de molt baix rendiment, obtenint al voltant d'uns 150 kg/ha anuals de bessó. Aquest valor queda molt en evidència quan es compara amb els rendiments obtinguts a Califòrnia, on es situa al voltant de 2.500 kg/ha anuals de bessó (Móra, 2014).

En quant a la situació nacional, destacar que de la producció total espanyola al 2013, 149.000 tones, les Illes Balears es troba en sèptim lloc tant en superfície productiva com en producció, obtenint unes 7.013 t repartides sobre unes 24.123 ha, donant un rendiment de 291 kg/ha, quasi 8'5 vegades menys que Califòrnia. De la superfície total nacional dedicada al cultiu de l'ametlla, el 91'9% es troba en secà, molt similar a la situació Balear, on aquest valor augmenta al 98'7%.

A continuació es disposa d'una taula amb la producció i percentatge que representa els cinc països de major importància productiva a nivell mundial, així com la representació gràfica de dit percentatges. També es disposa d'una taula de superfície i producció d'ametlla per comunitats autònomes.

Taula 1. Producció i percentatge que representa els cinc països de major importància productiva a nivell mundial a l'any 2013 (Faostat, 2015).

País	Producció (t)	Percentatge (%)
Estats Units	1.814.372	61
Austràlia	160.000	6
Espanya	149.000	5
Marroc	96.523	3
Iran (Republica Islàmica de)	87.281	3
Altres (43 països)	653.718	22
Total	2.960.894	100

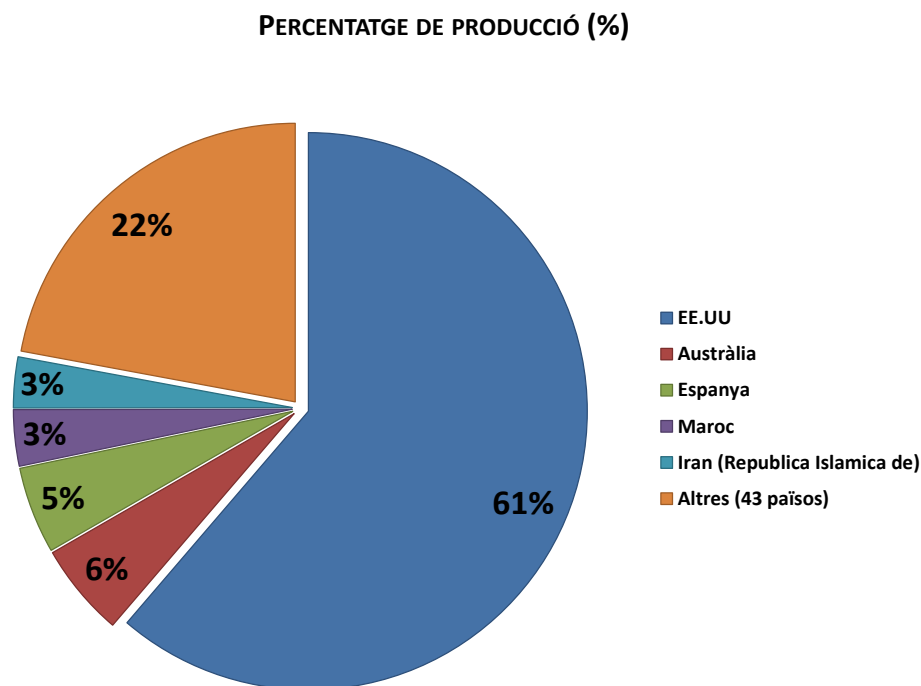


Figura 1. Representació dels percentatges de producció dels cinc països de major importància productiva a nivell mundial a l'any 2013 (Faostat, 2015).

Taula 2. Superfície i producció d'ametlla per comunitats autònomes a l'any 2013 (Anuari d'estadística agrària 2014).

	Superfície en secà (ha)	Superfície en regadiu (ha)	Superfície total (ha)	Producció total (t)
Espanya	490.590	43.468	534.057	143.081
C. Valenciana	91.345	9.029	100.374	28.177
R. de Murcia	66.014	6.878	72.892	25.519
Andalusia	146.088	6.222	152.310	25.208
Aragó	59.226	7.474	66.700	23.525
Castilla La Mancha	52.584	7.232	59.816	15.030
Catalunya	35.001	3.912	38.913	12.294
Balears	24.123	320	24.443	7.013
Navarra	2.330	1.284	3.614	2.053
La Rioja	9.008	560	9.568	1.567
Extremadura	2.482	529	3.011	1.381
Madrid	780	0	780	595
Castilla y León	1.324	22	1.346	374
Canàries	209	6	214	249
País Vasco	75	0	75	95

Degut a la creixent demanda mundial d'ametlla i la saturació de producció d'EE.UU i la forta sequera a Califòrnia que aquest país està patint els darreres anys, molts països estan apostant per aquest cultiu a fi de satisfer dit demanda. Dit això, l'estat espanyol té grans possibilitats per aprofitar la situació i capturar així una gran part del mercat internacional. A més, cal destacar l'augment significatiu del preu de l'ametlla, degut a la relació oferta i demanda. A continuació es presenta una taula amb els preus mitjans percebuts pels agricultors per anyada.

Taula 3. Preus mitjans percebuts pels agricultors a l'any 2013 (Anuari d'estadística agrària 2014).

Any	Preu mitjà percebut pels agricultors (€/100kg d'ametlla amb clovella)
2013	149,42
2012	89,74
2011	68,79
2010	72,67
2009	61,63
2008	86,62
2007	88,74
2006	97,16
2005	145,00
2004	134,86
2003	91,93

1.3. ELS FONGS DE LA FUSTA EN AMETLLERS.

A l'estiu del 2008, es va detectar una severa decadència dels ametllers a diverses finques de Mallorca (Illes Balears). Els símptomes externs apreciats incloïen un ràpid col·lapse de branques a mitjan estiu, clorosi de fulles, que ràpidament es marcien seguit de la seva mort, així com la mort de gemmes i brots. En quant als símptomes interns de la fusta, en talls transversals es varen apreciar punts necròtics, en ocasions formant anells o semicercles i altres vegades distribuïts de manera aïllada. En altres ocasions s'observaven zones necròtiques més amples ocupant un sector amb forma més o menys triangular. En algunes ocasions, de manera aïllada o be amb presència dels altres símptomes descrits, també s'observaven zones de teixit en descomposició amb consistència tova i esponjosa. A més, es va observar la mort d'alguns individus després de poques setmanes de l'aparició dels primers símptomes (Gramaje *et al.*, 2012). Els símptomes citats es poden apreciar a les figures 2, 3 i 4.

Arrel d'això, s'han realitzat una sèrie d'estudis a fi de determinar la seva etiologia, es a dir, l'estudi de la causa. Amb mostres obtingudes de cultius simptomàtics localitzades al Llevant de Mallorca entre el període 2008-2010, es va aconseguir aïllar una sèrie d'espècies de fongs de fusta (Gramaje *et al.*, 2012).

Mitjançant la identificació morfològica, característiques culturals i la comparació de seqüències d'ADN, es varen identificar cinc espècies de la família Botryosphaeriaceae, *Botryosphaeria dothidea* (Moug. Ex Fr.) Ces. & De Not., *Diplodia olivarum* A.J.L. Phillips, Frisullo & Lazzizzera, *D. seriata* De Not., *Neofusicoccum australe* (Slippers, Crous & MJ Wingf.) Crous, Slippers & AJL Phillips i *N. parvum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & AJL Phillips, a més de *Eutypa lata* (Pers:Fr.) Tul & C. Tul., *Phaeoacremonium iranarum*, *Phomopsis amygdali* (Declacr.) J.J. Tuset & M.T. Portilla, *Collophora hispànica* Gramaje, Armengol & Damm i *Phaeoacremonium amygdalinum* D. Gramaje, J Armengol & L. Mostert. L'espècie dominant va ser *N. parvum*, seguit per *E. lata*, *D. olivarum*, i *N. australe* (Gramaje *et al.*, 2012).



Figura 2. Símtomes externs associats a fongs de la fusta en ametllers. Clorosi de fulles, eixugat de brots, decaïment, mústigament, col·lapse de rames i mort d'arbres.



Figura 3. Símtomes interns de fongs de fusta en talls transversals de rames d'ametller. S'observa necrosi sectorial ben definida en forma triangular. Els fongs aïllats en les mostres de les figures foren, en A: *Diplodia seriata*, i en B: *Neofusicoccum parvum*.



Figura 4. Símtomes interns de fongs de fusta en talls transversals de rames d'ametller. S'observen punts necròtics formant anells o un semicercle (A), petites zones o punts necròtics aïllats (B). Els fongs aïllats en les mostres de les figures foren en la A: *Neofusicoccum luteum*, i en B: *N. mediterraneum*.

1.4. ESPÈCIES DE BOTRYOSPHAERIACEAE COM A PATÒGENS DE LA FUSTA.

La família Botryosphaeriaceae pertany al regne Fungi, filo Ascomycota, classe Dothideomycetes i ordre Botryosphaeriales (Anònim, 2008). Actualment existeixen més de 2000 espècies vinculades a aquesta família, incloent dins el seu cicle biològic la fase sexual (teleomorf) i la fase asexual (anamorf), del qual els generes *Diplodia*, *Botryosphaeria*, *Neofusicoccum*, *Dothiorella*, *Lasiodiplodia* i *Sphaeropsis* contenen la majoria d'espècies (Slippers i Wingfield, 2007). Les espècies d'aquesta família se distribueixen a àrees de climes temperats i tropicals del planeta, trobant-se en nombroses monocotiledònies, dicotiledònies i gimnospermes (Martos, 2008).

La identificació de les espècies d'aquesta família s'ha anat basant principalment des de la dècada dels anys 60 sobre les característiques de l'anamorfo, degut a la baixa presència de teleomorfs en la naturalesa i als seus caràcters poc variables entre espècies. Ara bé, la classificació taxonòmica dels gèneres anamòrfics és en alguns casos confusa, ja que alguns caràcters poden variar segons el substrat on s'ubiquen en l'hoste o del seu estat de desenvolupament. En general, la diversitat d'hostes colonitzats per una mateixa espècie i l'aparició d'espècies diferents sobre un mateix hoste, invaliden l'ús de l'associació hoste-fong com a un caràcter taxonòmic apropiat. Per determinades espècies, la classificació se sustenta sobre caràcters de les colònies com és la morfologia i la taxa de creixement micelià a distintes temperatures. Ara bé, aquests caràcters són vàlids per espècies molt concretes, i no s'apliquen de forma general (Martos, 2008).

Cal remarcar la importància econòmica i ecològica que podria tenir aquesta família de fongs, ja que degut a la seva complexitat taxonòmica i segons estudis recents que empren els avanços de tècniques moleculars basades en l'ADN, s'està demostrant una major diversitat d'espècies d'aquesta família sobre els hostes estudiats de la que inicialment es pensava trobar, tot i que segueix sent una família poc estudiada (Slippers i Wingfield, 2007; Martos, 2008).

Encara que se sap des de fa temps que Botryosphaeriaceae pot infectar plantes sanes tant a través de obertures naturals com antròpiques, no va ser fins a la dècada dels 80 que es va reconèixer com a endòfit (Slippers *et al.*, 2007), és a dir, que viu o es desenvolupa dins una planta. En l'actualitat es creu que la majoria de les espècies d'aquesta família, sinó totes, podrien tenir una fase endòfita (Martos, 2008).

Malalties causades per Botryosphaeriaceae apareixen majoritàriament seguit d'algun factor d'estrès o creixement del vegetal en condicions no òptimes, i els símptomes poden proliferar ràpidament i causar grans pèrdues sobre àrees extenses si l'agent d'estrès es troba estès. La predicció de condicions climàtiques extremes degut al canvi climàtic, conjuntament amb la

pressió biològica de plagues i patògens que expandeixen la seva distribució geogràfica, són elements que afavoririen el desenvolupament de malalties relacionades amb Botryosphaeriaceae. Les condicions d'estrès que s'han vinculat a la Botryosphaeriaceae inclouen l'estrès per sequera, sent el més comú, el dany físic, el dany causat per agents biològics, la competència extrema entre vegetals, i la plantació d'espècies o varietats en llocs inadequats (Slippers *et al.*, 2007).

Curiosament coincideix que les espècies més perjudicials són aquells que poden afectar a un ampli rang d'hostes i/o àrees de distribució geogràfica, com són *Neofusicoccum parvum*, *N. australe* i altres. Ara bé, no totes les espècies amb rang ampli d'hoste causen malalties a tots els hostes que infecten, en totes les zones geogràfiques, degut possiblement a un efecte de la pressió ambiental local, o la competència de Botryosphaeriaceae natiu o altres endòfits, per al mateix nínxol (Slippers *et al.*, 2007).

La simptomatologia relacionada amb membres d'aquesta família inclouen l'aparició de xancre en branques, rames, troncs i arrel; la mort regressiva de brots i rames; l'avortament de llavors; la podridura del coll, el mústigament de plàntules; la tinció blavosa de la fusta; i la mort en casos més severos (Slippers *et al.*, 2007).

Un dels cultius on més profundament s'han estudiat les malalties de la fusta, incloent les causades per espècies de la família Botryosphaeriaceae, és el de la vinya. Fins a la data, els estudis morfològics i taxonòmics, així com anàlisi de seqüències de nucleòtids de múltiples gens, han permès la identificació d'almenys 21 espècies diferents en la Botryosphaeriaceae que ocorren en vinyes en tot el món. En aquest cultiu els símptomes de malalties causades per membres d'aquesta família inclouen taques foliars, podriments de fruites, mort regressiva rodatge, necrosi brot, decoloració vascular de la fusta, i xancre perennes. S'ha proposat el nom de la malaltia mort progressiva per *Botryosphaeria*. Molt s'ha escrit en la darrera dècada sobre l'associació entre espècies de Botryosphaeriaceae i malalties del tronc del cep, que ha contribuït a una millor comprensió del paper que aquests taxons de fongs tenen en les malalties de la vinya. Tot i que la virulència s'ha demostrat que varien entre espècies i soques de la mateixa espècie en diferents països, aquests fongs han arribat a ser ben reconeguts com a importants patògens de vinya a tot el món (Úrbez-Torres, 2011).

En altres cultius com l'olivera, Moral *et al.* (2010) varen identificar *Neofusicoccum mediterraneum* Crous, MJ Wingf. & A.J.L. Phillips i *Diplodia seriata* causant l'eixugat de branques tant a Espanya com a Califòrnia. Posteriorment, Úrbez-Torres *et al.* (2013) van identificar 18 espècies fúngiques associades al decaïment de brots i branques d'olivera a Califòrnia sent *N. mediterraneum* i *D. mutila* (Fr) Mont. les que es varen mostrar més virulentes en els assajos de patogenicitat.

