



UNIVERSIDAD DE TALCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA DE AGRONOMÍA

**Protección de heridas de poda con fungicidas biológicos contra infecciones por
Diplodia seriata y *Neonectria ditissima* en ramillas de manzanos en la Región del
Maule, Chile**

MEMORIA DE TÍTULO

JOCELYN CATALINA VELIS ORTEGA

TALCA- CHILE

2020

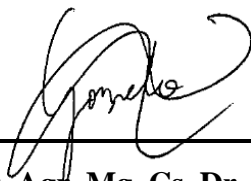
CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

Aprobación:



Profesor guía: Ing. Agr. Mg. Cs. Dr. Gonzalo A. Díaz

Profesor Asistente

Escuela de Agronomía

Facultad de Ciencias Agrarias



Profesor informante: Ing. Agr. MS. PhD. Mauricio Lolas C.

Profesor Asociado

Escuela de Agronomía

Facultad de Ciencias Agrarias

Fecha de presentación de Memoria de Título, 22 de enero de 2021

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mis padres; Alicia y Alfredo, por recordarme siempre lo importante que es salir adelante, por motivarme a cumplir mis metas y entregarme valores y enseñanzas que han sido mi pilar en estos años de vida.

A ti Will, que has sido el apoyo más grande que he tenido en estos años de Universidad, por estar siempre presente, recordarme que cada paso es un logro y tomar mi mano cada vez que caí.

A mi profesor guía, Gonzalo Díaz, porque a pesar de las dificultades de este año, siempre estuvo disponible a guiarme, brindarme ayuda y aconsejarme para poder realizar este trabajo.

RESUMEN

El manzano (*Malus domestica* Borkh.) es un frutal de hoja caduca que presenta una superficie importante con 32.370 ha, concentrando la producción en la zona central, liderado principalmente por la Región del Maule. Este frutal resulta fundamental para nuestro país, en particular modo, para las exportaciones donde Chile se caracteriza por ser el principal exportador del hemisferio sur. Lamentablemente, en los últimos años entre las enfermedades de importancia que afectan la producción y sobrevivencia de los huertos, están las enfermedades de la madera como el cancro europeo y muerte regresiva de brazos asociados a *Neonectria ditissima* y *Diplodia seriata*, respectivamente. En este estudio, se evaluó la eficiencia de cuatro fungicidas para la protección de heridas de poda en ramillas de manzano cv. Gala, contra los patógenos previamente mencionados. Los productos utilizados incluyen biocontroladores como Coraza (*Hypocrea virens* + *Bacillus licheniformis* + *Bionectria ochroleuca*), y Mamull (*Bionectria ochroleuca* + *Trichoderma gamsii* + *Hypocrea virens*), como productos fungicidas sintéticos como Podexal (Piraclostrobin 0,1%) y Kocide (Hidróxido de cobre 53%). La efectividad de los productos se evaluó en función al largo de la estría necrótica luego de 10 meses desde la protección de la herida e inoculación con micelio de *D. seriata* y *N. ditissima*. Este estudio demostró que una aplicación de productos en base a biocontroladores (consorcios) redujeron de manera significativa la estría necrótica, alcanzando efectividades entre 53 (Mamull) y 65% (Coraza) para el control de *N. ditissima* y de 68 (Mamull) a 71% (Coraza) para el control de *D. seriata*. El producto con menor eficacia fue el hidróxido de cobre (Kocide) para ambos patógenos.

Palabras claves: Heridas de poda, *Diplodia seriata*, *Neonectria ditissima*, protección biológica, fungicidas.

