

Evaluación de la persistencia de fungicidas cúpricos en hoja de olivo

Depende del producto empleado, la dosis y la distribución del mismo

En el presente trabajo se compara la persistencia de varios fungicidas en tres sistemas experimentales: plantones y árboles con lavado por lluvia natural y hojas aisladas y lavadas por inmersión en agua desionizada. En los tres sistemas se pone de manifiesto diferencias significativas entre los distintos productos.

F. Marchal¹, E. Alcántara¹, L.F. Roca¹, J. Boned² y A. Trapero¹.

¹ Dpto. Agronomía, ETSIAM, Universidad de Córdoba.

² ISAGRO España. Madrid.



La aplicación de fungicidas cúpricos es una práctica habitual del cultivo del olivo en España. Estos tratamientos van dirigidos al control de las enfermedades foliares causadas por hongos (micosis foliares), principalmente contra el Repilo causado por *Spilocaea oleagina*, pero también contra la *Antracnosis* o Aceituna jabonosa debida a *Colletotrichum* spp. y el Emplomado causado por *Pseudocercospora cladosporioides*. Estas tres enfermedades, que en algunas comarcas oliveras andaluzas se conocen bajo la denominación común de "Vivo", "Vivillo" o "Repilos", son responsables de graves pérdidas de cosecha y de un debilitamiento progresivo de los árboles, debido a las intensas defoliaciones que se producen en los olivos severamente afectados. Además, los fungicidas cúpricos están indicados contra los ataques de la Tuberculosis causada por la bacteria *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (TRAPERO Y BLANCO, 2001).

Los fungicidas cúpricos actúan como protectores, inhibiendo la germinación de las esporas de los hongos o la multiplicación de las bacterias a dosis bajas de cobre, e impidiendo así el establecimiento de la infección. La eficacia de estos productos en campo depende tanto de su efecto fungistático o bacteriostático, el cual se relaciona directamente con el contenido en cobre, como de la resistencia que ofrecen al lavado por la lluvia que es el principal factor erosionante. Ello, unido a su baja fitotoxicidad en olivo y la necesidad de mantener protegidas las hojas durante largos períodos de tiempo, ha motivado que sean habituales varios tratamientos anuales con dosis de cobre relativamente elevadas (TRAPERO Y BLANCO, 2001).

Los productos a base de cobre autorizados para el olivar en España son muy variados, incluyendo diversas sales y formula-

ciones (hidróxidos, oxicluros, óxidos y sulfatos), así como la mezcla con fungicidas orgánicos de síntesis (LIÑÁN, 2002), lo que supone un gasto anual superior a los 12 millones de euros (2.000 millones de pesetas) (CAMPILLO, 1998). Ello sin considerar el coste de la aplicación y el impacto ambiental, aunque este último se supone bajo, como indica el hecho de que estén autorizados en la agricultura ecológica.

A pesar de la importancia de los fungicidas cúpricos en el olivar español, y de que su eficacia depende en gran medida de su resistencia al lavado por lluvia, éste es un parámetro desconocido en los productos comercializados. Asimismo, son muy escasas las investigaciones sobre este aspecto en el olivar. Los únicos estudios publicados son los trabajos de Teviotdale et al. (1989) en California y de Soriano y Porras (1994) en España. Los primeros utilizaron una técnica analítica para medir el cobre en la hoja de olivo y de esta forma poder determinar la pérdida de cobre con el tiempo en varios tratamientos. Soriano y Porras (1994) pusieron a punto un método, denominado "improntas" para estudiar la distribución y persistencia de los tratamientos cúpricos en hojas de olivo. Este método se basa en la utilización del ácido rubeánico (ditioxamida), un reactivo ampliamente empleado en medicina y veterinaria para detectar el cobre en los tejidos humanos y animales (IRONS et al., 1977; THORNBURG et al., 1985). Aplicando esta sencilla técnica, el cobre depositado sobre las hojas de olivo reacciona con el ácido rubeánico, que impregna un folio de papel, formándose un precipitado de color oscuro que mancha

el papel. Se obtiene así una huella o impronta, indicadora de la presencia y distribución del fungicida cúprico, tanto en el haz como en el envés de la hoja. La evaluación de la distribución del cobre, de forma objetiva, se hace por transparencia, midiendo la cantidad de luz transmitida a través de los folios de las improntas (Soriano, 1998).