A Califòrnia també s'han trobat fongs de fusta associats a decaïments de branques de cítrics, concretament les espècies pertanyents a la família Botryosphaeriaceae, *Spencermartinsia viticola* (AJL Phillips & J. Luque) AJL Phillips, A. Alves & Crous (sense. *Dothiorella viticola*), *D. iberica* AJL Phillips, J. Luque & A. Alves, *Neofusicoccum australe*, *N. parvum*, *N. magniferae* (Syd. & P. Syd.) Crous, Slippers & AJL Phillips, *N. mediterraneum*, *N. luteum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & AJL Phillips, *Diplodia mutila* i *Eutypella* spp. (Adesemoye i Eskalen, 2011a; Adesemoye i Eskalen, 2011b; Eskalen *et al.*, 2011)

Si ens centram en el gènere *Prunus*, al que pertany l'ametller, diferents estudis han demostrat que les plantes d'aquest gènere són hostes habituals de fongs de fusta. Així per exemple, algunes espècies de Botryosphaeraceae com *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. són patògens ben coneguts en melicotoner (*Prunus persica* (L.) Bastch) a tot el món (Pusey *et al.*, 1995). Farr *et al.* (1989) enumeren aquestes mateixes tres espècies, així com *Neofusicoccum ribis* (Slippers, Crous & MJ Wingf.) Crous, Slippers & AJL Phillips i *Sphaeropsis peckii* SACC. en *Prunus* spp. als Estats Units *Diplodia mutila* va ser citada en melicotoner per Laundon (1973) a Nova Zelanda i posteriorment per Sutton (1980) en albercoquer (*Prunus armeniaca* L.) i de nou en melicotoner. Slippers *et al.* (2007) van trobar diverses soques de *Diplodia seriata* i *Neofusicoccum australe* en fruiters d'os a Sud-àfrica. *Diplodia rosulata* Gure Slippers & Stenlid està descrita en *Prunus africana* (Hook. F.) Kallman a Etiòpia. D'altra banda, Wollenweber (1941) citava *Dothiorella sarmentorum* (Fr) AJL Phillips, A. Alves & J. Luque en albercoquer i altres *Prunus* spp. a Europa i Amèrica del Nord. Wollenweber i Hochapfel (1941) consideren *D. roumegueri* var. *santonensis* Brunaud sinònim de *D. phoradendri* Cooke que s'havia trobat en 1892 en *Prunus laurocerasus* a França. D'altra banda, Damm *et al.* (2007a) varen determinar la diversitat dels membres de la família Botryosphaeriaceae aïllats de fusta simptomàtica d'albercoquer, nectarina (*Prunus persica* var. *nucipersica* (L. ex Borkh.) CK Schneid., Ill. Handb. Laubholz.), melicotoner i prunera japonesa (*Prunus salicina* Lindl.) a Sud-àfrica. Entre ells *Diplodia seriata*, *D. pinea* (desm.) J. Kickx F., *D. mutila*, *Spencermartinsia viticola*, *Neofusicoccum vitifusiforme* (Van Niekerk & Crous) Crous, Slippers & AJL Phillips i *N. australe* i dues espècies prèviament desconegudes, *Diplodia africana* Damm & Crous en nectarina i *Lasiodiplodia plurivora* Damm & Crous en prunera japonesa. A Itàlia es va aïllar *D. seriata* en *Prunus laurocerasus* associat a xanques de branquillons (Quaglia *et al.*, 2013). Les prospeccions d'espècies de Botryosphaeraceae en ametllers a Califòrnia van concloure amb 6 noves cites en aquest hoste i el descobriment d'una nova espècie, *Neofusicoccum nonquaesitum* Inderb., Trouillas, Bostock & Michailides (Inderbitzn *et al.*, 2010). Algunes espècies de *Aplosporella* s'han aïllat de branquetes de *Prunus* spp., concretament *A. indica* DK Agarwal, Chowdhry & A.K. Sarbhoy i *A. phyllanthina* Syd. de prunera Europeu (*Prunus domestica*) a l'Índia (Agarwal *et al.* 1992), *A. prunicola* Damm & Crous de nectarina a Sud-àfrica (Damm *et al.*, 2007b) i *A. pruni* McAlpine d'albercoquer a Austràlia (McAlpine, 1902).

A Mallorca, els estudis recents d'Olmo *et al.* (2014), demostraren la patogenicitat en ametller de 6 espècies de Botryosphaeriaceae, *D. olivarum*, *D. seriata*, *Neofusicoccum australe*, *N. luteum*, *N. mediterraneum* i *N. parvum*). Els fongs havien estat aïllats inicialment en prospeccions de camp d'ametllers amb símptomes de decaïment i necrosis interna de la fusta.

1.5. EL CONTROL DE FONGS DE FUSTA BOTRYOSPHAERIACEAE EN AMETLLER.

Fins al moment, no s'han realitzat estudis de control de malalties de la fusta causades per fongs en ametller. No obstant això, com s'ha mencionat en la introducció general, aquestes malalties han estat molt estudiades en el cultiu de la vinya i lògicament el control és un aspecte que ha estat estudiat en molts dels treballs realitzats. En aquest sentit, considerant que s'ha demostrat que les infeccions d'aquestes malalties (incloent esca, eutiopiosis, malaltia de Petri i decaïment per Botryosphaeriaceae) es produeixen a través de les ferides de poda (Mostert *et al.*, 2006; Serra *et al.*, 2008; Díaz & Latorre, 2013; Trouillas & Gubler, 2010; Úrbez-Torres & Gubler, 2011; Baskarathevan *et al.*, 2013; Moyo *et al.*, 2014), un objectiu principal de les estratègies de control és la protecció de aquestes ferides. Això es posa de manifest en treballs en què es va avaluar l'eficàcia de fungicides a aquestes malalties en vinya com el de Gramaje *et al.* (2009) per la malaltia de Petri, Halleen *et al.* (2010) i Sosnowski *et al.* (2013) per *Eutypa* i Rolshausen *et al.* (2010) per a 9 fongs patògens causants d'aquestes malalties. Si només ens centrem en els fongs de la família Botryosphaeriaceae, Pitt *et al.* (2012) i Twizeyimana *et al.* (2013) varen fer estudis *in vitro* de l'eficàcia de diversos fungicides en vinya i en alvocat respectivament.

Donats aquests antecedents, en aquest treball es presenta un assaig que pretén ser un punt de partida per al control de les malalties de la fusta causades per fongs Botryosphaeriaceae en ametller. L'assaig va consistir en l'avaluació *in vitro* de l'eficàcia de deu fungicides respecte al creixement micelià de quatre espècies de Botryosphaeriaceae.

2. OBJECTIUS

2. OBJECTIUS

1. Calcular les concentracions efectives 50% (CE₅₀) de deu fungicides respecte al creixement micelià de *Neofusicoccum luteum*, *N. mediterraneum*, *N. parvum* i *Diplodia seriata*.
2. Comparar els resultats de les CE₅₀ amb la finalitat de determinar quins dels fungicides assajats són potencialment recomanables per a estudis de camp.

3. MATERIAL I MÈTODES

3. MATERIAL I MÈTODES.

En aquest estudi s'empraren quatre aïllats fúngics provinents de mostres d'ametller de prospeccions en camp dutes a terme durant els anys 2008-2010 per Gramaje *et al.* (2012) que ja s'han comentat a la introducció. Els quatre aïllats pertanyien a espècies de fongs de la família Botryosphaeriaceae, la més freqüent en els resultats de les prospeccions esmentades.

Es provaren fungicides diferents, cadascun d'ells a cinc concentracions distintes (0, 0.1, 1, 10 y 100 ppm de matèria activa). Per cada concentració i fong es realitzaren quatre repeticions, i tot l'estudi es va realitzar dues vegades.

3.1. AÏLLATS FÚNGICS.

Per a l'assaig *in vitro* s'empraren aïllats fúngics monohifals de les espècies que s'identifiquen a la següent taula:

Taula 4. Aïllats i origen de les espècies de fongs que s'elegiren per l'assaig de control.

Codi de l'aïllat	Espècie	Any de l'aïllament	Municipi (Comarca)	Polígon	Parcel·la
BAL 3	<i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	2010	Sant Llorenç des Cardassar (Llevant)	4	792
BAL 7	<i>Neofusicoccum parvum</i>	2012	Sant Llorenç des Cardassar (Llevant)	2	128
BAL 10	<i>Diplodia seriata</i>	2014	Binissalem (Es Raiguer)	10	54
BAL 30	<i>Neofusicoccum luteum</i>	2014	Llucmajor (Migjorn)	6	14

3.2. FUNGICIDES.

Els fungicides assajats varen ser seleccionats de manera en que fossin representatius dels distints grups químics, a la vegada de ser productes autoritzats per la Unió Europea, i inclosos al Registre de Productes Fitosanitaris del Ministeri d'Agricultura, Alimentació i Medi Ambient.

Taula 5. Característiques dels fungicides emprats en l'avaluació *in vitro* respecte al creixement micelià.

Grup químic ¹	Manera d'acció ¹	Diana ¹	Matèria activa	Producte comercial - Fabricant	Riquesa (%)	Formulació ^a
Inorgànic-Coure i Derivats	Activitat de contacte i multidiana (M)	Multidiana	Oxíclorur de Coure	Cuprosan-Alinta	50	WP
Triazols	Activitat de contacte i multidiana (M)	Multidiana	Ciproconazol	Caddy Pepite-Bayer	10	WG
			Tebuconazol	Folicur-Bayer	25	WG
Ftalimides	Activitat de contacte i multidiana (M)	Multidiana	Captan	Karnak-Lainco	85	WP
			Folpet	Folpec-Sapec Agro	50	WP
Ditiocarbamats	Activitat de contacte i multidiana (M)	Multidiana	Mancozeb	Micene-Sipcam Inagra	80	WP
			Tiram	Deepest-Lainco	50	SC
Estrobilurines	Respiració (C)	Complex III-citocrom bc-1 (ubiquinol oxidasa) en diana Q _o	Piraclostrobin	Cabrio-BASF	25	EC
Pridincaboxamides	Respiració (C)	Complex II-succinat deshidrogenasa	Boscalida	Cantus-BASF	50	WG
MBC - tiofanat	Mitosi i divisió cel·lular	Assemblatge de la β -tubulina en la mitosi	Metil Tiofanat	Cercobin-Certis	45	SC

¹ Segons F.R.A.C. (2015)

^aEC: Emulsió concentrada; SC: Suspensió concentrada; WG: Granulat dispersable en aigua; WP: Pols mullable.

Segons la Fungicide Resistance Action Committee (2015) i Pesticide Properties DataBase (University of Hertfordshire, 2013):

- **Ciproconazol.**

Pertany al grup dels triazoles. És un fungicida d'origen sintètic de contacte i multidiana, amb acció preventiva, curativa i eradicant, inhibidor de la biosíntesi dels ergosterols (esterol) de la membrana afectant a la desmetilació del Carboni 14 (C14).

- **Tebuconazol.**

Pertany al grup dels triazols. És un fungicida i regulador de creixement vegetal d'origen sintètic de contacte i multidiana, amb acció preventiva, curativa i eradicant, inhibidor de la biosíntesi dels esterols de la membrana afectant a la desmetilació del Carboni 14 (C14).

- **Piraclostrobin.**

Pertany al grup de les estrobilurines. És un fungicida d'origen sintètic d'ampli espectre, amb acció preventiva (impedeix la formació i penetració de les espores), curativa (impedeix el desenvolupament del miceli en les fulles), traslaminar i locosistèmica. Bloqueja la respiració mitocondrial, inhibint l'acció de la ubiquinol oxidasa del complex III de la cadena de transport d'electrons. Encara que el seu transport acròpet, basípet i per vapor és pobre, la seva acció traslaminar és molt forta.

- **Metil Tiofanat.**

Pertany al grup dels MBC-tiofanats. És un fungicida d'origen sintètic amb acció preventiva i curativa, per via sistèmica i per contacte, sobre malalties produïdes per fongs endo- i ectoparàsits. Actua impedit el creixement del miceli i la germinació de conidis, ja que impedeix l'assemblatge de la β -tubulina durant la mitosi i divisió cel·lular. A la superfície de la planta es transforma en benzimidazol metilcarbamat -carbendazima-, compost que és millor absorbit, fàcilment transportat per la saba bruta i altament fungitòxic.

- **Boscalida.**

Pertany al grup dels piridincarbomaxides. És un fungicida d'origen sintètic amb activitat traslaminar d'efectes preventius (inhibeix la germinació d'espores), i curatius (impedeix el desenvolupament del tub germinatiu i la formació d'aprosoris). En alguns fongs també té efectes sobre el creixement del miceli i el desenvolupament de les espores. Inhibeix l'enzim succinato deshidrogenasa, que forma part del complex II de la cadena de transport d'electrons de la respiració cel·lular. Així, impedeix el desenvolupament del fong privant a les cèl·lules de la seva font d'energia i de components essencials. És eficaç contra fongs resistents als inhibidors dels esterols, dicarboximides, bencimidazols, anilinoimidines, fenilamides i estrobilurines. Aplicat sobre la superfície foliar, s'absorbeix i es mou en direcció acròpeta cap a les puntes i les vores de les fulles, el moviment traslaminar és del feix al revés de la fulla. La seva mobilitat es considera baixa.

- **Oxiclorur de Coure.**

Es tracta d'un fungicida, bactericida i repel·lent. És un compost inorgànic de contacte amb acció preventiva. El coure absorbit altera els sistemes enzimàtics dels patògens. En fongs actua sobre les espores.

- **Mancozeb.**

Pertany al grup dels ditio-carbamats. És un fungicida d'origen sintètic d'ampli espectre, no sistèmic, de contacte amb acció preventiva i activitat multilloc. Actua interrompent el metabolisme lipídic. És un inhibidor que actua sobre múltiples processos, regulats per diversos gens, la qual cosa fa que sigui molt poc probable l'aparició de resistències en fongs patògens.

- **Captan.**

Pertany al grup dels ftalimides. És un fungicida i bactericida d'origen sintètic, no sistèmic, amb activitat multilloc i acció preventiva i curativa. Reacciona amb els enzims sulfhídrics amb producció de tiofosgeno, substància tòxica per a les cèl·lules fúngiques, i interfereix en el procés de respiració cel·lular dels fongs per el que inhibeix la germinació de les espores i dificulta el creixement i desenvolupament del miceli. S'absorbeix per via radical i foliar.

- **Folpet.**

Pertany al grup dels ftalimides. És un fungicida d'origen sintètic amb activitat multilloc, actuant per via foliar amb acció preventiva. Actua inhibint la divisió cel·lular normal de molts microorganismes. Impedeix l'activitat dels enzims sulfhídrics amb el que s'allibera tiofosgen, producte tòxic per fongs. També interfereix la respiració i el transport d'electrons.

- **Tiram.**

Pertany al grup dels ditio-carbamats. És un fungicida, repel·lent i metabòlit, d'origen sintètic, de contacte amb acció preventiva, no sistèmic, d'ampli espectre, que actua inhibint la germinació d'espores i el creixement del miceli. Presenta propietats repel·lents causats per l'aversion al seu gust.