ABSTRACT

The apple trees (*Malus domestica* Borkh.) are a deciduous fruit trees with an important surface of 32,370 ha, concentrating production in the central zone, in the Maule Region. This fruit tree is essential for our country, particularly for exports, where Chile is characterized as the main exporter in the southern hemisphere. Unfortunately, in recent years, among the important diseases that affect orchards during the production, are trunk diseases such as European canker and arm dieback associated with *Neonectria ditissima* and *Diplodia serata*, respectively. In this study, four fungicides efficiency for the protection of pruning wounds in apple twigs cv. Gala, against *N. ditissima* and *D. serata*. Fungicide used include biocontrollers such as Coraza (*Hypocrea virens* + *Bacillus licheniformis* + *Bionectria ochroleuca*) and Mamull (*Bionectria ochroleuca* + *Trichoderma gamsii* + *Hypocrea virens*). Synthetic fungicidal products such as Podexal (Piraclostrobin 0.1%) and Kocide (Copper hydroxide 53%) were evaluated. The products effectiveness was evaluated based on the length of the necrotic streak after 10 months from the protection of the wound and inoculation with mycelium of *D. serata* and *N. ditissima*. This study showed that an application of products based on biocontrollers (consortia) significantly reduced necrotic streaks, reaching effectiveness between 53 (Mamull) and 65% (Coraza) for the control of *N. ditissima* and 68 (Mamull) a 71% (Cuirass) for the control of *D. serata*. The product with the lowest efficacy was copper hydroxide (Kocide) for both pathogens.

Keywords: Pruning wounds, *Diplodia mutila*, *Neonectria ditissima*, Biological protection, fungicides.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Hipótesis... ..	2
1.2 Objetivos... ..	2
1.3 Objetivos específicos	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Generalidades del manzano... ..	4
2.2 Superficie y exportaciones nacionales... ..	4
2.3 Poda	5
2.3.1 Poda de plantación	5
2.3.2 Poda de formación	6
2.3.3 Poda de fructificación	6
2.4 Enfermedades en el manzano... ..	6
2.5 Enfermedades de la madera en manzano... ..	7
2.5.1 Cancro europeo y muerte regresiva en el manzano	7
2.6 Manejo y control de los patógenos	12
2.6.1 Coraza	12
2.6.2 Podexal.....	13
2.6.3 Kocide... ..	13
2.6.4 Mamull.....	13
2.6.5 Protección contra <i>Neonectria</i> y <i>Diplodia</i>	14
3. MATERIALES Y METODOS.....	16
3.1 Aislamiento fungoso... ..	16
3.2 Ubicación del estudio... ..	16
3.3 Protección de heridas de poda en ramillas.....	16
3.4 Inoculación de heridas de poda.....	17
3.5 Lesión en la madera de las ramillas	18
3.6 Re-aislamiento del <i>Diplodia seriata</i> y <i>N. ditissima</i>	18
3.7 Diseño experimental y análisis estadístico	18

4. RESULTADOS	19
4.1 Protección de heridas de poda en manzano cv. Gala contra <i>D. seriata</i>	19
4.2 Protección de heridas de poda en manzano cv. Gala contra <i>N. ditissima</i>	22
5. DISCUSIÓN.....	25
6. CONCLUSIONES.....	29
7. BIBLIOGRAFIA.....	30

ÍNDICE DE CUADROS

Página

Cuadro 2.1. Superficie nacional y distribución de plantaciones de manzanos variedades rojas y verdes (hectáreas)... 4

Cuadro 3.1. Tratamientos realizados para evaluar la eficacia protectora de diferentes productos comerciales contra las infecciones de *Neonectria ditissima* y *Diplodia seriata* en *Malus x domestica* cv. Gala. Julio 2016 de mayo del 2017... 17

Cuadro 4.1. Largo de la necrosis de la madera (mm) y eficacia de control (%) de los biofungicidas como protectores de cortes de poda en ramillas inoculadas con el hongo *Diplodia seriata* en *Malus x domestica*, cv. Gala.....21

Cuadro 4.2. Largo de la necrosis de la madera (mm) y eficacia de control (%) de los biofungicidas como protectores de cortes de poda en ramillas inoculadas con el hongo *Neonectria ditissima* en *Malus x domestica*, cv. Gala..... 24