El método de las improntas es una técnica cualitativa, y como tal, permite establecer comparaciones entre dos estados diferentes de distribución del fungicida cúprico sobre la superficie vegetal cubierta de fungicida (Soriano, 1998). Aplicando sistemas de visión artificial mediante técnicas de digitalización de imágenes se puede cuantificar la distribución del fungicida sobre las hojas y, por tanto, esta técnica se puede aplicar, además para estudiar la persistencia de diversas formulaciones de fungicidas cúpricos en hojas de olivo (Soriano, 1999). No obstante, no se conoce bien si la intensidad de la reacción (impronta) se relaciona exclusivamente con la concentración de cobre o si influyen otros factores propios de la composición del producto. De hecho se ha observado que para algunas formulaciones de cobre la reacción no se expresa o da lugar a manchas apenas perceptibles. Por ello, el empleo de esta técnica para cuantificar la persistencia de un fungicida cúprico, requeriría una comprobación previa utilizando una gradación de concentraciones de cobre de diversas formulaciones comerciales de productos cúpricos.

Una limitación adicional de la utilización del método de las improntas con fines cuantitativos es su umbral de detección. Aceptando que la intensidad de la mancha (impronta) es proporcional a la concentración de cobre, el umbral de detección será la concentración mínima de cobre que produce una mancha detectable por técnicas ópticas. De las diversas técnicas ópticas utilizadas para este fin, una de las más sensibles es la espectroscopía de reflexión difusa (Ghauch et al., 2000). La curva de calibración obtenida con esta técnica estima un umbral de detección de 5×10^{-4} M, equivalente a $31 \mu\text{g Cu/ml}$ (Ghauch et al., 2000). Esta cifra parece demasiado elevada si consideramos que la concentración de cobre que inhibe el 50% de la germinación de las conidias de *S. oleagina* es inferior a $20 \mu\text{g Cu/ml}$ en numerosos fungicidas cúpricos (Sánchez-Pacheco, 1999).

Otros métodos utilizados en la actualidad para estudiar la persistencia y la distribución de fungicidas cúpricos en hojas de olivo, se basan en el análisis espectral y de imagen obtenido por microscopía electrónica. Estas técnicas de visión artificial permiten



Lesiones necróticas iniciales en frutos afectados por las Aceitunas jabonosas. (*Colletotrichum gloeosporioides*).

CUADRO I. CARACTERÍSTICAS DE LOS FUNGICIDAS CÚPRICOS EMPLEADOS

Ref. ¹	Materia activa	Formulación ²	Nombre comercial ³
H1	Hidróxido cúprico	35% PM	Kdos
H2	Hidróxido cúprico	50% PM	Kocide
OC1	Oxicloruro de cobre	38% SC	Cuproflow Caffaro
OC2	Oxicloruro de cobre	50% PM	Cuposán 500
OC3	Oxicloruro de cobre	50% PM	Oxicol-50
OC4	Oxicloruro de cobre	70% SC	ZZ-Cuprocol
OCC	Oxicloruro de cobre y calcio	16% PD	Polvere Caffaro
OX1	Óxido cuproso	50% PM	Cobre Sandoz
OX2	Óxido cuproso	75% PM	Cobre Nordox Super
SC1	Sulfato cuprocálcico	20% PM	Bordeaux Caffaro
SC2	Sulfato cuprocálcico	20% PM	I.Q.V.
SCP	Sulfato cobre comercial		Piedra Azul
SCP	Sulfato de cobre puro		Sulfato de Cu pentahidratado

¹ Ref.: Referencia;

² PM: Polvo mojable; SC: Suspensión concentrada; PD: Polvo dispersable aplicado como polvo mojable.

³ Productos comercializados en el mercado español.

de forma rápida y precisa determinar la calidad y persistencia de los tratamientos, pero un elevado coste limita todavía su aplicación de forma rutinaria para el olivar (Soriano, 1998; Villalba et al., 2003).