Els fungicides es varen dissoldre en aigua i es varen afegir a un medi de cultiu de Patata Dextrosa Agar (PDA) prèviament esterilitzat i refredat a 45-50°C. Per a cada fungicida es varen preparar cinc concentracions, 0 - 0'1 - 1 - 10 - 100 mil·ligrams de matèria activa per litre (ppm). El medi de cultiu amb les diferents concentracions de fungicida es va bolcar en plaques Petri on es va deixar solidificar. Finalment es varen dibuixar dos eixos diametralment perpendiculars sobre cadascuna de les plaques, a fi de facilitar la presa de les mesures de creixement micelià.

3.3. SEMBRA I CULTIU.

A partir de les plaques de PDA colonitzades pels fongs a estudi (plaques mare), es varen extreure discs de 8 mm de diàmetre amb l'ajuda d'un cilindre. Aquests discs de miceli es varen sembrar al centre de les plaques de PDA toxicades amb les distintes concentracions de fungicides i el control, inoculant quatre plaques per cada combinació aïllat / fungicida / concentració. Cada placa s'identificà amb l'espècie sembrat, el fungicida, la concentració i la data de sembra. Les plaques sembrades s'introduïren en un incubador a 25°C en l'obscuritat. En total es varen sembrar 1600 plaques [4 fongs x 5 concentracions x 10 fungicides x 4 repeticions) x 2 rèpliques generals].

3.4. LECTURA DE LES PLAQUES.

Els diàmetres de creixement de cada assaig (fungicida x fong) es mesuraren quan les plaques amb la concentració 0 (control) colonitzaren almenys 2/3 parts de la superfície del medi de cultiu, la qual cosa es va comprovar que va ocórrer als tres dies de cultiu pels fongs *D. seriata* i *N. luteum*, i quatre dies de cultiu per *N. mediterraneum* i *N. parvum*. En total s'obtingueren 3200 mesures diametral [1600 plaques petri x 2 mesures/placa petri].

3.5. CÀLCUL DE LA CE₅₀.

La concentració efectiva 50 (CE₅₀) d'un fungicida respecte a un creixement micelià és la concentració que redueix en un 50% el creixement micelià respecte al control.

Per a obtenir les CE₅₀ dels fungicides del nostre assaig en primer lloc es va calcular la mitjana dels 2 diàmetres mesurats en cada placa i a aquest valor es va descomptar el diàmetre del disc sembrat, 8 mm. Dividint el resultat pel nombre de dies des de la sembra es va obtenir el creixement micelià diari i aquest es va expressar com a percentatge respecte al control (concentració 0). Després es varen calcular les rectes de regressió ($y = mx + b$) de cada una de les 4 repeticions x 2 rèpliques de cada combinació fong x fungicida a partir de la transformació pròbit dels percentatges (eix y) i el logaritme en base 10 per a les concentracions (eix x). D'aquesta manera la CE₅₀ es va calcular com el antilogaritme de la concentració resultant per a una $y = 5,00$ que és el valor pròbit per a un 50% (veure annex 7.3). Aquests càlculs es dugueren a terme mitjançant l'ús del programa Microsoft Excel 2011.

L'anàlisi pròbit és el procediment que s'utilitza en aquests tipus d'estudis i altres relacionats amb la toxicologia. Mesura la relació entre la intensitat d'un estímul i la proporció de casos que presenten una certa resposta a aquest estímul. És útil per a les situacions en les quals es disposa d'una resposta dicotòmica que es pensa pot estar influenciada o causada pels nivells d'alguna o algunes variables independents, i és particularment adequada per a dades experimentals. Aquest procediment permetrà estimar la intensitat necessària perquè un estímul arribi a induir una determinada proporció de respostes. (IBM SPSS Statistics 22.0.0, Armonk, New York, U.S.A.)

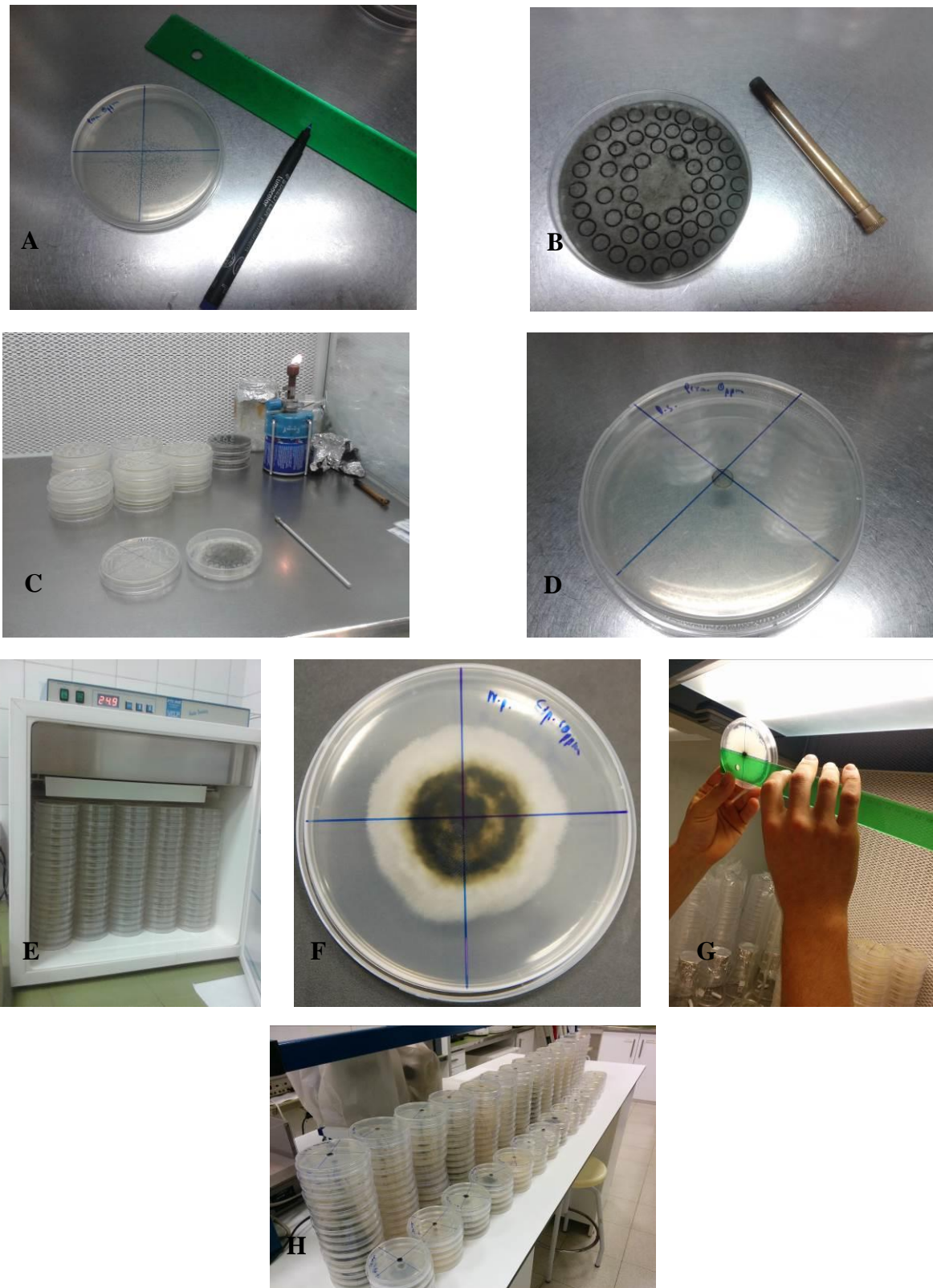


Figura 5. Detall del procés de cultiu *in vitro* dels fongs patògens en medis de toxicats amb fungicides. **A:** Marcatge de les plaques petri amb medi de cultiu gelificat. **B:** Preparació dels discs de miceli. **C:** Sembra dels discs al medi de cultiu. **D:** Fong sembrat a la placa Petri prèviament marcat. **E:** Cultiu dels fongs dins cambra de cultiu d'ambient controlat. **F:** Fong cultivat llest per al mesurament (*Neofusicoccum parvum* dins medi de cultiu toxicat amb Ciproconazol a 10ppm). **G:** Mesurament del creixement micelià. **H:** Disposició de plaques Petri recent mesurades.

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ.

Es va realitzar un anàlisi de variància (ANOVA) comparant globalment les dues rèpliques de l'assaig, podent concloure que no hi havia diferències significatives entre les dues ($P=0.3446$). Es realitzà mitjançant el programa STATGRAPHICS Centurion XVI (Statpoint Technologies Warrenton, Virginia, U.S.A.)

Els resultats obtinguts de l'assaig es mostren a la següent taula.

Taula 6. Valors de la CE_{50} per a la inhibició *in vitro* del creixement micelià de *N. luteum*, *N. mediterraneum*, *N. parvum* i *D. seriata* per fungicides de distint grups químics.

Fungicida	Creixement micelià ^a				LSD(1)
	<i>N. luteum</i>	<i>N. mediterraneum</i>	<i>N. parvum</i>	<i>D. seriata</i>	
Oxiclorur de coure	96,99 A e ^b	84,01 A ab	67,67 A e	>100 B c	82,80
Ciproconazol	0,27 A a	0,79 AB a	4,33 C ab	1,87 B a	1,43
Tebuconazol	0,09 A a	0,21 B a	0,26 B a	0,15 A a	0,06
Captan	69,42 B d	50,70 B ab	3,84 A ab	21,04 A a	23,61
Folpet	66,96 B d	84,85 B ab	40,92 A d	44,43 A ab	20,26
Mancozeb	37,16 A c	>100 B b	22,88 A c	7,05 A a	40,54
Tiram	13,82 A b	56,65 B ab	15,77 A bc	35,00 AB ab	31,21
Piraclostrobin	0,05 A a	1,00 B a	0,10 A a	0,09 A a	0,17
Boscalida	0,34 A a	>100 B c	6,86 A ab	>100 A b	204,3
Metil Tiofanat	8,33 B ab	0,65 A a	0,77 A a	0,67 A a	1,81
LSD(2)	12,11	118,30	12,86	83,66	

^a Valors de la EC_{50} (mg m.a. L⁻¹).

^b Menor diferència significativa: mitjanes seguides per la mateixa lletra no difereixen significativament ($P<0.05$). Lletres majúscules són per a la comparació de mitjanes de la mateixa fila. Lletres minúscules són per a la comparació de mitjanes de la mateixa columna.

LSD_{0.05} (1) és per a la comparació de mitjanes entre patògens amb el mateix fungicida sobre el creixement micelià.

LSD_{0.05} (2) és per a la comparació de mitjanes entre fungicides amb el mateix patògen sobre el creixement micelià.

(LSD: Least Significant Difference)

Per *N. luteum* els fungicides amb menor concentració efectiva per a la inhibició del creixement micelià en un 50% (CE_{50}), foren el Ciproconazol, Tebuconazol, Piraclostrobin i Boscalida amb valors <0.5 mg de matèria activa per litre; per *N. mediterraneum* foren el Ciproconazol, Tebuconazol, Piraclostrobin i Metil Tiofanat amb valors ≤ 1.0 mg m.a. L⁻¹; per *N. parvum* foren el Tebuconazol, Piraclostrobin i Metil Tiofanat amb valors <1.0 mg m.a. L⁻¹; i finalment per *D. seriata* foren el Tebuconazol, Piraclostrobin i Metil Tiofanat amb valors ≤ 1.0 mg m.a. L⁻¹.

Dit això, els dos fungicides més eficients en la inhibició de creixement micelià en tots els fong assajats foren el Tebuconazol amb valors entre 0.09 i 0.26 mg m.a. L⁻¹ amb una LSD (Least Significant Difference) de 0.06 mg m.a. L⁻¹, i el Piraclostrobin amb valors entre 0.05 i 1.0 mg m.a. L⁻¹ amb una LSD de 0.17 mg m.a. L⁻¹. Seguit d'aquests dos, el Ciproconazol resultà constant en tots els fong amb valors entre 0.27 i 1.87 mg m.a. L⁻¹ amb un LSD de 1.43 mg m.a. L⁻¹ exceptuant el *N. parvum*, i el Metil Tiofanat amb valors entre 0.65 i 0.77 mg m.a. L⁻¹ amb un LSD de 1.81 mg m.a. L⁻¹, exceptuant el *N. luteum*.

Per al fong *N. luteum* es distingiren cinc grups significativament diferents entre ells ($P < 0.05$) de fungicides. L'ordre de major a menor eficiència fou el següent: en el grup més eficient trobam el Ciproconazol, Tebuconazol, Piraclostrobin i Boscalida; seguit per el grup format per Tiram; el Mancozeb; el Captan i el Folpet; i finalment el fungicida que presenta els majors valors de CE₅₀ i per tant el menys eficient de tots és el Oxiclour de Coure. El Metil Tiofanat no es trobà significativament distint als dos primers grups.

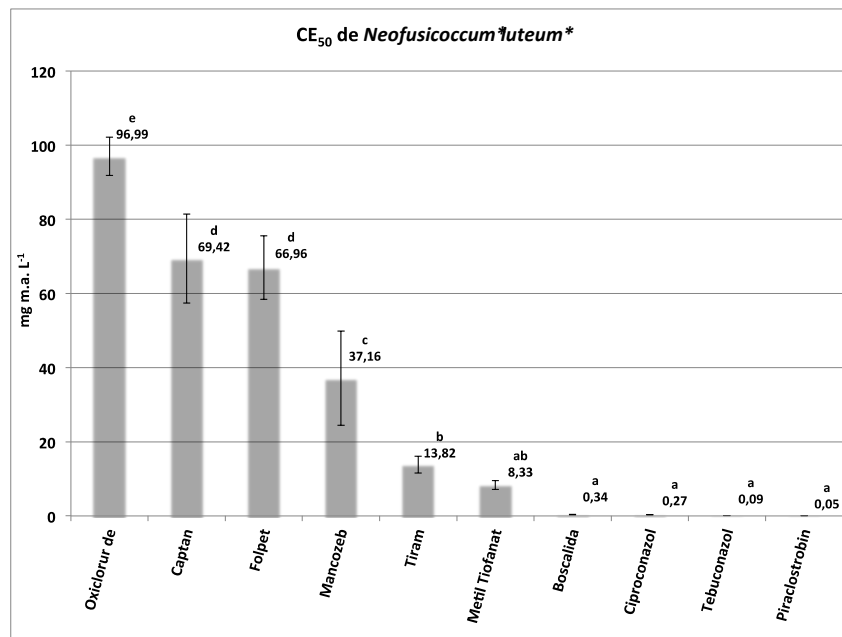


Figura 6. Representació de la CE₅₀ dels fungicides respecte a *N. luteum*. Les barres de error representen el error estàndard.