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pagina
Figura 2.1. Ciclo de la enfermedad cancro y muerte regresiva del manzano asociado a Botryosphaeriaceae como <i>Diplodia seriata</i> en Chile.....	8
Figura 2.2. Síntomas de canchros elípticos (papiraceos= aspecto de papel) anaranjados (A) en ramillas que muestra inicio de infección desde alrededor de la yema, y canchros anillados en troncos (B y C) que provocan estrangulamiento de ramas y troncos asociados a <i>Neonectria ditissima</i> en Chile	9
Figura 2.3. Múltiples peritecios (estructura sexual) rojizos entre los intersticios de la corteza en brazos de manzano (A) y ascosporas (esporas sexuales) de <i>Neonectria ditissima</i>	10
Figura 2.4. Síntomas de canchrosis y muerte regresiva en manzanos comerciales cv. Cripps Pink en la Región del Maule. Cancro alargado en el tronco de árbol adulto de manzano con muerte regresiva de brazos (A),. Muerte regresiva del eje central (B). Cancros en tronco y ramillas (C).....	11
Figura 2.5. Corte trasnversal de brazos y troncos de manzanos con cancro y muerte regresiva con pudrición dura de la madera (forma de V).....	11
Figura 4.1. Lesiones necróticas desarrolladas en ramillas protegidas con fungicidas comerciales químicos y biológicos y posteriormente inoculadas con <i>Diplodia seriata</i>	20
Figura 4.2 Porcentaje de lesión (mm) presente en las ramillas inoculadas con <i>Diplodia seriata</i>	20

Figura 4.3. Lesiones necróticas desarrolladas en ramillas protegidas con fungicidas comerciales químicos y biológicos y posteriormente inoculadas con *N. ditissima*..... 23

Figura 4.4 Porcentaje de lesión (mm) presente en las ramillas inoculadas con *N. ditissima*..... 23

1. INTRODUCCIÓN

El manzano (*Malus x domestica* borkh.) es una especie frutal leñosa que es ampliamente cultivado por su fruta, la manzana, a nivel mundial. El manzano, se cultiva en diversos ambientes templados y su historia está profundamente entrelazada con la humanidad. Presente en el sur de Europa hace más de dos milenios, su origen ha sido situado entre los Balcanes en el sudeste de Europa, el Cáucaso, Irán, Turkestán y sur de Rusia, desde donde fue llevado a Grecia varios siglos a.C. (Gil, 2009).

En la actualidad la superficie chilena total es de 32.370 ha, concentrando la producción en la zona central, liderado por la Región del Maule seguido la Región de O'Higgins con el 60% y 20% de la superficie nacional, respectivamente (ODEPA, 2019). Si bien la superficie bajo de las históricas 36.000 ha, esta disminución debe principalmente por cambio de variedades más productivas con atributos organolépticas específicas y cambio de cultivo más atractivo económicamente como el cerezo.

Teniendo en cuenta todos estos factores, las manzanas, seguirán siendo un commodity en el futuro y si bien se espera una disminución leve en el volumen de exportación, se presentarán cambios en la oferta hacia fruta de mejor calidad (Quiroz, 2017). Resulta, por lo tanto, fundamental un mayor control hacia aquellas patologías que actualmente generan problemas a los productores y significan pérdidas de fruta durante la producción y almacenamiento (Latorre, 2018).

En los últimos años entre las enfermedades de importancia que afectan a nivel de campo a diversas especies frutales, están las enfermedades de la madera como la cancrrosis (cancros) y muerte regresiva de brazos (Díaz et al., 2013; Latorre, 2018). Esta patología es principalmente asociada a especies de la familia Botryosphaeriaceae, como *Diplodia seriata* y *Neofusicoccum parvum* en viñedos (Díaz et al., 2013), *Diplodia* spp. y *Neofusicoccum* spp. en paltos (Valencia et al., 2019) y *Diplodia mutila* en nogales (Díaz et al., 2018) entre otros.