Por todo ello, se ha planteado el presente trabajo cuyos objetivos generales son poner a punto un método sencillo y reproducible para medir el contenido de cobre en hojas de olivo, determinando la pérdida de cobre debida al lavado por lluvia en diferentes fungicidas cúpricos y su relación con otros métodos utilizados para el mismo fin.

Material y método

En los experimentos realizados se han utilizado fungicidas con distintas materias activas, formulaciones y casas comerciales, y dos sulfatos de cobre preparados en el laboratorio (**cuadro I**).

Para comprobar la reacción de las improntas, se realizó una prueba "in vitro" con diferentes fungicidas. La reacción se realizó en papel de filtro, colocando una gota (2 μl) de la solución fungicida y otra gota (2 μl) de una solución de ácido rubeánico (ditioxiámina). A los cinco minutos ya se puede establecer la intensidad de la reacción por la aparición de una mancha oscura. Las soluciones fungicidas se prepararon a una concentración inicial de cobre de 2000 mg/l (equivalente a 31,5 mM), y a partir de éstas se prepararon soluciones de menor concentración mediante las diluciones correspondientes. El ácido rubeánico se preparó disolviendo 0,5 g del producto en 100 ml de etanol 96% (concentración equivalente a 41,7 mM). Con algunos fungicidas se probó además la reacción en hoja, siguiendo un procedimiento similar al descrito por Soriano (1996) en el que las hojas tratadas con el fungicida se prensaban con un papel de filtro impregnado con ácido rubeánico.

Para los estudios de persistencia de fungicidas, la cantidad de cobre en hoja se determinó mediante extracción con ácido. La muestra de hojas, una vez pesada en fresco, se sumerge en 0,1 N HCl durante 3 días. Posteriormente se agita y se toma una muestra de solución en la que se analiza la concentración de Cu mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica. Normalmente la muestra fue de tres hojas y se sumergía en 7 ml de HCl, salvo en el experimento con árboles de campo en el que se sumergió

CUADRO II. EFECTO DEL LAVADO POR LLUVIA SOBRE EL CU REMANENTE EN HOJAS DE PLANTONES DE OLIVO TRATADOS CON DISTINTOS FUNGICIDAS CÚPRICOS. CADA DATO REPRESENTA EL VALOR MEDIO DE 5 MUESTRAS DE 3 HOJAS. PARA CADA LAVADO (COLUMNAS), MEDIAS CON UNA LETRA COMÚN NO DIFIEREN SIGNIFICATIVAMENTE (P<0,05).

Tratamiento	Muestreo			
	L0 (µg Cu/g PF)	L1 (% de L0)	L2 (% de L0)	L3 (% de L0)
H2	606 a	70 a	20 cd	9 c
OC1	588 a	73 a	49 a	42 a
OC2	651 a	69 a	40 ab	24 b
OC3	426 b	61 a	28 bc	19 b
OCC	379 b	57 a	16 d	8 c
OX1	663 a	77 a	28 bc	16 bc
SC1	612 a	71 a	45 a	22 b

CUADRO III. EFECTO DEL LAVADO POR AGITACIÓN EN MATRACES SOBRE EL CU REMANENTE EN HOJAS SEPARADAS DE PLANTONES TRATADAS CON DIFERENTES FUNGICIDAS CÚPRICOS. CADA DATO REPRESENTA EL VALOR MEDIO DE 4 MUESTRAS DE 3 HOJAS. PARA CADA MUESTREO (COLUMNAS), MEDIAS CON UNA LETRA COMÚN NO DIFIEREN SIGNIFICATIVAMENTE (P<0,05).

Tratamiento	Muestreo				
	Inicial L0 (µg Cu/g PF)	1h L1 (% de L0)	3h L2 (% de L0)	9h L3 (% de L0)	24h L4 (% de L0)
H1	446 a	21 d	14 c	8 b	6 d
OC1	303 b	63 ab	34 a	15 a	15 a
OC3	377 ab	44 c	20 bc	8 b	8 c
OX1	330 b	76 a	36 a	18 a	11 b
SC2	464 a	58 bc	27 ab	15 a	16 a

* Miligramos de cobre por gramos de peso fresco de hoja.

an diez hojas en 25 ml de HCl. La cantidad de Cu se expresa finalmente como µg/g peso fresco hojas.