Per al fong *N. mediterraneum* es distingiren tres grups significativament diferents entre ells ($P < 0.05$) de fungicides. L'ordre de major a menor eficiència fou el següent: en el grup més eficient trobam el Ciproconazol, Tebuconazol, Piraclostrobin i Metil Tiofanat; seguit per el Mancozeb; i finalment Boscalida. Els fungicides Oxiclour de Coure, Captan, Folpet, i Tiram no es trobaren significativament distint als dos primers grups. Cal destacar que els fungicides que donaren valors CE₅₀ superior a 100 mg m.a. L⁻¹ no s'inclogueren a la figura de barres, ja que són valors que surten dels paràmetres de mesura d'aquest estudi.

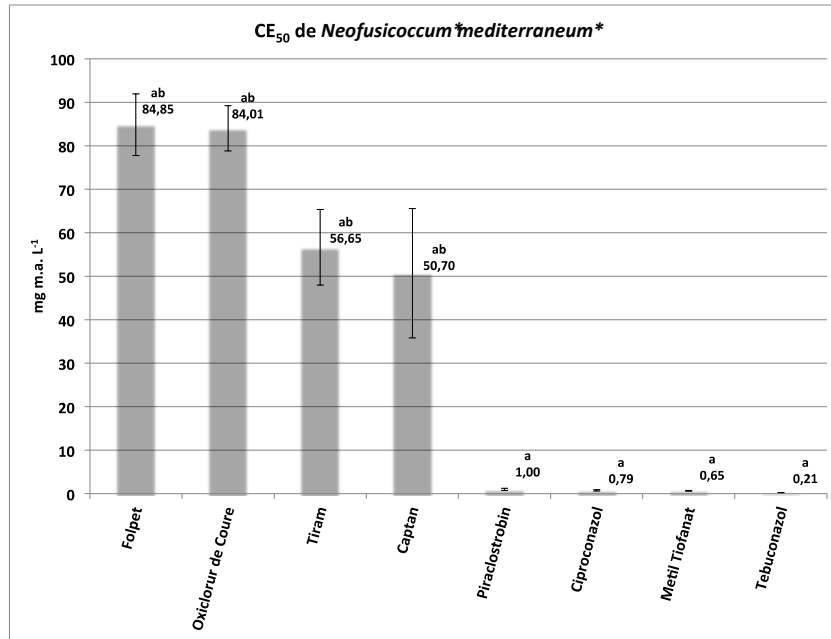


Figura 7. Representació de la CE₅₀ dels fungicides respecte a *N. mediterraneum*. Les barres de error representen el error estàndard.

Per al fong *N. parvum* es distingiren quatre grups significativament diferents entre ells ($P < 0.05$) de fungicides. L'ordre de major a menor eficiència fou el següent: en el grup més eficient trobam el Tebuconazol, Piraclostrobin i el Metil Tiofanat; seguit per el grup format per el Mancozeb; el Folpet; i finalment el Oxidlorur de Coure. Els fungicides Ciproconazol, Captan, i Boscalida no es trobaren significativament distint als dos primers grups, i el Tiram entre el segon i tercer grup.

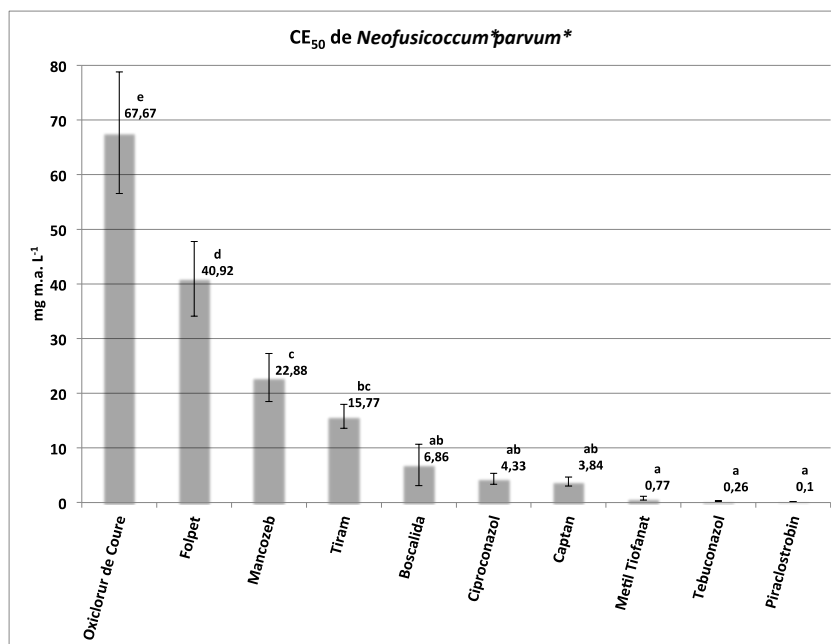


Figura 8. Representació de la CE₅₀ dels fungicides respecte a *N. parvum*. Les barres de error representen el error estàndard.

Per al fong *D. seriata* es distingiren tres grups significativament diferents entre ells ($P < 0.05$) de fungicides. L'ordre de major a menor eficiència fou el següent: en el grup més eficient trobam el Ciproconazol, Tebuconazol, Captam, Mancozeb, Piraclostrobin i Metil Tiofanat; seguit per el grup format per Boscalida; finalment el Oxiclorur de Coure. Els fungicides Folpet i Tiram no es trobaren significativament distint als dos primers grups. Cal destacar que els fungicides que donaren valors CE_{50} superior a 100 mg m.a. L⁻¹ no s'incloueren a la figura de barres, ja que són valors que surten dels paràmetres de mesura d'aquest estudi.

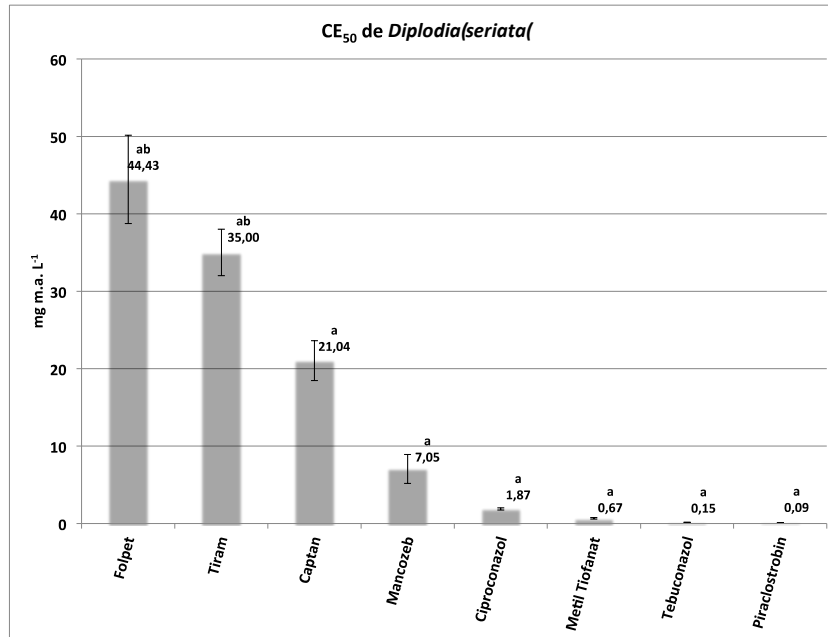


Figura 9. Representació de la CE_{50} dels fungicides respecte a *D. seriata*. Les barres de error representen el error estàndard.

Els nostres resultats reflexen que els dos fungicides més eficients en la inhibició de creixement micelià en tots els fong assajats foren el Tebuconazol i el Piraclostrobin, degut als seus baixos valors de CE_{50} . Això suporta les dades obtingudes per Twizeyimana *et al.* 2013, que varen estudiar en cultiu *in vitro* l'efecte de 12 fungicides distints sobre la inhibició del creixement micelià de diverses espècies de Botryosphaeriaceae, entre elles *N. luteum* i *N. parvum* procedents d'advocat. Entre els cinc fungicides que resultaren ser els més efectius, el Piraclostrobin fou un d'ells, encara que els seus valors per a la mitjana i desviació estàndard de la CE_{50} foren lleugerament més baixos que els obtinguts al nostre estudi. Dos altres fungicides assajats de la mateixa família química del Tebuconazol (Triazols) no resultaren significativament diferents al Piraclostrobin, i per tant, es consideraren igual de eficients. Per altra banda, Pitt *et al.* 2012 destacaren entre els deu fungicides més eficients de vint que assajaren, el Tebuconazol i el Piraclostrobin, sobre quatre espècies fúngiques de la família Botryosphaeriaceae procedents de vinya, entre les quals trobam *D. seriata* i *N. parvum*. Per aquests fungicides obtingueren valors similars als del nostre estudi.

Seguit d'aquests dos fungicides, el Ciproconazol resultà útil en tots els fongs exceptuant el *N. parvum*, i el Metil Tiofanat també, exceptuant el *N. luteum*. Al mateix estudi comentat anteriorment de Twizeyimana *et al.* 2013 s'obtenen uns resultats similars als nostres, encara que els autors consideren el Metil Tiofanat inefectiu ja que resulten molt altes en comparació amb la resta de les seves dades. No obstant, existeixen altres estudis on s'avaluaren *in vitro* fungicides contra fongs Botryosphaeriaceae aïllats de surera (Luque *et al.*, 2008) i de albercoquer i melicotoner (Li *et al.*, 1995) on el Metil Tiofanat resultà dels més efectius.

En altre estudi de Gramaje *et al.* 2009 en el que s'estudia l'acció de 14 fungicides sobre la inhibició del creixement micelià de fongs de la fusta de vinya del gènere *Phaeomoniella* i *Phaeoacremonum*, s'obtingueren resultats de CE₅₀ similars als nostres amb Tebuconazol, amb Metil Tiofanat i amb Azoxystrobin, un fungicida del mateix grup químic que el Piraclostrobin. Dit això, els nostres resultats es podrien considerar útils pel control d'altres fongs de la fusta d'ametller distints als assajats en aquest estudi, que de fet també s'han aïllat conjuntament a les espècies de Botryosphaeriaceae assajades a les prospeccions de camp (Gramaje *et al.*, 2012).

Segons el mateix estudi de Gramaje *et al.* 2009, el Oxiclorur de Coure donà valors CE₅₀ molt similars als nostres, considerant-lo ineficient en la inhibició del creixement micelià. Això podria ser degut al fet de ser un inhibidor de la germinació d'espores dels fongs, no un inhibidor de creixement micelià. El mateix ocorre amb Tiram, encara que fou molt més eficient que el Oxiclorur de Coure, possiblement per mors de ser en aquest cas tant un inhibidor del creixement micelià com un inhibidor de la germinació d'espores.

5. CONCLUSIONS

5. CONCLUSIONS.

- Els fungicides Tebuconazol i Piraclostrobin són, en general, els més eficients en la inhibició del creixement micelià dels fongs Botryosphaeriaceae *Neofusicoccum luteum*, *N. mediterraneum*, *N. parvum* i *D. seriata* aïllats d'ametllers a Mallorca.
- El Ciproconazol i Metil Tiofanat són eficients en la inhibició del creixement micelià del *Neofusicoccum luteum*, *N. mediterraneum*, *N. parvum* i *D. seriata*, exceptuant en el fong *N. parvum* i *N. luteum* respectivament.
- Amb els nostres resultats i els de altres autors, considerem que els fungicides Tebuconazol, Piraclostrobin i Metil Tiofanat podrien ser candidats per a futurs estudis de control d'altres fongs (no Botryosphaeriaceae) que també s'han aïllat en mostres d'ametller amb decaïment a Mallorca.
- Els altres fungicides assajats presenten valors CE₅₀ massa alts per ser considerats eficients en la inhibició del creixement micelià i per tant, no es recomana el seu ús en futurs estudis sobre l'aplicació d'aquests fungicides *in planta*.

6. BIBLIOGRAFIA

6. BIBLIOGRAFIA.

- ADESEMOYE, A. O., ESKALEN, A. 2011a. First Report of *Spencermartinsia viticola*, *Neofusicoccum australe*, and *N. parvum* causing branch Canker of *Citrus* in California. *Plant Disease* 95:770
- ADESEMOYE, A. O., ESKALEN, A. 2011b. First Report of *Eutypella* spp. Associated with Branch Canker of *Citrus* in California. *Plant Disease* 95:1187
- AGARWAL, D.K., CHOWDHRY, P.N., SARBHOY, A.K. 1992. Contributions to our knowledge of *Aplosporella*. *Mycotaxon* 45: 389–403
- AGUSTÍ, M. 2004. Fructicultura. Ed Mundi-Prensa, Madrid, España. 496 pp.
- ANÒNIM 2008. Tree of Life Web Project,. Botryosphaerales. Version 09 January 2008 (temporary). <<http://tolweb.org/Botryosphaerales/60125/2008.01.09>> in The Tree of Life Web Project, <<http://tolweb.org/>> [Data consulta: 01-07-2015].
- BASKARATHEVAN, J., JASPERS, M. V., JONES, E. E., RIDGWAY, H. J. 2013. Development of isolate-specific markers for *Neofusicoccum parvum* and *N. luteum* and their use to study rain water splash dispersal in the vineyard. *Plant Pathology* 62:501-509.
- BESTER, W., CROUS, P.W., FOURIE, P.H. 2007. Evaluation of fungicides as potencial grapevine pruning wound protectants against *Botryosphaeria* species. *Australas. Plant Pathol.* 36:73-77.
- DAMM, U., CROUS, P.W., 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., FOURIE, P.H., CROUS, P.W. 2007b. *Aplosporella prunicola*, a novel species of anamorphic Botryosphaeriaceae. *Fungal Diversity* 27: 35–43.
- DÍAZ, G. A., LATORRE, B. A. 2013. Efficacy of paste and liquid fungicide formulations to protect pruning wounds against pathogens associated with grapevine trunk diseases in Chile. *Crop Protection* 46:106-112.

- ESKALEN, A., ADESEMOYE, A., WANG, D. 2011 Identification of different species causing Botryosphaeriaceae canker in citrus reveal *Neofusicoccum mangiferae* with Scytalidium-like synanomorph. *Phytopathology* 101: S49
- FAOSTAT. Divisió de estadística de la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Disponible *online*: <<http://faostat.fao.org>> (Consulta:13 de juny de 2015).
- 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.
- F.R.A.C. 2015. Fungicide Resistance Action Committee. <<http://www.frac.info/>> [Data consulta: 15-06-2015].
- GRAMAJE, D., AROCA, A., RAPOSO, R., GARCÍA-JIMÉNEZ, J., ARMENGOL, J., 2009. Evaluation of fungicides to control Petri disease pathogens in the grapevine propagation process. *Crop Protection* 28: 1091-1097
- 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* 2012 Jun; 28: 1–13.
- HALLEEN, F., FOURIE, P. H., LOMBARD P. J. 2010. Protection of grapevine pruning wounds against *Eutypa lata* by biological and chemical methods. *South Afr. J. Enol. Vitic.* 31:125-132.
- 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.
- LAUNDON, G.F. 1973. *Botryosphaeria obtusa*, *B. stevensii* and *Oththia spireae* in New Zealand. *Transactions of the British Mycological Society* 61: 369–374.
- LI, H. Y., CAO, R. B., AND MU, Y. T. 1995. *In vitro* inhibition of *Botryosphaeria dothidea* and *Lasiodiplodia theobromae*, and chemical control of gummosis disease of jappanese apricot and peach trees in Zhejiang province, China. *Crop Prot.* 14: 187-191.
- LUQUE, J., PERA, J., AND PARLADÉ, J. 2008. Evaluation of fungicides for the control of *Botryosphaeria corticola* on cork oak in Catalonia (NE Spain). *For. Pathol.* 38: 147-155.