En el manzano, actualmente hay un alto impacto de enfermedades de cancrrosis y muerte regresiva de brazos y ramillas que, afectan la producción y sobrevivencia de los huertos frutícolas en el tiempo. Un claro ejemplo de estas son los patógenos fungosos *D. seriata* y *Neonectria ditissima*; agentes causales de la muerte regresiva (cancro aspero) y cancro europeo del manzano, respectivamente en el manzano (Díaz et al., 2019; Latorre, 2018). Estas patologías generan cancros que se extienden lentamente hasta anillar y producir la desecación de ramillas, ramas y troncos de los árboles en planta jóvenes y adultas. Estos cancros persisten en el árbol, adquiriendo un color café, con aspecto rugoso y anillado (Latorre, 2018).

En la actualidad, son complejas las medidas de control de estas infecciones pues, son limitadas a una acción netamente preventiva y no existen gran cantidad de alternativas. La protección de heridas de poda es la única forma de protección que se utiliza en Chile. Básicamente, se usan productos comerciales como piraclostrobin (inhibidor de la quinona externa, QoI) o tebuconazole (inhibidor de la demetilación, DMI). Por ende, resulta de gran importancia, el estudio de nuevas opciones para la protección de heridas de poda, en particular, en el uso de biocontroladores como *Trichoderma* spp.

Por lo tanto, a continuación, se plantea la hipótesis y objetivos del presente trabajo:

1.1 Hipótesis:

La protección de heridas de poda con fungicidas químicos sería más eficaz que el uso de fungicidas biológicos contra la infección asociada a *Diplodia seriata* y *Neonectria ditissima* en manzanos.

1.2 Objetivo:

Determinar la eficacia de fungicidas comerciales químicos y biológicos en la protección de heridas de poda contra la infección por *Diplodia seriata* y *Neonectria ditissima* en manzanos.

1.3 Objetivos específicos:

Evaluar la eficacia de protección de fungicidas comerciales químicos y biológicos en el control de *Diplodia seriata* en manzanos.

Evaluar la eficacia de protección de fungicidas comerciales químicos y biológicos en el control de *Neonectria ditissima* en manzanos.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Generalidades del manzano

El manzano (*Malus x domestica* Borkh.) pertenece a la familia Rosaceae, subfamilia Amygdaloideae y al género *Malus*. En su forma silvestre desarrolla una raíz pivotante profunda, una copa globosa, alcanzando normalmente los 10 metros de altura. En huertos productivos en cambio, siempre se somete a algún sistema de conducción para obtener alta densidad y facilitar labores como poda, cosecha y fertilización (Merlet et al., 2016). Su origen ha sido situado entre los Balcanes en el sudeste de Europa, el Cáucaso, Irán, Turkestán y sur de Rusia (Gil, 2009).

2.2 Superficie y exportaciones nacionales

En la actualidad la superficie de manzanos alcanza aproximadamente las 32.370 ha, concentrándose su producción en la zona central, incluyendo la Región del Maule y Región de O`Higgins con un 60% y 20% de la superficie nacional, respectivamente (ODEPA, 2019). En este sentido, Chile se ha convertido en el principal país exportador de manzanas del hemisferio sur y el más dinámico en cuanto al recambio varietal. Las exportaciones de la producción van principalmente Europa, E.E.U.U, Canadá, Lejano Oriente y Oriente Medio (Toranzo, 2016).

Cuadro 2.1. Superficie y distribución de las plantaciones comerciales de variedades de manzanos (hectáreas).