Se han realizado tres tipos de experimentos: con plantones, con hojas aisladas y con árboles de campo. En los dos primeros se utilizaron plantones de un año del cultivar Picual y en el tercero, árboles adultos del cultivar Hojiblanca de una plantación del CIFA de Cabra (Córdoba). Todos los fungicidas se aplicaron a la misma dosis de Cu, 2000 mg/l, mediante pulverización con pistola de presión o con mochila a motor en los árboles de campo. Para el tratamiento de las hojas aisladas, éstas se desprendían de los plantones y se disponían horizontalmente sobre papel de filtro con el haz hacia arriba.

La persistencia en plantones y árboles se evaluó frente al lavado por lluvia natural. Con hojas aisladas se utilizó un lavado por inmersión en matraces con agua desionizada (tres hojas en 100 ml), colocados en un agitador orbital a 150 rpm. El contenido de Cu se determinó en varios momentos: un muestreo previo a los tratamientos para confirmar que el nivel de partida era bajo, un muestreo tras la aplicación fungicida (L0) para determinar la cantidad depositada, y muestreos posteriores al lavado (L1, L2, ...) para determinar el porcentaje de Cu remanente.

En el experimento con plantones se trataron cinco plantones con cada fungicida, tomándose en cada muestreo tres hojas por plantón para la extracción con ácido. En el ensayo con árboles se trataron seis árboles con cada fungicida, en un diseño de bloques al azar, tomándose en cada muestreo diez hojas por árbol. En el ensayo con hojas aisladas la unidad de muestreo fue de tres hojas, utilizando cuatro repeticiones por tratamiento y tiempo de lavado.

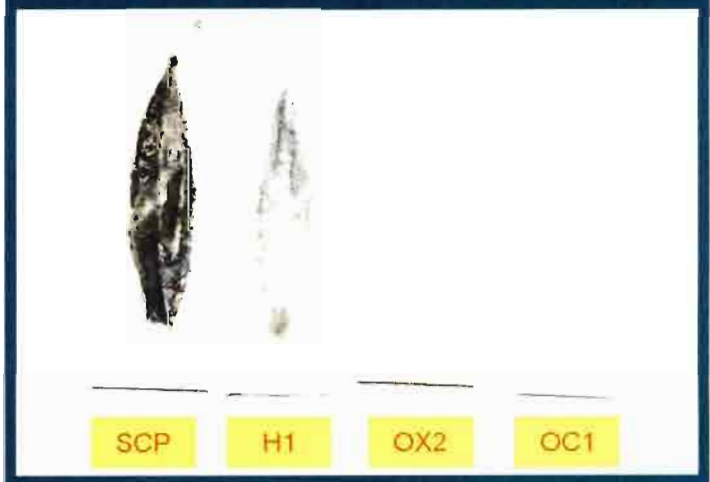
Se realizaron análisis de varianza con el programa Statistix (ANALYTICAL SOFTWARE, 2000), transformando en su caso los valores de porcentaje de permanencia mediante la función arco seno de la raíz cuadrada. Las comparaciones de medias se realizaron según el test MDS (mínima diferencia significativa) protegido de Fisher, al nivel de probabilidad del 5% (STEEL Y TORRIE, 1985).

Resultados

Las pruebas de la reacción "in vitro" de los fungicidas con el ácido rubeánico, muestran que hay diferencias importantes entre productos en el intervalo de concentraciones probado. La intensidad de la reacción disminuye al disminuir la concentración, y es mayor en las formulaciones que presentan mayor solubilidad del Cu. Así, tras probar algunas de las formulaciones que aparecen en la **cuadro I**, la intensidad fue mayor con los sulfatos (SCP y SCC), seguida por los hidróxidos, óxidos y sulfato cuprocálcico (H1, H2, OX1, OX2, y SC1) y finalmente por los oxiclорuros (OC1, OC2 y OC4). Con algunos fungicidas se realizaron además pruebas de "improntas", con hojas de olivo tratadas con una concentración de cobre de 2000 mg/l y papel de filtro impregnado con ácido rubeánico (**figura 1**). Los resultados

FIGURA 1.