- MA, Z., MORGAN, D. P., FELTS, D., MICHAILIDES, T. J. 2002. Sensitivity of *Botryosphaeria dothidea* from California pistacho to tebuconazole. *Crop Prot.* 21:829-835.
- 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.
- MCALPINE, D. 1902. Fungus diseases of stone-fruit trees in Australia and their treatment. Agriculture Department of Victoria, Melbourne, Australia.
- 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.
- MÓRA, J. 2014. Patogenicitat de fongs de fusta associats al decaïment d'ametllers a Mallorca. Treball Final de Grau-Universitat de les Illes Balears
- 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.
- MOYO, P., ALLSOPP, E., ROETS, F., MOSTERT, L., HALLEEN, F. 2014. Arthropods vector grapevine trunk diseases pathogens. *Phytopathology* doi 10.1094/PHYTO-11-13-0303-R.
- OLMO, D., MORA, J., GRAMAJE, D., ARMENGOL, J. 2014. Patogenicidad de hongos de la madera asociados al decaimiento de almendros en Mallorca. Póster. XV Congreso de la sociedad española de fitopatología. Lleida, 7 a 10 de Octubre de 2014.
- PITT, W. M., SOSNOWSKI, M. R., HUANG, R., QIU, Y., STEEL, C. C., SAVOCCHIA, S. 2012. Evaluation of fungicides for the management of *Botryosphaeria* canker of grapevines. *Plant Dis.* 96:1303-1308
- RALLO, J. I SACARÉS, J. 1997. La història de l'ametller a Mallorca Mitjançant la bibliografia. Ed. De pinte en Ample. Lluçmajor, España. 52 pp.
- ROLSHAUSEN, P. E., ÚRBEZ-TORRES, J. R., ROONEY-LATHAM, S., ESKALEN, A., SMITH, R. J., & GUBLER W. D. 2010. Evaluation of pruning wound susceptibility and protection against

- fungi associated with grapevine trunk diseases. American Journal of Enology and Viticulture, 61: 113–119.
- RUBÍ, V. 1980. El Almendro. Ed. Delegacion del Ministerio de Agricultura en Baleares. Dilagro, Lérída, España. 267 pp.
- SAVOCCHIA, S., LAURENT, E. N., STODART, B. J., STEEL, C. C. 2004. Botryosphaeria canker and sensitivity to fungicides in vitro. In: 43rd South. Afr. Soc. Plant Pathol. Congr. Hartenbos, South Africa.
- SERRA, S., MANNONI, M. A., LIGIOS, V. 2008. Studies on the susceptibility of pruning wounds to infection by fungi involved in grapevine wood diseases in Italy. Phytopathologia Mediterranea 47:234-246.
- SLIPPERS, B., CROUS, P. W., DENMAN, S., COUTINHO, T. A. , WINGFIELD, B.D., WINGFIELD, M. J. 2004. Combined multiple gene genealogies and phenotypic characters differentiate several species previously identified as Botryosphaeria dothidea. Mycologia 96: 83–101.
- 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
- SLIPPERS, B. I WINGFIELD, M.J. 2007. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impacte. Fungal Biology Reviews 21: 90-106.
- SOSNOWSKI, M.R., LOSCHIAVO, A.P., WICKS, T.J., SCOTT, E.S., 2013. Evaluating treatments and spray application for the protection of grapevine pruning wounds from infection by *Eutypa lata*. Plant Disease 97: 1599-1604
- SUTTON, B.C. 1980. The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew.
- PENNYCOOK, S. R. Y SAMUELS G. J., 1985. Botryosphaeria and Fusicoccum species associated with ripe fruit rot of Actinidia deliciosa (Kiwifruit) in New Zealand. Mycotaxon 24, 445–58.

- PITT, W.M., SOSNOWSKI, M. R., HUANG, R., QIU, Y., STEEL, C. C., SAVOCCHIA, S., 2012. Evaluation of fungicides for the management of *Botryosphaeria* canckers of grapevines. *Plant Disesae* 96:1303-1308.
- 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
- TROULLAS, F. P., GUBLER, W. D. 2010. Host range, biological variation, and phylogenetic diversity of *Eutypa lata* in California. *Phytopathology* 100:1048-1056.
- TWIZEYIMANA , M., MCDONALD, V., MAYORQUIN, J.S., WANG, D. H., NA, F., AKGÜL, D. S., ESKALEN, A. 2013. Effect of fungicide Aplication on the management of avocado brach canker (formerly *Dothiorella* Canker) in California. *Plant Disease* 97:897-902.
- UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE, 2013. The Pesticide Properties DataBase (PPDB) developed by the Agriculture & Environment Research Unit (AERU), University of Hertfordshire, 2006-2013. <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>> [Data consulta: 15-06-2015].
- ÚRBEZ-TORRES, J. R. 2011. The status o *Botryosphaeriaceae* species infecting grapevines. *Phytopathologia mediterranea* 50 (suplement): 5-45
- ÚRBEZ-TORRES, J. R., GUBLER, W.D. 2011. Susceptibility of grapevine pruning wounds to infection by *Lasiodiplodia theobromae* and *Neofusicoccum parvum*. *Plant Pathology* 60:261-270.
- 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.

7. ANNEXES

7. ANNEXES.

7.1. DETALL FOTOGRÀFIC DEL CREIXEMENT MICELIÀ DE LA RELACIÓ FUNGICIDA-FONG-CONCENTRACIÓ.

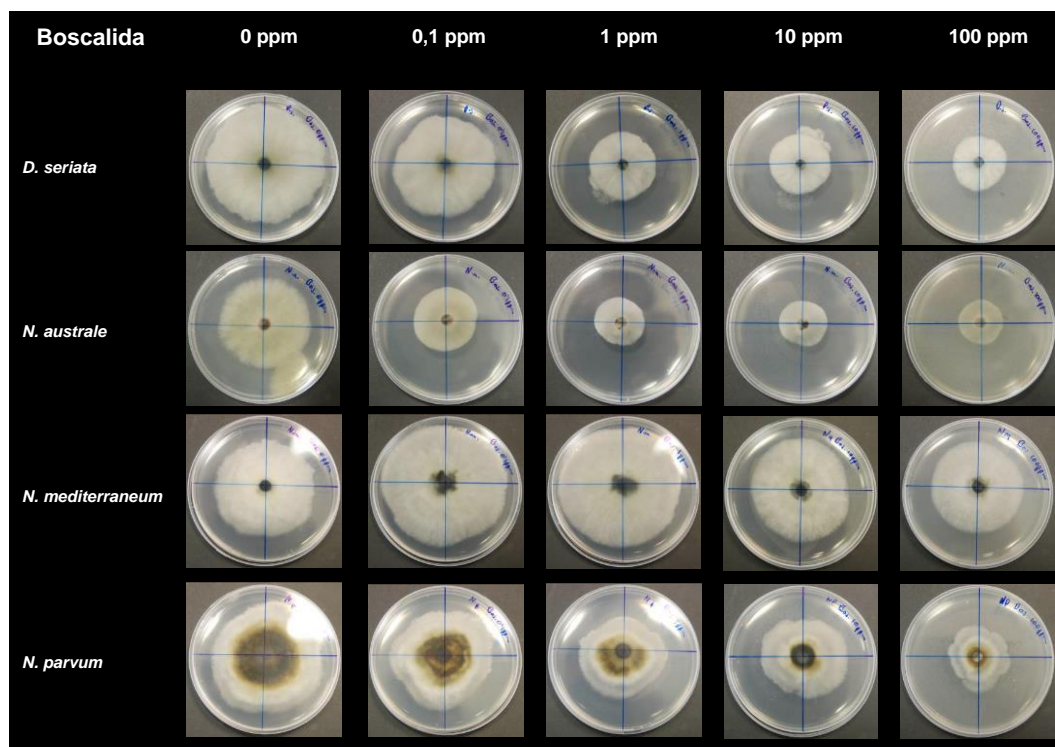


Figura 10. Detall fotogràfic del creixement micelià dels fongs en funció de les concentracions del fungicida Boscalida.

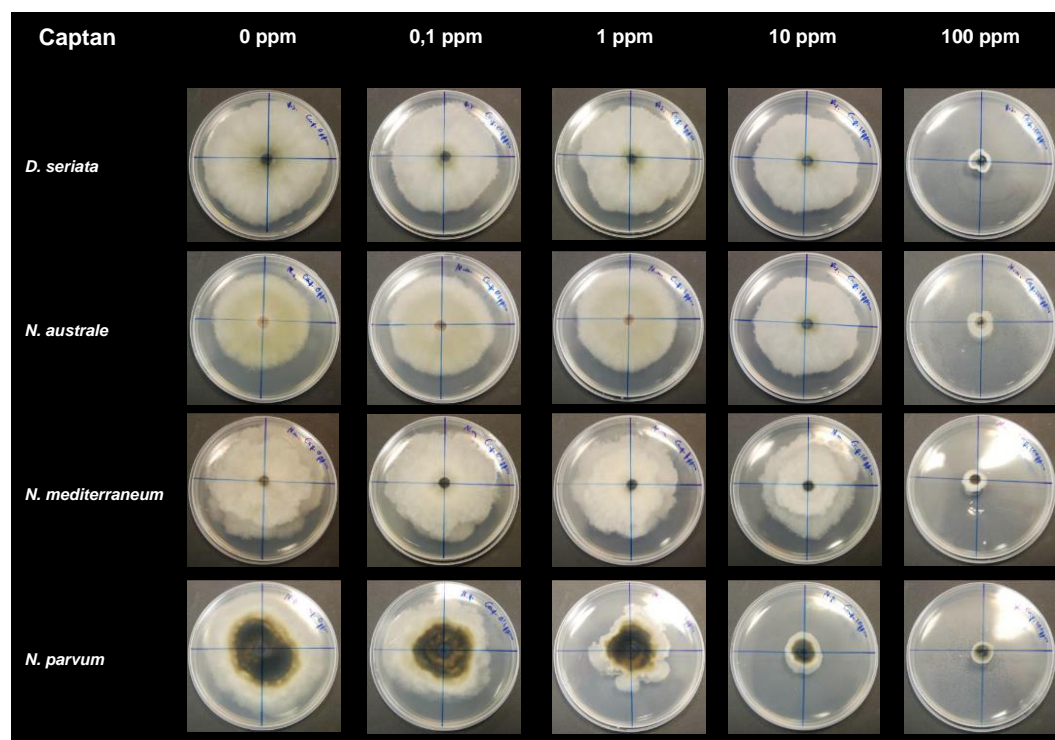


Figura 11. Detall fotogràfic del creixement micelià dels fongs en funció de les concentracions del fungicida Captan.

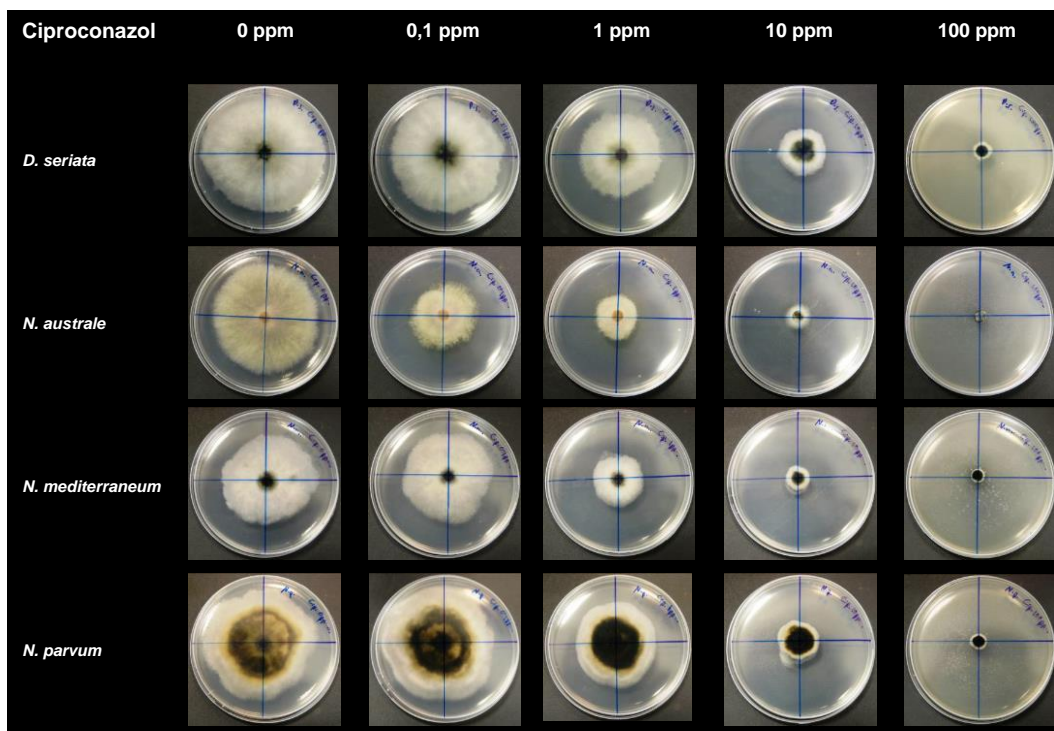


Figura 12. Detall fotogràfic del creixement micelià dels fongs en funció de les concentracions del fungicida Ciproconazol.

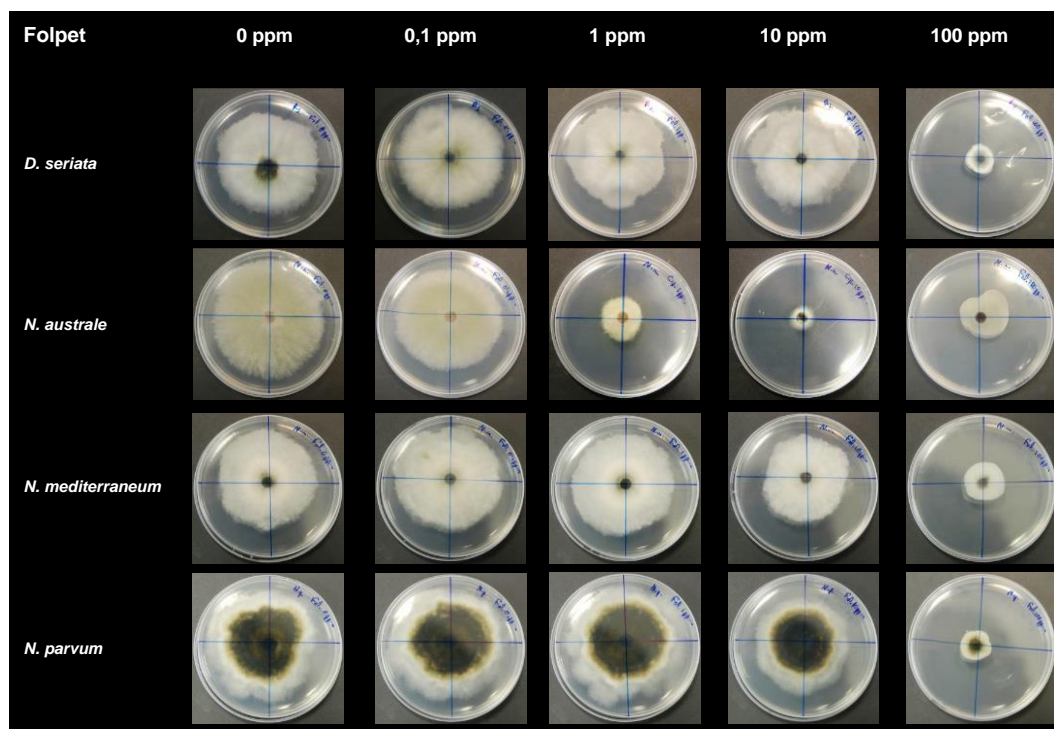


Figura 13. Detall fotogràfic del creixement micelià dels fongs en funció de les concentracions del fungicida Folpet.