Variedades	Región (superficie, ha)							Total
	Valparaíso	Metropolitana	O`Higgins	Maule	Bío-Bío	Araucanía	Los Ríos	
Roja	102	102	5.368	16.870	575	2.845	0,2	26.736
Verde	47	32	2.365	2.766	48	215	7,3	5.634
TOTAL	149	134	7.734	19.636	623	3.060	7,5	32.370

2.3 Poda

La poda es una práctica que regula la capacidad vegetativa y reproductiva de las plantas. A su vez esta capacidad también, está definida genéticamente por la variedad y es fuertemente influenciada por el portainjerto y por las condiciones de clima, suelo y manejo del cultivo (Ojer et al., 2011). Además de regularizar la capacidad vegetativa y reproductiva la poda, favorece la iluminación y aireación, eliminar ramas rotas, secas o dañadas, economiza la mano obra, haciendo que sea más rápida y de fácil ejecución (Coque et al., 2012).

El árbol no podado entra antes en producción, pero, desarrolla numerosas ramas las cuales se alargan excesivamente con el tiempo y se curvan por el peso, impidiendo una buena aireación y sobre todo limitando la iluminación al interior de la copa, lo que ocasiona que una gran parte de las yemas ubicadas en esta zona no evolucionen por falta de luz. La fructificación, por lo tanto, se realizará casi exclusivamente en la zona periférica del árbol.

Se presentarán, además, cosechas irregulares, generando variaciones muy marcadas en algunos años respecto a otros y finalmente dificultades en las labores del cultivo y recolección (Coque et al., 2012). En el manzano como en otros frutales se realizan diferentes tipos de poda:

2.3.1 Poda de plantación

Permite regular o equilibrar la parte aérea y radicular en el momento de la plantación, cuando se inicia la formación del sistema de conducción de la planta. En general, se prefiere la eliminación de los brotes anticipados, para favorecer el crecimiento vigoroso que proviene directamente del tronco (Ojer et al., 2011).

2.3.2 Poda de formación

De acuerdo con el sistema de conducción elegido, el objetivo principal de la poda de formación es formar el esqueleto que va a construir la madera permanente al árbol. Se realiza en los primeros años, pero, para la mantención de la estructura de los brazos y para favorecer la iluminación durante la vida productiva del árbol, requiere de podas correctivas, las cuales son realizadas en los años sucesivos (Ojer et al., 2011).

2.3.3 Poda de fructificación

La poda de fructificación o producción se realiza anualmente para regular la producción y asegurar la renovación de los elementos de fructificación. Tiene como misión disponer al árbol con una buena distribución de brotes fructíferos; eliminando ramas laterales fructíferas que hayan producido y escogiendo ramas laterales de renovación para su fructificación, tiene como fin obtener frutos de mayor calidad para satisfacer los requerimientos del mercado (Warrington y Weston, 1990).

2.4 Enfermedades en el manzano

Para el manzano, como para otros cultivos, el desarrollo de una enfermedad es posible solo con la presencia e interacción de tres componentes fundamentales: hospedero, fitopatógeno y condición medioambiental. Tal interacción, viene normalmente conocida como triángulo de las enfermedades y resulta fundamental pues, la ausencia de cualquiera de estos componentes no permitirá la existencia de la enfermedad (Latorre, 2005; Agrios, 2005).

Basado en Latorre (2018) las enfermedades del manzano son provocadas por dos agentes causales:

Agentes abióticos: Definidos comúnmente como desordenes, no son infectivos y afectan el normal desarrollo de la planta. Generalmente son causados por factores como temperaturas extremas, deficiencia/exceso de nutrientes, extrema acidez/alcalinidad del suelo, condiciones

lumínicas extremas, falta de oxígeno entre otros. Uno de los desórdenes más conocidos, causado por algunos de estos factores es Burrknot o raíces tumorosas.

Agentes bióticos: Son agentes infectivos, pueden transmitirse entre plantas enfermas y sanas y corresponden a hongos, bacterias, fitoplasmas, virus, nematodos entre otros. En este grupo, normalmente se desarrollan las enfermedades que más comúnmente afectan los huertos; Agalla de la corona causado por *Agrobacterium tumefaciens*, Cancro europeo del manzano causado por *Neonectria ditissima*, Pudrición calicinal por *Botrytis cinerea*, Sarna del manzano causado por *Venturia inaequalis* entre otras (Acuña, 2010; Latorre, 2018). Cabe destacar, que la sarna del manzano es considerada la principal enfermedad del manzano a nivel nacional, que necesita de un manejo y programa de aplicaciones de fungicidas (Díaz y Lolas, 2016).