Improntas en hojas de olivo tratadas con 2.000 mg de Cu/L de cuatro fungicidas cúpricos.



CUADRO IV. EFECTO DEL LAVADO POR LLUVIA SOBRE EL CU REMANENTE EN HOJAS DE OLIVOS TRATADOS CON DISTINTOS FUNGICIDAS CÚPRICOS. CADA DATO REPRESENTA EL VALOR MEDIO DE 6 MUESTRAS DE 10 HOJAS. PARA CADA MUESTREO (COLUMNAS), MEDIAS CON UNA LETRA COMÚN NO DIFIEREN SIGNIFICATIVAMENTE (P<0,05)

Tratamiento	Muestreo		
	L0 (µg Cu/g PF)	L1 (% de L0)	L2 (% de L0)
H1	311 a	60 a	25 a
H2	360 a	59 ab	32 a
OC1	314 a	73 a	39 a
OC2	285 a	63 a	27 a
OCC	287 a	42 b	28 a
OX1	335 a	63 a	24 a
SC1	251 a	70 a	39 a

confirman lo obtenido en las pruebas "in vitro", siendo la intensidad de la reacción mayor con el sulfato de cobre (SCP), seguida por el hidróxido (H1) y finalmente con intensidad muy baja del óxido y del oxiclóruo (OX2 y OC1).

En el ensayo con plántones se compararon siete fungicidas, aplicados al principio de mayo de 2002 y a una concentración de Cu de 2000 mg/l (**cuadro II**). Después de una semana del tratamiento, en la que los plántones se mantuvieron en invernadero protegidos de la lluvia, se realizó el primer muestreo (L0) y se trasladaron los plántones al aire libre. Los siguientes muestreos (L1, L2 y L3) se realizaron a los 25, 146 y 226 días del tratamiento, tras haberse registrado pluviometrías de 17,6; 123,2 y 332,4 mm, respectivamente. La cantidad de Cu depositada inicialmente (L0), varió según el fungicida entre 379 (OCC) y 663 (OX1) $\mu\text{g/g}$ de hoja. El porcentaje de Cu remanente tras varios periodos de lluvia fue disminuyendo progresivamente, existiendo diferencias entre fungicidas sobre todo en L2 y L3. Como fungicidas más persistentes cabe destacar a OC1, OC2 y SC1, que en L2 tenían valores iguales o superiores al 40% del Cu inicial. En L3, los valores correspondientes disminuyen, pero OC1 todavía mantiene valores por encima del 40%. Como fungicidas menos persistentes destacan H2 y OCC, que en L2 tenían valores iguales o inferiores al 20% y en L3 bajan a menos del 10%.

La persistencia también se evaluó con un procedimiento más simple, en el que hojas aisladas se trataban con los fungicidas y posteriormente se lavaban en matraces con agua desionizada. Se comparó la persistencia de cinco fungicidas, aplicados a una concentración de Cu de 2000 mg/l (**cuadro III**). Las hojas tratadas permanecieron secándose durante tres días antes de proceder a los lavados durante periodos de 1, 3, 9 y 24 horas. Para cada tratamiento y periodo de lavado se utilizaron cuatro repeticiones con muestras de tres hojas diferentes para cada caso. La cantidad de Cu depositada inicialmente (L0) varió entre 303 (OC1) y 464 (SC2) $\mu\text{g/g}$ de hoja. El porcentaje de Cu remanente tras los lavados disminuyó progresivamente, sobre todo hasta las tres horas de lavado y prácticamente sin diferencias entre 9 y 24 horas de lavado. Hubo diferencias de persistencia entre fungicidas, que se aprecian mejor tras los lavados de 1 y 3 horas. Como fungicidas más persistentes destacaron OX1 y OC1, que tras 1 hora de lavado tenían más del 60% del Cu inicial y tras 3 horas de lavado tenían valores superiores al 30%. Como fungicidas menos persistentes destacaron H1 y OC3, que tras 1 hora de lavado tenían menos del 45%, tras 3 horas valores iguales o inferiores al 20% y tras 9 horas valores inferiores al 10%.