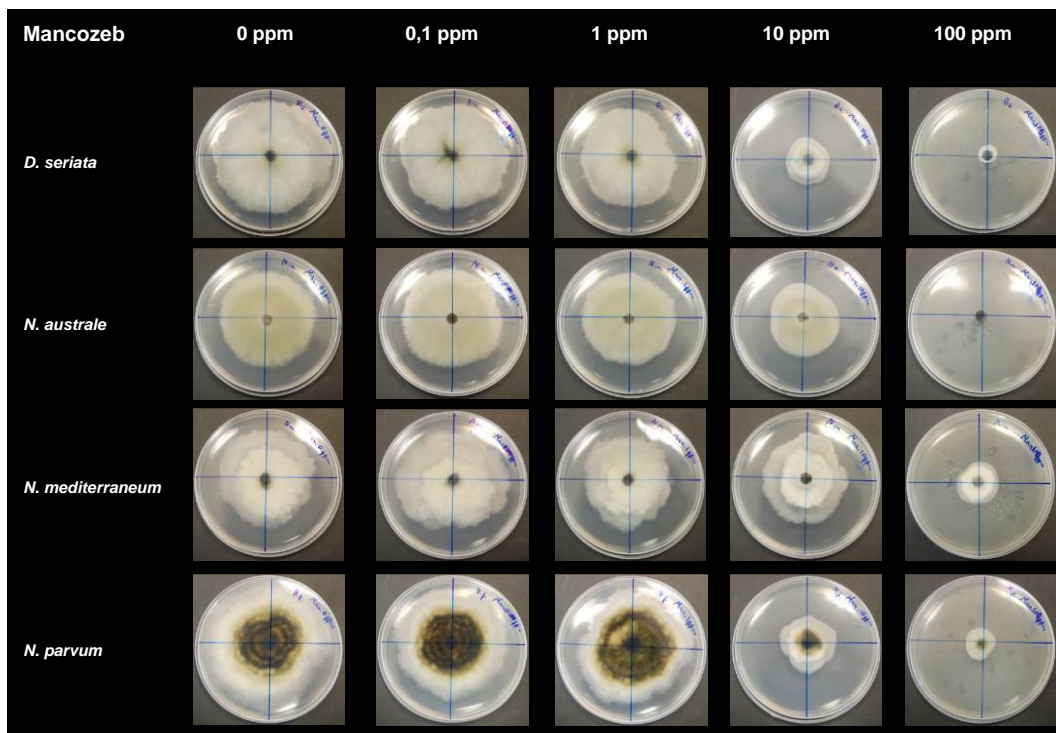


Figura 14. Detall fotogràfic del creixement micelià dels fongs en funció de les concentracions del fungicida Mancozeb.

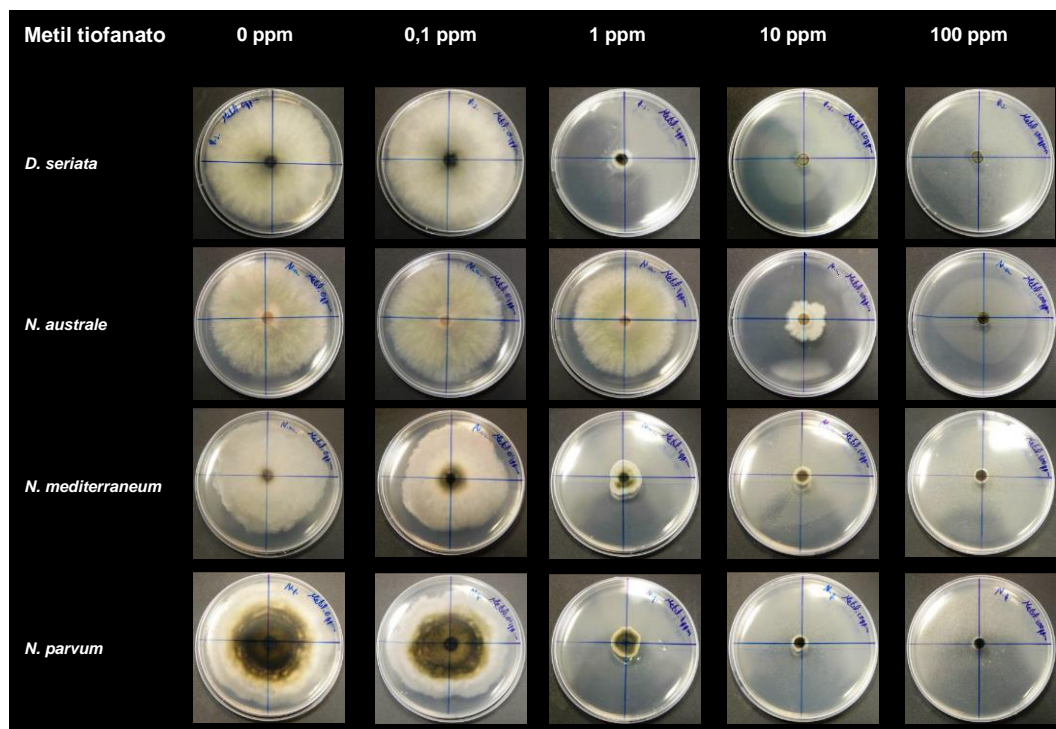


Figura 15. Detall fotogràfic del creixement micelià dels fongs en funció de les concentracions del fungicida Metil Tiofanat.

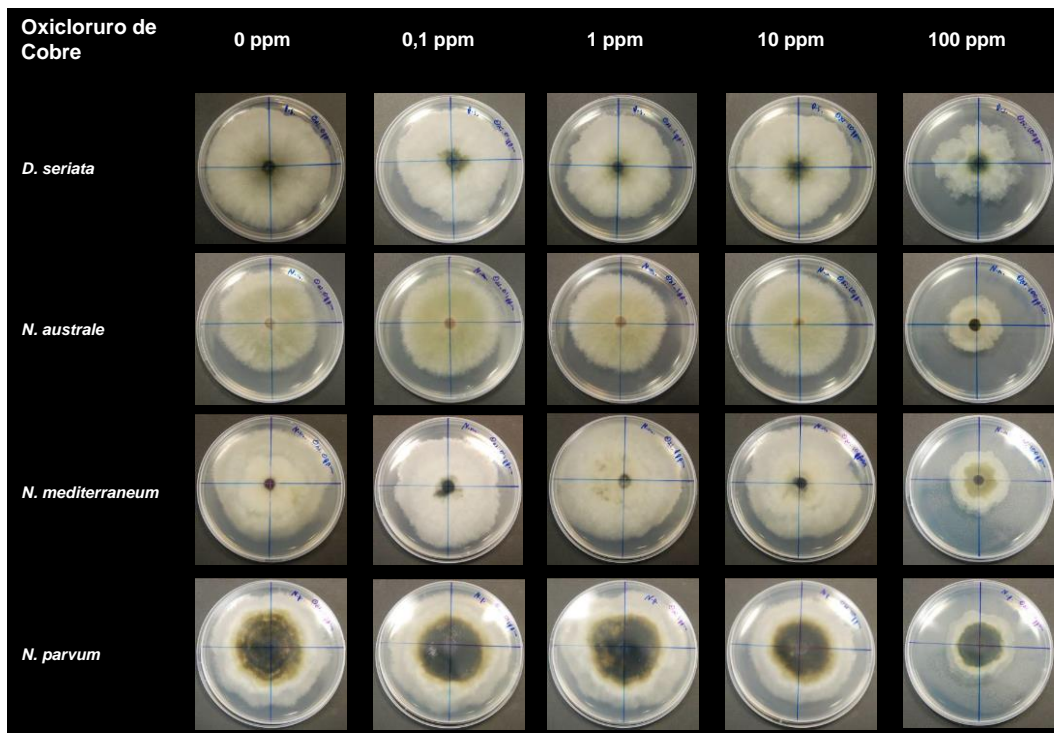


Figura 16. Detall fotogràfic del creixement micelià dels fongs en funció de les concentracions del fungicida Oxiclorur de Coure.

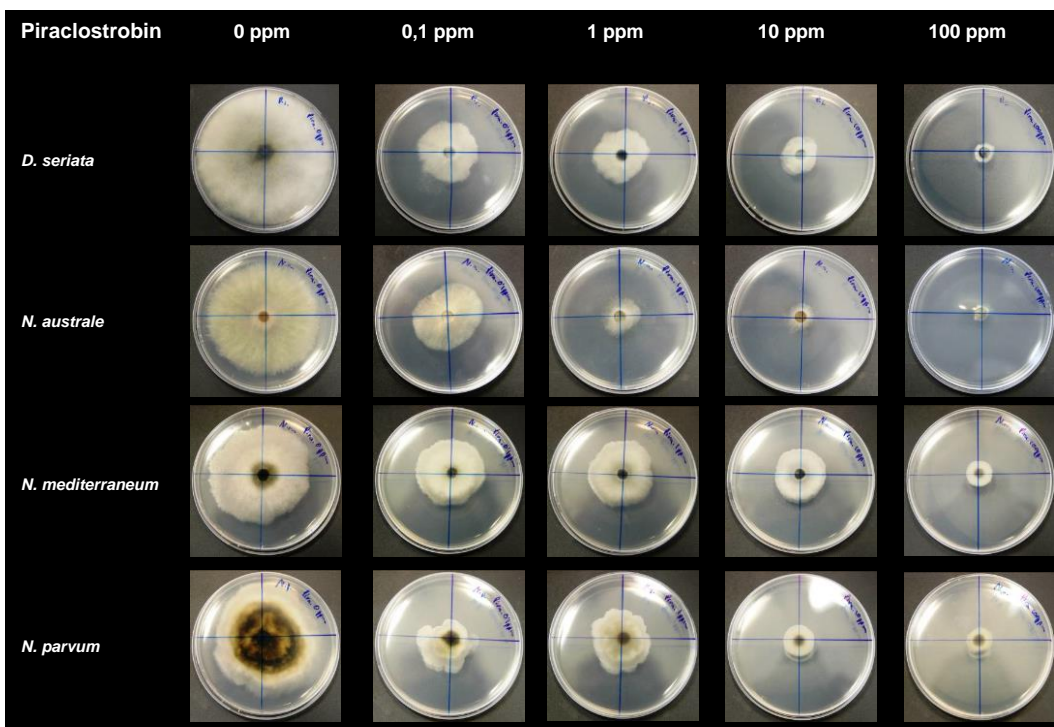


Figura 17. Detall fotogràfic del creixement micelià dels fongs en funció de les concentracions del fungicida Piraclostrobin.

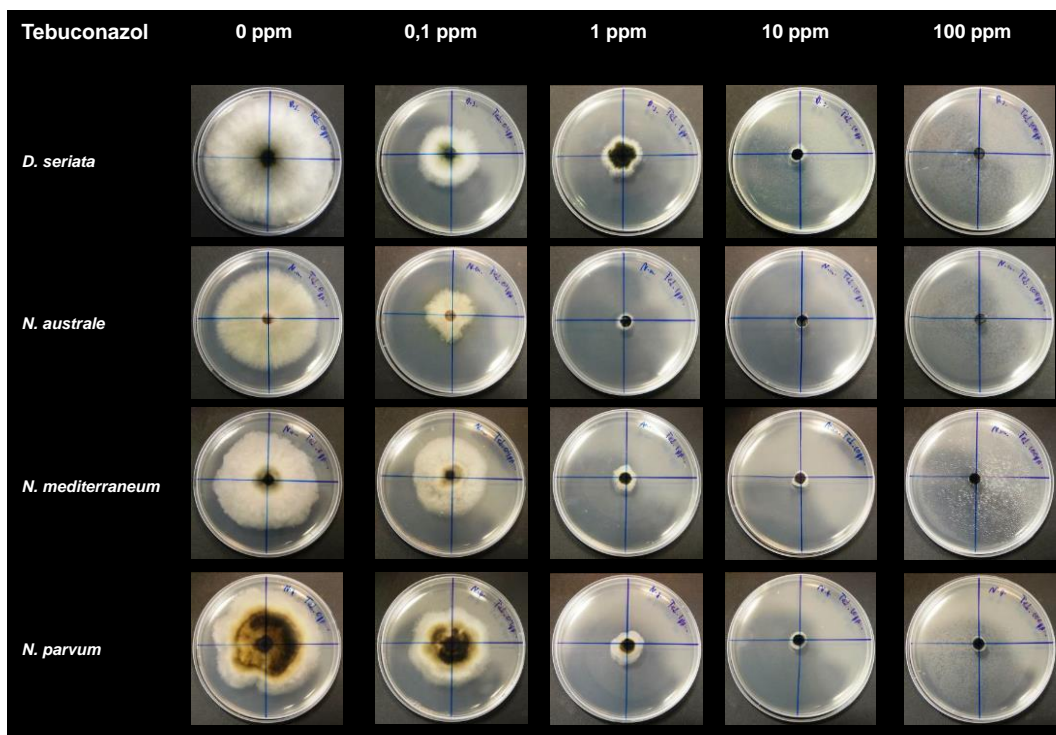


Figura 18. Detall fotogràfic del creixement micelià dels fongs en funció de les concentracions del fungicida Tebuconazol.