2.5 Enfermedades de la madera en manzano

Las enfermedades que afectan a la madera de especies frutales como vides (Díaz et al., 2013), nogales (Díaz et al., 2018) y paltos (Valencia et al., 2019), entre otros tienen una ocurrencia e impacto cada vez mayor. En este sentido, las micosis como cancro europeo (*Neonectria ditissima*) y cancro y muerte regresiva (*Diplodia seriata*) del manzano son de importancia en huertos comerciales de la Región del Maule (Díaz et al., 2019).

2.5.1 Cancro europeo y muerte regresiva en el manzano

Entre la gran cantidad de patologías que atacan al manzano, actualmente hay un alto impacto de enfermedades de la madera las cuales, generan diferentes complicaciones como cancrisis y muerte regresiva de brazos. Un claro ejemplo de estas son los patógenos fungosos *Diplodia seriata* y *Neonectria ditissima*; agentes causales de la muerte regresiva (cancro áspero) y cancro europeo del manzano, respectivamente (Díaz et al., 2019; Latorre, 2018).

Epidemiológicamente, las especies fungosas *D. seriata* y *N. ditissima* necesitan de condiciones ambientales de humedad relativa alta (90%), salpicado de lluvia y viento para

estimular y dispersar las esporas tanto durante la caída de hoja (otoño) como durante la poda (invierno), que corresponden a los períodos críticos para el cancro europeo y muerte regresiva de brazos, respectivamente (Sutton et al., 2014). Las principales fuentes de inóculo son ramillas y brazos enfermos que permanecen en el suelo del huerto como residuos de poda y que poseen estructuras reproductivas de *N. ditissima* y *D. seriata* (Figura 2.1) (Sutton et al., 2014; Latorre, 2018). Fundamental es señalar que, a diferencia de enfermedades fúngicas foliares como el oídio, mildiu y botritis, estos patógenos dañan la madera progresivamente hasta causar la muerte de la planta. Los hongos asociados a estas enfermedades se desarrollan preferentemente en o entorno al floema y al xilema, obstruyen los vasos, impiden la circulación de la savia y provocan la pudrición de la madera (López et al., 2013).

