

ÍNDICE

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Hipótesis.....	1
1.2. Objetivo general	2
1.3. Objetivos Específicos.....	2
CAPÍTULO 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Importancia económica del manzano y peras	3
2.2. Enfermedades de poscosecha.....	3
2.3. Pudrición calicinal en manzanas y peras.....	4
2.3.1. Descripción de la enfermedad	4
2.3.2. Agente causal.....	4
2.3.3. Sintomatología	5
2.4. Métodos de control.....	5
2.4.1. Control cultural	5
2.4.2. Control químico	6
CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS	7
3.1. Obtención del material vegetal.....	7
3.2. Ubicación del estudio	7
3.3. Aislamiento desde manzanas enfermas	8
3.4. Clasificación y selección de aislados de <i>Botrytis</i> spp.....	8
3.5. Identificación molecular.....	10
3.5.1. Extracción de ADN.....	10
3.5.2. Amplificación de ADN por PCR.....	10
3.5.3. Electroforesis.....	11
3.5.4. Análisis filogenético.....	11

3.6.	Cuantificación del grado de esporulación de los aislados	11
3.7.	Pruebas de patogenicidad	12
3.8.	Efecto de la aplicación de fungicidas en manzanas cv. Fuji sobre el crecimiento de <i>Botrytis</i> spp. inoculadas artificialmente (protección química)	13
3.9.	Diseño experimental y análisis estadístico	13
CAPÍTULO 4. RESULTADOS.....		15
4.1.	Sintomatología de la enfermedad Pudrición Calicinal	15
4.2.	Cultivares de manzanas y peras analizados	16
4.3.	Cuantificación porcentual de aislados fúngicos	16
4.4.	Determinación y selección de aislados de <i>Botrytis</i>	16
4.5.	Identificación molecular.....	21
4.5.1.	Análisis filogenético.....	21
4.6.	Cuantificación del grado de esporulación	24
4.7.	Efecto de aplicación de fungicidas en manzanas cv. Fuji sobre el crecimiento de 10 aislados de <i>Botrytis cinerea</i> inoculadas artificialmente (protección química).	25
4.8.	Pruebas de patogenicidad	27
CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN		30
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES		32
7 BIBLIOGRAFÍA		33
ANEXOS		37
Anexo 1: Extracción de ADN.....		37
Anexo 2. Estándar de termociclado		38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Localidades de recolección de fruta con síntomas de pudrición calicinal.....	7
Figura 4.1. Síntomas de diferentes frutos colectados. A , Fruto con síntomas y signos en huerto cv. Cripps Pink; B , Fruto después de incubación en cámara húmeda (20°C, 10 días) cv. Fuji; C , Fruto cv. Crisp Pink obtenido desde almacenaje (0°C); D , Corte longitudinal del fruto obtenido desde almacenaje donde se aprecia el síntoma avanzando hacia el interior; E , Fruto cv Packhams obtenido desde almacenaje (0°C); F , Corte longitudinal del fruto “E” obtenido desde almacenaje.....	15
Figura 4.2: Procedencia de aislados por cultivar de manzanas colectadas en la zona central de Chile.....	17
Figura 4.3: Procedencia de los aislados por cultivar de peras (<i>Pyrus communis</i>) colectadas en la zona central de Chile.....	17
Figura 4.4: Clasificación por género fungoso de aislados desde peras y manzanas con pudrición calicinal recolectadas de la zona central de Chile.....	18
Figura 4.5: Gráfico de la clasificación del grado de esporulación de aislados de <i>Botrytis</i>	18
Figura 4.6. Placas Petri con aislados de <i>Botrytis</i> de escasa (izquierda) y abundante (derecha) producción de conidias, de 9 días a 20°C, aislados desde manzanas con síntomas de pudrición calicinal.....	19
Figura 4.7: Gel de agarosa al 1% sobre luz ultravioleta de 312nm con filtro UV, indicando el peso aproximado en pares de base (pb) de cada gen analizado (G3PDH, HSP60, RPB2) y de la región intergénica ITS.....	22
Figura 4.8. Análisis filogenético de 90 taxones de especies de <i>Botrytis</i> en un árbol de mínima evolución, del conjunto de datos basado en secuencias de ADN de G3PDH, usando el software MEGA 7.0.18.....	23
Figura 4.9. Análisis filogenético de 90 taxones de especies de <i>Botrytis</i> en un árbol de mínima evolución, del conjunto de datos basado en secuencias de ADN de HSP60, usando el software MEGA 7.0.18.....	23
Figura 4.10. Análisis filogenético de 90 taxones de especies de <i>Botrytis</i> en un árbol de mínima evolución, del conjunto de datos basado en secuencias de ADN de RPB2, usando el software MEGA 7.0.18.....	23

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 3.1. Origen de los aislados de Botrytis seleccionados para la etiología de la pudrición calicinal en manzanas de la Región del Maule.	9
Cuadro 3.2. Partidores utilizados para la amplificación por PCR	10
Cuadro 4.1. Origen y producción de conidias de la selección de aislados de Botrytis spp. obtenidos a partir de manzanas y peras de la Región del Maule.....	20
Cuadro 4.2. Conidias/cm ² de especies de Botrytis en medio de cultivo King B (MKB), agar papa dextrosa acidificado (APDa) y arveja papa dextrosa (AAD), incubándose 14 días a 20°C.	24
Cuadro 4.3. Efecto protector de los fungicidas pirimetanil (Penbotec 400 SC), fludioxonil (Scholar 230 SC) aplicados mediante ducha, a la infección de aislados de Botrytis en manzanas cv. Fuji después de 90 días de almacenamiento a 0°C.....	26
Cuadro 4.4. Tamaño de la lesión promedio (mm) por la inoculación con conidias y micelio de especies de Botrytis en manzanas cv. Granny Smith después de 6 días a 20°C en cámara húmeda.	28
Cuadro 4.5. Tamaño de la lesión (mm) por la inoculación con conidias y micelio de especies de Boen manzanas cv. Fuji después de 6 días a 20°C en cámara húmeda.....	29
Cuadro Anexo 1. Estándar de termociclado para amplificar de la región ITS y los genes G3PDH, HSP60, RPB2	38