En el experimento realizado en campo con árboles adultos se comparó la persistencia de siete fungicidas, aplicados a una concentración de Cu de 2000 mg/l (**cuadro IV**). Los tratamientos se aplicaron al principio de noviembre, realizándose el primer muestreo (L0) al día siguiente. Los muestreos posteriores (L1 y L2) se realizaron a los 63 y 178 días del tratamiento, tras registrarse pluviometrías de 140,7 y 381,2 mm, respectivamente. La cantidad de Cu depositada en las hojas varió entre 251 (SC1) y 360 (H2) $\mu\text{g/g}$ de hoja. El porcentaje de Cu remanente disminuyó tras los periodos de lluvia, existiendo diferencias entre fungicidas, sobre todo en L1. Como fungicidas más persistentes destacaron OC1 y SC1, que en L1 retenían el 70% ó más del Cu inicial. El fungicida de menor persistencia fue el OCC, que en L1 retenía menos del 45%.



LAMUSA

Terminar la jornada
con la seguridad del trabajo
bien hecho.



Pura Tecnología
en Sembradoras Neumáticas,
Sembradoras Convencionales
y Abonadoras.





Aceitunas de la variedad "Verdial de Huevar" afectadas de Empomado. (*Pseudocercospora cladosporioides*).

Discusión

El efecto protector de los fungicidas cúpricos de contacto depende de la cantidad y distribución de cobre sobre la hoja. La persistencia de estos fungicidas es por tanto un factor importante y que sin embargo ha sido poco estudiado. El método de las improntas (Soriano Y Porras, 1994; Soriano, 1996) se ha aplicado al olivo, en experimentos con plantones y con árboles, mostrando que la persistencia frente al lavado por lluvia seguía una curva exponencial decreciente. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre fungicidas con diversas materias activas (oxicloruro de cobre, óxido cuproso y sulfato de Cu neutralizado). Además, en pruebas posteriores se han encontrado resultados inconsistentes, sobre todo por falsos negativos con algunos fungicidas que apenas daban señal en las improntas. En el presente trabajo se comprobó que la reacción con el ácido rubeánico, tanto "in vitro" como en impronta, dependía del fungicida, estando posiblemente relacionada con la solubilidad del Cu.

Un método alternativo para estudiar la persistencia es la determinación analítica del contenido de Cu en hoja. Teviotdale et al. (1989) aplicaron este método en experimentos con árboles de olivo tratados con diferentes fungicidas. Sus resultados muestran que el % de Cu retenido disminuía con el tiempo, sobre todo en el año más lluvioso, y que había diferencias entre fungicidas. Formulaciones al 50% Cu en óxido cuproso o sulfato cuprocálcico 20% resultaron las más persistentes, mientras que productos en forma de hidróxido cúprico 53% estuvieron entre los menos persistentes.

En el presente trabajo se utilizó una metodología similar, comparando la persistencia de varios fungicidas en tres sistemas experimentales: plantones y árboles con lavado por lluvia natural y hojas aisladas lavadas por inmersión en agua desionizada. En los dos primeros casos la pérdida de Cu se relaciona con la cantidad de lluvia, mientras que en el tercero lo hace con el número de horas de inmersión. Este último método presenta ventajas sobre los anteriores, ya que no depende de la pluviometría, se realiza en condiciones más controladas y reproducibles, supone menos tiempo y esfuerzo y la intensidad del lavado se puede ajustar con facilidad.

En los tres sistemas se han puesto de manifiesto diferencias significativas de persistencia entre fungicidas (**cuadros II, III y IV**). El OC1 se ha mostrado como uno de los más persis-

tentes, mientras que el OCC ha sido de los menos persistentes en los tres sistemas. Estos resultados indican que las diferencias de persistencia son similares en los tres sistemas, aunque para confirmarlo sería necesario ampliar los estudios con un número mayor de fungicidas. Por otra parte cabe señalar que frente a la buena persistencia de OC1, este fungicida da baja intensidad de reacción con el ácido rubeánico, lo que podría conducir a resultados inconsistentes cuando se emplea el método de las improntas.