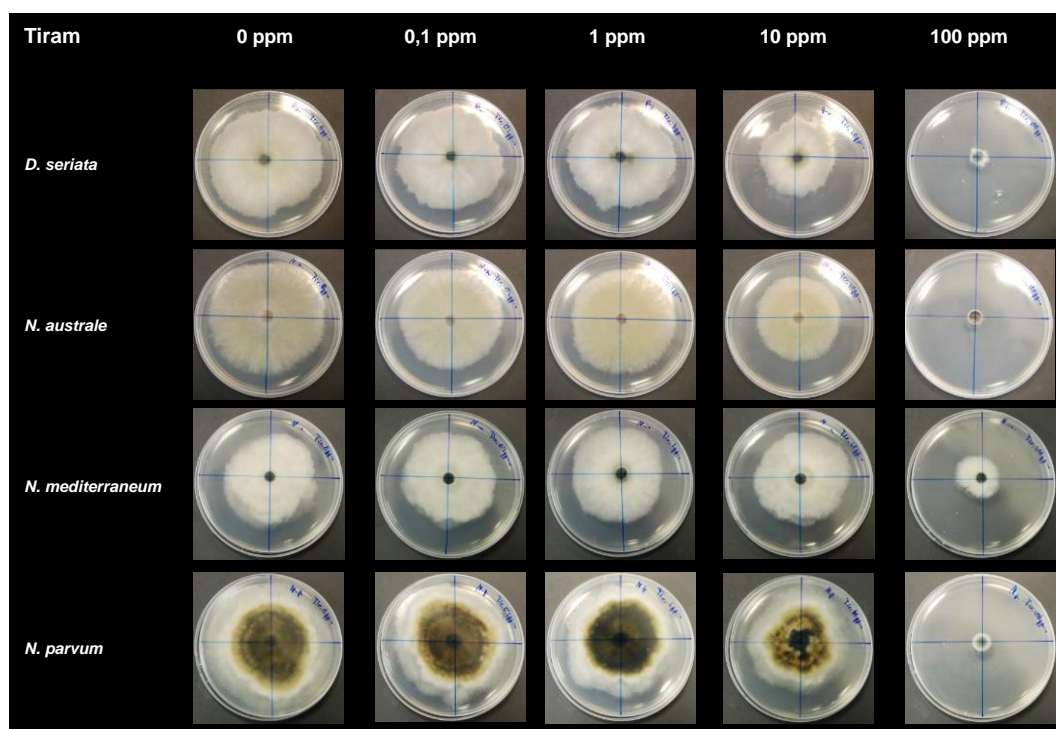


Figura 19. Detall fotogràfic del creixement micelià dels fongs en funció de les concentracions del fungicida Tiram.

7.2. Exemple del càlcul de la CE₅₀. Cas pràctic del fungicida Ciproconazol aplicat al fong *Neofusicoccum luteum*.

A. Valors inicials.

A la taula que ve a continuació es poden trobar els valors dels diàmetres de creixement micelià de cada placa petri respecte a cada concentració, de la primera rèplica de l'assaig. De cada placa Petri s'obtingueren dos valors diametral (cm), i per cada concentració (0'0, 0'1, 1'0, 10'0, 100'0) es feren quatre plaques Petri.

Fungicida: CIPROCONAZOL		Diàmetre de Creixement		
Data de sembra: 04/11/14		Micelià (cm)		
Concentració		<i>Neofusicoccum luteum</i>		
		Data mesura 07/11/14		
Control [0ppm]	Placa 1	6,5	6,2	
		6,3	6,1	
	Placa 2	6,7	6,7	
		6,6	6,6	
	[0'1ppm]	Placa 1	2,8	2,8
			3,7	3,6
		Placa 2	3,0	3,2
			4,0	3,1
[1ppm]	Placa 1	2,4	2,2	
		2,4	2,1	
	Placa 2	2,2	2,4	
		2,4	2,2	
	[10ppm]	Placa 1	1,5	1,5
			1,2	1,2
		Placa 2	1,5	1,2
			1,3	1,3
[100ppm]	Placa 1	0,8	0,8	
		0,8	0,8	
	Placa 2	0,8	0,8	
		0,8	0,8	
	[100'0]	Placa 1	0,8	0,8
			0,8	0,8
		Placa 2	0,8	0,8
			0,8	0,8

B. Mitjanes.

Per obtenir les mitjanes del diàmetres, primer es restà al diàmetre mesurat, el diàmetre inicial, obtenint els valors situats a la columna de Diàmetre de Creixement. Després es realitzà la mitjana entre els dos valors de cada placa Petri, obtenint els valors a la columna anomenada Mitjana Diàmetres.

Fungicida: CIPROCONAZOL		Diàmetre de Creixement		Diàmetre Inicial	Diàmetre de Creixement	Mitjana Diàmetres
Data de sembra: 04/11/14		Micelià (cm)				
Concentració		Neofusicoccum luteum				
		Data mesura 07/11/14				
Control [0ppm]	Placa 1	6,5	0,8	5,7	5,55	
		6,2	0,8	5,4		
	Placa 2	6,3	0,8	5,5	5,40	
		6,1	0,8	5,3		
	Placa 3	6,7	0,8	5,9	5,90	
		6,7	0,8	5,9		
	Placa 4	6,6	0,8	5,8	5,80	
		6,6	0,8	5,8		
[0'1ppm]	Placa 1	2,8	0,8	2,0	2,00	
		2,8	0,8	2,0		
	Placa 2	3,7	0,8	2,9	2,85	
		3,6	0,8	2,8		
	Placa 3	3,0	0,8	2,2	2,30	
		3,2	0,8	2,4		
	Placa 4	4,0	0,8	3,2	2,75	
		3,1	0,8	2,3		
[1ppm]	Placa 1	2,4	0,8	1,6	1,50	
		2,2	0,8	1,4		
	Placa 2	2,4	0,8	1,6	1,45	
		2,1	0,8	1,3		
	Placa 3	2,2	0,8	1,4	1,50	
		2,4	0,8	1,6		
	Placa 4	2,4	0,8	1,6	1,50	
		2,2	0,8	1,4		
[10ppm]	Placa 1	1,5	0,8	0,7	0,70	
		1,5	0,8	0,7		
	Placa 2	1,2	0,8	0,4	0,40	
		1,2	0,8	0,4		
	Placa 3	1,5	0,8	0,7	0,55	
		1,2	0,8	0,4		
	Placa 4	1,3	0,8	0,5	0,50	
		1,3	0,8	0,5		
[100ppm]	Placa 1	0,8	0,8	0,0	0,00	
		0,8	0,8	0,0		
	Placa 2	0,8	0,8	0,0	0,00	
		0,8	0,8	0,0		
	Placa 3	0,8	0,8	0,0	0,00	
		0,8	0,8	0,0		
	Placa 4	0,8	0,8	0,0	0,00	
		0,8	0,8	0,0		

C. Creixement diari.

Per a l'obtenció del creixement diari es varen dividir els valors de Mitjanes Diàmetres entre el nombre de dies de creixement, passant alhora els valors de centímetres a mil·límetres, obtenint així els valors situats a la columna Creixement Diari.

Fungicida: CIPROCONAZOL		Diàmetre de Creixement	Diàmetre Inicial (cm)	Diàmetre de Creixement (cm)	Mitjana Diàmetres (cm)	Nº dies	Creixement Diari (mm)
Data de sembra: 04/11/14	Micelià (cm)						
Concentració	<i>Neofusicoccum luteum</i>	Data mesura 07/11/14					
Control [0ppm]	Placa 1	6,5	0,8	5,7	5,55	3	18,50
		6,2	0,8	5,4			
	Placa 2	6,3	0,8	5,5	5,40	3	18,00
		6,1	0,8	5,3			
Placa 3	6,7	0,8	5,9	5,90	3	19,67	
	6,7	0,8	5,9				
Placa 4	6,6	0,8	5,8	5,80	3	19,33	
	6,6	0,8	5,8				
[0'1ppm]	Placa 1	2,8	0,8	2,0	2,00	3	6,67
		2,8	0,8	2,0			
	Placa 2	3,7	0,8	2,9	2,85	3	9,50
		3,6	0,8	2,8			
Placa 3	3,0	0,8	2,2	2,30	3	7,67	
	3,2	0,8	2,4				
Placa 4	4,0	0,8	3,2	2,75	3	9,17	
	3,1	0,8	2,3				
[1ppm]	Placa 1	2,4	0,8	1,6	1,50	3	5,00
		2,2	0,8	1,4			
	Placa 2	2,4	0,8	1,6	1,45	3	4,83
		2,1	0,8	1,3			
Placa 3	2,2	0,8	1,4	1,50	3	5,00	
	2,4	0,8	1,6				
Placa 4	2,4	0,8	1,6	1,50	3	5,00	
	2,2	0,8	1,4				
[10ppm]	Placa 1	1,5	0,8	0,7	0,70	3	2,33
		1,5	0,8	0,7			
	Placa 2	1,2	0,8	0,4	0,40	3	1,33
		1,2	0,8	0,4			
Placa 3	1,5	0,8	0,7	0,55	3	1,83	
	1,2	0,8	0,4				
Placa 4	1,3	0,8	0,5	0,50	3	1,67	
	1,3	0,8	0,5				
[100ppm]	Placa 1	0,8	0,8	0,0	0,00	3	0,00
		0,8	0,8	0,0			
	Placa 2	0,8	0,8	0,0	0,00	3	0,00
		0,8	0,8	0,0			
Placa 3	0,8	0,8	0,0	0,00	3	0,00	
	0,8	0,8	0,0				
Placa 4	0,8	0,8	0,0	0,00	3	0,00	
	0,8	0,8	0,0				

D. Percentatge de Creixement.

Agafant d'ara endavant just la primera placa Petri de cada concentració a la fi d'agilitzar l'explicació del procés, s'adjudicà al creixement diari de la placa control (0'0ppm) un percentatge de creixement d'un 100%. Respecte a aquest valor, es calcularen la resta de percentatges per a cada concentració.

Fungicida: CIPROCONAZOL		Diàmetre de Creixement		Diàmetre Inicial (cm)	Diàmetre de Creixement (cm)	Mitjana Diàmetres (cm)	Nº dies	Creixement Diàri (mm)	Percentatge de Creixement
Data de sembra: 04/11/14		Micelià (cm)							
Concentració		<i>Neofusicoccum luteum</i>		0,8	0,8	2,0	3	6,67	36,04
		Data mesura 07/11/14							
Control [0ppm]	Placa 1	6,5	0,8	5,7	5,55	3	18,50	100,00	
		6,2	0,8	5,4					
[0'1ppm]	Placa 1	2,8	0,8	2,0	2,00	3	6,67	36,04	
		2,8	0,8	2,0					
[1ppm]	Placa 1	2,4	0,8	1,6	1,50	3	5,00	27,03	
		2,2	0,8	1,4					
[10ppm]	Placa 1	1,5	0,8	0,7	0,70	3	2,33	12,61	
		1,5	0,8	0,7					
[100ppm]	Placa 1	0,8	0,8	0,0	0,00	3	0,00	0,00	
		0,8	0,8	0,0					

E. Valors Pròbit.

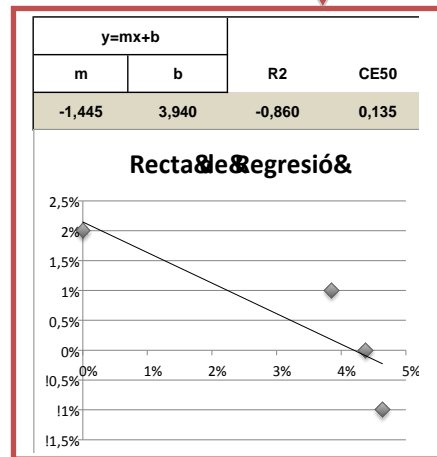
A continuació s'adjudica un valor pròbit a cada percentatge de creixement (Taula Pròbit a l'annex 7.3).

Fungicida: CIPROCONAZOL		Diàmetre de Creixement		Diàmetre Inicial (cm)	Diàmetre de Creixement (cm)	Mitjana Diàmetres (cm)	Nº dies	Creixement Diàri (mm)	Percentatge de Creixement	Valor Pròbit
Data de sembra: 04/11/14		Micelià (cm)								
Concentració		<i>Neofusicoccum luteum</i>		0,8	0,8	2,0	3	6,67	36,04	4,64
		Data mesura 07/11/14								
Control [0ppm]	Placa 1	6,5	0,8	5,7	5,55	3	18,50	100,00	100,00	
		6,2	0,8	5,4						
[0'1ppm]	Placa 1	2,8	0,8	2,0	2,00	3	6,67	36,04	36,04	4,64
		2,8	0,8	2,0						
[1ppm]	Placa 1	2,4	0,8	1,6	1,50	3	5,00	27,03	27,03	4,38
		2,2	0,8	1,4						
[10ppm]	Placa 1	1,5	0,8	0,7	0,70	3	2,33	12,61	12,61	3,85
		1,5	0,8	0,7						
[100ppm]	Placa 1	0,8	0,8	0,0	0,00	3	0,00	0,00	0,00	0
		0,8	0,8	0,0						

F. Obtenció dels valors de la recta de regressió, el coeficient de regressió i la CE₅₀.

En base als valor pròbit en funció als valors del logaritme en base 10 de les concentracions, s'obté la recta de regressió i els valors que la defineixen ($y=mx+b$), obtenint aleshores el valor del coeficient de regressió. El valor de la CE₅₀, la "x", resulta com el antilogaritme de la concentració resultant per a una "y" igual a un 50% (valor pròbit = 5'00).