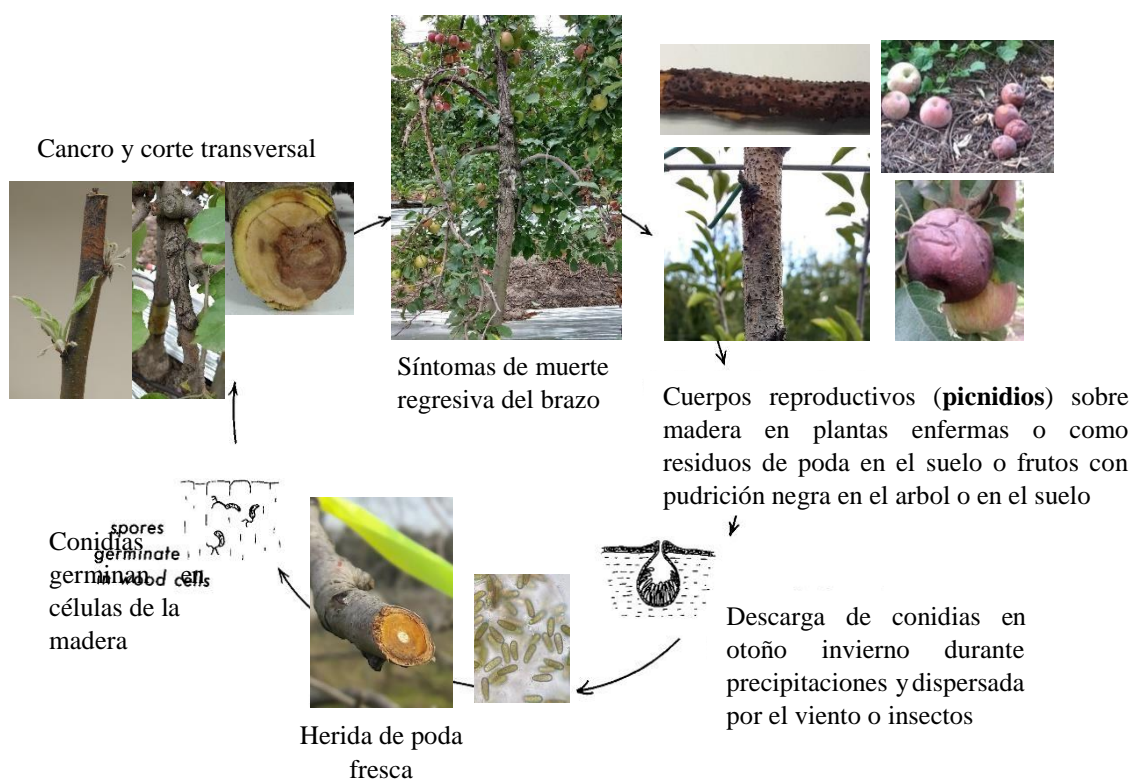


Figura 2.1. Ciclo de la enfermedad cancro y muerte regresiva del manzano asociado a Botryosphaeriaceae como *Diplodia seriata* en Chile. Fuente G. Díaz

Los síntomas del cancro europeo del manzano son posibles de observarse a comienzos de primavera entre los que se incluyen distorsión de brotes, clorosis de hojas y muerte de

estructuras como yemas, brazos y troncos acompañados de canchros elípticos (anillados) con tejido papiráceo, que inicialmente se desarrolla en yemas (cicatriz de la caída de hoja) del manzano (Figura 2.2) (Swinburne, 1975; Weber, 2014). Por lo tanto, el período crítico de protección es durante la caída de hoja, siendo esta herida la principal vía de entrada para las esporas de *Neonectria ditissima* (Figura 2.3). Sin embargo, las heridas de poda también son vías de entrada para el patógeno en el manzano. Los canchros se van desarrollando anualmente mediante anillos, y la corteza afectada toma tonalidades negras (corteza y madera muerta) (Figura 2.2).



Figura 2.2. Síntomas de canchros elípticos (papiráceos= aspecto de papel) anaranjados (A) en ramillas que muestra inicio de infección desde alrededor de la yema, y canchros anillados en troncos (B y C) que provocan estrangulamiento de ramas y troncos asociados a *Neonectria ditissima* en Chile. Fuente G. Díaz.