Debido a las ventajas señaladas del sistema con hojas separadas, éste parece indicado para una primera etapa de comparación de un número amplio de fungicidas. En una etapa posterior sería conveniente establecer comparaciones en campo para contrastar diferencias, ya que en las condiciones naturales pueden intervenir otros factores adicionales. Igualmente sería interesante identificar las características que promueven mayor persistencia y que podrían relacionarse con la materia activa, formulación y tipo de aditivos.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por el proyecto AGL2000-1725 de la CICYT y por la empresa ISAGRO España (CAFFARO España). Los autores expresan su agradecimiento a José R. Viruega, M^a Nieves Sánchez y Francisca Luque por su participación en la puesta a punto y realización de algunos experimentos. ■

Bibliografía

- ANALYTICAL SOFTWARE. 2000. Statistix® 7.0: User's manual. Analytical Software, Tallahassee, Florida. 359 pp.
- CAMPILLO, R. 1998. Los productos cúpricos en la olivicultura actual. *Phytoma España* 102: 159-167.
- GHAUCH, A., TURNAR, C., FACHINGER, C., RIMA, J., CHAREF, A., SUPTEL, J., MARTIN-BONNER, M. 2000. Use of diffuse reflectance spectrometry in spot test reactions for quantitative determination of cations in water. *Chemosphere* 40: 1327-1333.
- IRONS, R.D., SCHENK, E.A., LEE, J.C. 1977. Cytochemicals methods for copper. Semi-quantitative screening procedure for identification of abnormal copper levels in liver. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 101: 298-301.
- LIÑÁN, C. DE. 2002. *Vademécum de Productos Fitosanitarios y Nutricionales*. Ediciones Agrotécnicas, S.L., Madrid, 671 pp.
- SÁNCHEZ PACHECO, N. 1999. Evaluación in vitro de fungicidas contra *Spilocaea oleagina*, agente del Repilo del olivo. Trabajo de Investigación Fin de Carrera, E.T.S.I.A.M., Univ. de Córdoba, Córdoba. 151 pp.
- SORIANO MARTÍN, M.L. 1996. Protección fitosanitaria del olivo (2ª Parte). In: *Olivar y sus derivados*. Porras Piedra, A., ed. Univ. Castilla-La Mancha, Ciudad Real. Tomo 2: 451-477.
- SORIANO MARTÍN, M.L. 1998. Calidad de aplicación de los productos fitosanitarios: nuevas tecnologías en maquinaria de aplicación. *Phytoma España* 102: 200-205.
- SORIANO MARTÍN, M.L. 1999. Aplicación foliar de productos fitosanitarios. In: *El cultivo del olivo*. Barranco, D., Fernández Escobar, R., Rallo, L., eds. Coedición Junta de Andalucía/ Mundi-Prensa, Madrid. pp. 381-413.
- SORIANO, M.L., PORRAS, A. 1994. Métodos de evaluación de la distribución y persistencia de fungicidas cúpricos en hojas de olivo. *Cuadernos de fitopatología* 1: 115-121. II: 168-182.
- STEEL, R.G.D., TORRIE, J.H. 1985. *Bioestadística: Principios y Procedimientos*. McGraw-Hill Latinoamericana, S.A., Bogotá. 622 pp.
- TEVIOTDALE, B.L., SIBBETT, G.S., HARPER, D.H. 1989. Control of olive leaf spot by copper fungicides. *Applied Agricultural Research* 4: 185-189.
- THORNBURG, L.P., BEISSENHERZ, M., DOLAN, M., RAISBECK, M.F. 1985. Histochemical demonstration of copper and copper-associated protein in the canine liver. *Veterinary Pathology* 22: 327-332.
- TRAPERO, A., BLANCO, M.A. 2001. Enfermedades. In: *El cultivo del olivo*. Barranco, D., Fernández Escobar, R., Rallo, L., eds. Coedición Junta de Andalucía/ Mundi Prensa, Madrid. pp 495-550.
- VILLALBA, R., IRLLES, M.A., BONED, J., TRAPERO, A., MOLTÓ, E. 2003. Estimación de la eficiencia de los fungicidas con cobre tras el lavado. *Vida Rural* 166: 44-47