Fungicida: CIPROCONAZOL		Diàmetre de Creixement Micelià (cm)		Diàmetre Inicial (cm)	Diàmetre de Creixement (cm)	Mitjana Diàmetres (cm)	Nº dies	Creixement Diàri (mm)	Percentatge de Creixement	Valor Probit	Log (Conc)
Data de sembra: 04/11/14		Neofusicoccum luteum									
Concentració		Data mesura 07/11/14									
Control [0ppm]	Placa 1	6,5	0,8	5,7	5,55	3	18,50	100,00			
		6,2	0,8	5,4							
[0'1ppm]	Placa 1	2,8	0,8	2,0	2,00	3	6,67	36,04		4,64	-1
		2,8	0,8	2,0							
[1ppm]	Placa 1	2,4	0,8	1,6	1,50	3	5,00	27,03		4,38	0
		2,2	0,8	1,4							
[10ppm]	Placa 1	1,5	0,8	0,7	0,70	3	2,33	12,61		3,85	1
		1,5	0,8	0,7							
[100ppm]	Placa 1	0,8	0,8	0,0	0,00	3	0,00	0,00		0	2
		0,8	0,8	0,0							



7.3 Taula Pròbit.

Cuadro 1. Transformación de proporciones a unidades Probit

	0.0	0.001	0.002	0.003	0.004	0.005	0.006	0.007	0.008	0.009
0.00		1.90948	2.12149	2.25185	2.34754	2.42376	2.48744	2.54231	2.59066	2.63395
0.01	2.67321	2.70919	2.74243	2.77335	2.80227	2.82947	2.85515	2.87949	2.90263	2.92470
0.02	2.94581	2.96604	2.98547	3.00417	3.02220	3.03961	3.05644	3.07274	3.08854	3.10388
0.03	3.11879	3.13329	3.14741	3.16117	3.17459	3.18768	3.20048	3.21299	3.22522	3.23720
0.04	3.24892	3.26042	3.27168	3.28273	3.29358	3.30423	3.31469	3.32497	3.33507	3.34501
0.05	3.35479	3.36441	3.37389	3.38322	3.39241	3.40147	3.41040	3.41920	3.42788	3.43645
0.06	3.44490	3.45325	3.46149	3.46962	3.47765	3.48559	3.49344	3.50119	3.50885	3.51643
0.07	3.52392	3.53133	3.53866	3.54592	3.55309	3.56020	3.56723	3.57419	3.58109	3.58792
0.08	3.59468	3.60138	3.60801	3.61459	3.62111	3.62756	3.63397	3.64031	3.64660	3.65284
0.09	3.65903	3.66517	3.67125	3.67729	3.68328	3.68923	3.69512	3.70098	3.70678	3.71255
0.10	3.71827	3.72395	3.72959	3.73512	3.74075	3.74628	3.75176	3.75721	3.76262	3.76799
0.11	3.77333	3.77864	3.78391	3.78914	3.79435	3.79952	3.80466	3.80977	3.81484	3.81989
0.12	3.82491	3.82990	3.83486	3.83979	3.84469	3.84956	3.85441	3.85923	3.86403	3.86880
0.13	3.87354	3.87826	3.88295	3.88762	3.89227	3.89689	3.90148	3.90606	3.91061	3.91514
0.14	3.91965	3.92413	3.92860	3.93304	3.93746	3.94186	3.94624	3.95060	3.95495	3.95927
0.15	3.96357	3.96785	3.97212	3.97636	3.98059	3.98480	3.98899	3.99316	3.99732	4.00146
0.16	4.00558	4.00968	4.01377	4.01784	4.02190	4.02594	4.02996	4.03397	4.03796	4.04194
0.17	4.04590	4.04985	4.05378	4.05770	4.06161	4.06550	4.06937	4.07323	4.07708	4.08092
0.18	4.08474	4.08854	4.09234	4.09612	4.09989	4.10364	4.10739	4.11112	4.11484	4.11854
0.19	4.12224	4.12592	4.12959	4.13325	4.13690	4.14053	4.14416	4.14777	4.15137	4.15496
0.20	4.15854	4.16211	4.16567	4.16922	4.17276	4.17629	4.17980	4.18331	4.18681	4.19030
0.21	4.19377	4.19724	4.20070	4.20415	4.20759	4.21102	4.21444	4.21785	4.22125	4.22464
0.22	4.22803	4.23140	4.23477	4.23813	4.24148	4.24482	4.24815	4.25148	4.25480	4.25810
0.23	4.26140	4.26469	4.26798	4.27126	4.27452	4.27778	4.28104	4.28428	4.28752	4.29075
0.24	4.29397	4.29719	4.30040	4.30360	4.30679	4.30998	4.31316	4.31633	4.31950	4.32266
0.25	4.32581	4.32896	4.33210	4.33523	4.33835	4.34147	4.34459	4.34770	4.35080	4.35389
0.26	4.35698	4.36006	4.36314	4.36621	4.36927	4.37233	4.37538	4.37843	4.38147	4.38450
0.27	4.38753	4.39056	4.39357	4.39659	4.39959	4.40259	4.40559	4.40858	4.41157	4.41455
0.28	4.41752	4.42049	4.42346	4.42642	4.42937	4.43232	4.43527	4.43821	4.44114	4.44407
0.29	4.44700	4.44992	4.45283	4.45575	4.45865	4.46155	4.46445	4.46735	4.47023	4.47312
0.30	4.47600	4.47887	4.48174	4.48461	4.48747	4.49033	4.49319	4.49604	4.49888	4.50172
0.31	4.50456	4.50740	4.51023	4.51305	4.51587	4.51869	4.52151	4.52432	4.52712	4.52993
0.32	4.53273	4.53552	4.53831	4.54110	4.54389	4.54667	4.54944	4.55222	4.55499	4.55776
0.33	4.56052	4.56328	4.56604	4.56879	4.57154	4.57429	4.57703	4.57977	4.58251	4.58525
0.34	4.58798	4.59070	4.59343	4.59615	4.59887	4.60159	4.60430	4.60701	4.60972	4.61242
0.35	4.61512	4.61782	4.62052	4.62321	4.62590	4.62859	4.63127	4.63395	4.63663	4.63931
0.36	4.64198	4.64466	4.64733	4.64999	4.65266	4.65532	4.65798	4.66063	4.66329	4.66594
0.37	4.66859	4.67124	4.67388	4.67652	4.67916	4.68180	4.68444	4.68707	4.68970	4.69233
0.38	4.69495	4.69758	4.70020	4.70282	4.70544	4.70806	4.71067	4.71328	4.71589	4.71850
0.39	4.72111	4.72371	4.72631	4.72892	4.73151	4.73411	4.73670	4.73930	4.74189	4.74448
0.40	4.74707	4.74965	4.75224	4.75482	4.75740	4.75998	4.76256	4.76513	4.76771	4.77028
0.41	4.77285	4.77542	4.77799	4.78056	4.78312	4.78569	4.78825	4.79081	4.79337	4.79592
0.42	4.79848	4.80104	4.80359	4.80614	4.80869	4.81124	4.81379	4.81634	4.81889	4.82143
0.43	4.82397	4.82652	4.82910	4.83160	4.83414	4.83667	4.83921	4.84175	4.84428	4.84682
0.44	4.84935	4.85188	4.85441	4.85694	4.85947	4.86200	4.86452	4.86705	4.86957	4.87210
0.45	4.87462	4.87714	4.87966	4.88218	4.88470	4.88722	4.88974	4.89226	4.89477	4.89729
0.46	4.89930	4.90232	4.90483	4.90735	4.90986	4.91237	4.91488	4.91739	4.91990	4.92241
0.47	4.92492	4.92743	4.92993	4.93244	4.93495	4.93746	4.93996	4.94247	4.94497	4.94748
0.48	4.94998	4.95248	4.95499	4.95749	4.95999	4.96249	4.96500	4.96750	4.97000	4.97250
0.49	4.97500	4.97750	4.98000	4.98250	4.98500	4.98750	4.99000	4.99250	4.99500	4.99750
0.50	5.00000	5.00250	5.00500	5.00750	5.01000	5.01250	5.01500	5.01750	5.02000	5.02250
0.51	5.02500	5.02750	5.03000	5.03250	5.03500	5.03751	5.04001	5.04251	5.04501	5.04752
0.52	5.05002	5.05252	5.05503	5.05753	5.06004	5.06254	5.06505	5.06756	5.07007	5.07257
0.53	5.07508	5.07759	5.08010	5.08261	5.08512	5.08763	5.09014	5.09265	5.09517	5.09768
0.54	5.10020	5.10271	5.10523	5.10774	5.11026	5.11278	5.11530	5.11782	5.12034	5.12286
0.55	5.12538	5.12790	5.13043	5.13295	5.13548	5.13800	5.14053	5.14306	5.14559	5.14812
0.56	5.15065	5.15318	5.15572	5.15825	5.16079	5.16333	5.16586	5.16840	5.17094	5.17348
0.57	5.17603	5.17857	5.18111	5.18366	5.18621	5.18876	5.19131	5.19385	5.19641	5.19896
0.58	5.20152	5.20408	5.20663	5.20919	5.21175	5.21431	5.21688	5.21944	5.22201	5.22458
0.59	5.22715	5.22972	5.23229	5.23487	5.23744	5.24002	5.24260	5.24518	5.24776	5.25035
0.60	5.25293	5.25552	5.25811	5.26070	5.26330	5.26589	5.26849	5.27108	5.27369	5.27629
0.61	5.27889	5.28150	5.28411	5.28672	5.28933	5.29194	5.29456	5.29718	5.29980	5.30242
0.62	5.30504	5.30767	5.31030	5.31293	5.31556	5.31820	5.32084	5.32348	5.32612	5.32876
0.63	5.33141	5.33406	5.33671	5.33937	5.34202	5.34468	5.34734	5.35001	5.35267	5.35534
0.64	5.35802	5.36069	5.36337	5.36605	5.36873	5.37141	5.37410	5.37679	5.37948	5.38218
0.65	5.38488	5.38758	5.39028	5.39299	5.39570	5.39841	5.40113	5.40385	5.40657	5.40930

Continuación Cuadro 1

	0.0	0.001	0.002	0.003	0.004	0.005	0.006	0.007	0.008	0.009
0.66	5.41202	5.41475	5.41749	5.42023	5.42297	5.42571	5.42846	5.43121	5.43396	5.43672
0.67	5.43948	5.44224	5.44501	5.44778	5.45056	5.45333	5.45611	5.45890	5.46169	5.46448
0.68	5.46727	5.47007	5.47288	5.47568	5.47849	5.48131	5.48413	5.48695	5.48977	5.49260
0.69	5.49544	5.49828	5.50112	5.50396	5.50681	5.50967	5.51253	5.51539	5.51826	5.52113
0.70	5.52400	5.52688	5.52977	5.53265	5.53555	5.53845	5.54135	5.54425	5.54717	5.55008
0.71	5.55300	5.55593	5.55886	5.56179	5.56473	5.56768	5.57063	5.57358	5.57654	5.57951
0.72	5.58248	5.58545	5.58843	5.59142	5.59441	5.59741	5.60041	5.60341	5.60643	5.60944
0.73	5.61247	5.61550	5.61853	5.62157	5.62462	5.62767	5.63073	5.63379	5.63686	5.63994
0.74	5.64302	5.64611	5.64920	5.65230	5.65541	5.65852	5.66164	5.66477	5.66790	5.67104
0.75	5.67419	5.67734	5.68050	5.68237	5.68684	5.69002	5.69321	5.69640	5.69960	5.70281
0.76	5.70603	5.70925	5.71248	5.71572	5.71896	5.72221	5.72548	5.72874	5.73202	5.73530
0.77	5.73860	5.74190	5.74520	5.74852	5.75184	5.75518	5.75852	5.76187	5.76523	5.76859
0.78	5.77197	5.77535	5.77875	5.78215	5.78556	5.78898	5.79241	5.79585	5.79930	5.80276
0.79	5.80623	5.80970	5.81319	5.81669	5.82020	5.82371	5.82724	5.83078	5.83433	5.83789
0.80	5.84146	5.84504	5.84863	5.85223	5.85584	5.85947	5.86310	5.86675	5.87041	5.87408
0.81	5.87776	5.88146	5.88516	5.88888	5.89261	5.89635	5.90011	5.90388	5.90766	5.91145
0.82	5.91526	5.91908	5.92292	5.92677	5.93063	5.93450	5.93839	5.94230	5.94621	5.95015
0.83	5.95409	5.95806	5.96204	5.96603	5.97004	5.97406	5.97810	5.98216	5.98623	5.99032
0.84	5.99442	5.99854	6.00268	6.00684	6.01101	6.01520	6.01941	6.02364	6.02788	6.03215
0.85	6.03643	6.04073	6.04505	6.04940	6.05376	6.05814	6.06254	6.06696	6.07140	6.07587
0.86	6.08035	6.08486	6.08939	6.09394	6.09851	6.10311	6.10773	6.11238	6.11705	6.12174
0.87	6.12646	6.13120	6.13597	6.14077	6.14559	6.15044	6.15531	6.16021	6.16514	6.17010
0.88	6.17509	6.18011	6.18515	6.19023	6.19534	6.20048	6.20565	6.21086	6.21609	6.22136
0.89	6.22667	6.23201	6.23738	6.24279	6.24824	6.25372	6.25925	6.26481	6.27041	6.27605
0.90	6.28173	6.28745	6.29322	6.29902	6.30488	6.31077	6.31672	6.32271	6.32875	6.33483
0.91	6.34097	6.34716	6.35339	6.35969	6.36603	6.37243	6.37889	6.38541	6.39199	6.39862
0.92	6.40532	6.41208	6.41891	6.42581	6.43277	6.43980	6.44690	6.45408	6.46134	6.46867
0.93	6.47608	6.48357	6.49115	6.49881	6.50656	6.51441	6.52234	6.53038	6.53851	6.54675
0.94	6.55510	6.56355	6.57212	6.58080	6.58960	6.59853	6.60759	6.61678	6.62611	6.63559
0.95	6.64521	6.65499	6.66493	6.67503	6.68531	6.69577	6.70642	6.71727	6.72832	6.73958
0.96	6.75108	6.76280	6.77478	6.78701	6.79952	6.81231	6.82541	6.83883	6.85259	6.86671
0.97	6.88121	6.89612	6.91146	6.92726	6.94356	6.96039	6.97780	6.99583	7.01453	7.03396
0.980	7.05419	7.05626	7.05834	7.06042	7.06252	7.06463	7.06674	7.06887	7.07100	7.07314
0.981	7.07529	7.07746	7.07963	7.08181	7.08400	7.08620	7.08842	7.09064	7.09287	7.09511
0.982	7.09737	7.09963	7.10191	7.10419	7.10649	7.10880	7.11112	7.11345	7.11579	7.11815
0.983	7.12051	7.12289	7.12528	7.12768	7.13010	7.13253	7.13496	7.13742	7.13988	7.14236
0.984	7.14485	7.14736	7.14988	7.15241	7.15495	7.15752	7.16009	7.16268	7.16528	7.16790
0.985	7.17053	7.17318	7.17585	7.17852	7.18122	7.18393	7.18666	7.18940	7.19216	7.19493
0.986	7.19773	7.20054	7.20337	7.20621	7.20908	7.21196	7.21486	7.21778	7.22072	7.22368
0.987	7.22665	7.22965	7.23267	7.23571	7.23876	7.24184	7.24494	7.24807	7.25121	7.25438
0.988	7.25757	7.26078	7.26402	7.26728	7.27057	7.27388	7.27721	7.28057	7.28396	7.28737
0.989	7.29081	7.29427	7.29777	7.30129	7.30484	7.30842	7.31203	7.31567	7.31934	7.32305
0.990	7.32678	7.33055	7.33435	7.33819	7.34206	7.34597	7.34991	7.35388	7.35790	7.36196
0.991	7.36605	7.37018	7.37436	7.37858	7.38283	7.38714	7.39149	7.39588	7.40032	7.40481
0.992	7.40934	7.41393	7.41857	7.42326	7.42801	7.43280	7.43766	7.44258	7.44755	7.45259
0.993	7.45769	7.46285	7.46808	7.47338	7.47875	7.48419	7.48970	7.49530	7.50097	7.50672
0.994	7.51256	7.51848	7.52450	7.53060	7.53681	7.54311	7.54951	7.55602	7.56264	7.56938
0.995	7.57623	7.58321	7.59032	7.59756	7.60493	7.61245	7.62012	7.62795	7.63595	7.64411
0.996	7.65246	7.66099	7.66973	7.67867	7.68784	7.69722	7.70686	7.71676	7.72692	7.73738
0.997	7.74815	7.75925	7.77069	7.78251	7.79474	7.80739	7.82051	7.83414	7.84831	7.86308
0.998	7.87850	7.89464	7.91157	7.92937	7.94816	7.96806	7.98919	8.01176	8.03597	8.06211
0.999	8.09051	8.12166	8.15617	8.19489	8.23911	8.29075	8.35301	8.43118	8.54020	8.71908