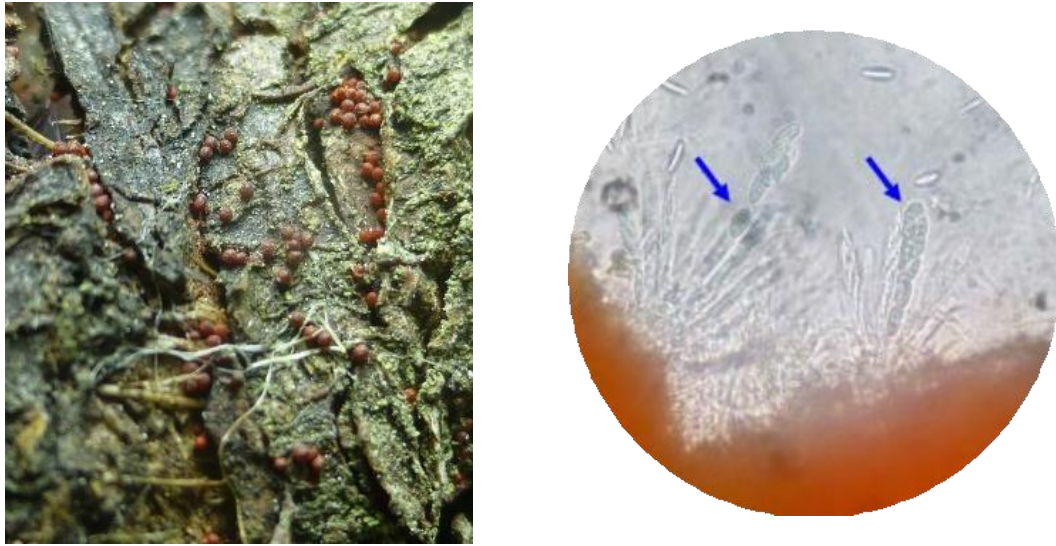


Figura 2.3. Múltiples peritecios (estructura sexual) rojizos entre los intersticios de la corteza en brazos de manzano (A) y ascosporas (esporas sexuales) de *Neonectria ditissima*. Fuente G. Díaz.

Para la canchrosis y muerte regresiva del manzano los síntomas asociados incluyen brotes débiles (menor tamaño y cloróticos) y distorsionados acompañados de canchros alargados que generan la muerte parcial o total de troncos, brazos y ramillas. Los canchros lignificados son frecuentemente de colores anaranjados o cobrizos con una alta producción de picnidios (cancro áspero), (Figura 2.4) (Sutton et al., 2014). En cortes transversales de ramas, brazos y troncos enfermos presentan internamente una pudrición café de la madera de consistencia dura (Figura 2.5) (Díaz et al., 2019). Por lo general, estos canchros se extienden lentamente hasta anillar y producir la desecación de la rama (Figura 2.2 y Figura 2.3) (Latorre, 2018).



Figura 2.4. Síntomas de cancrisis y muerte regresiva en manzanos comerciales cv. Cripps Pink en la Región del Maule. Cancro alargado en el tronco de árbol adulto de manzano con muerte regresiva de brazos (A). Muerte regresiva del eje central (B). Cancros en tronco y ramillas (C). Fuente G. Díaz.



Figura 2.5. Corte transversal de brazos y troncos de manzanos con cancro y muerte regresiva con pudrición dura de la madera (forma de V). Fuente G. Díaz.

2.6 Manejo y control de los patógenos

En la actualidad, son complejas las medidas de control de estas infecciones causadas por *Neonectria* y *Diplodia*, por ser limitadas a una acción netamente preventiva y no existen gran cantidad de alternativas. Es clave entender que debe realizarse un manejo integrado, incorporando medidas culturales, enfocadas a disminución y eliminación de fuentes de inóculo en el huerto comercial (ejemplo: remoción de estructuras-ramas-brazos con canchales en plantas; eliminación de residuos de poda dejados en el suelo; eliminación de frutos con pudrición asociados a *Diplodia* y *Neonectria* en el árbol como en el suelo). Por lo general, una correcta limpieza e higiene del huerto permite limitar la presencia del inóculo; evitar una sucesiva infección y una acción más efectiva de la protección con fungicidas, al haber menos inóculo en el campo. En la actualidad, la protección de heridas de poda es la medida más utilizada en Chile; básicamente consiste en el uso de pastas que contienen ingredientes activos de fungicidas como cobre (grupo inorgánico), tebuconazol (grupo de los inhibidores de la demetilación, DMI), piraclostrobin (grupo de inhibidores de la quinona extrema, QoI) entre otros (Torres et al., 2013; Olmo et al., 2017).

2.6.1 Coraza

Producto en base a un consorcio biológico que incluye a tres biocontroladores; *Bionectria* (*B.*) *ochroleuca* Cepa Mitique 0,333% p/v, *Hypocrea* (*H.*) *virens* cepa Ñire al 0,333% p/v, *Bacillus* (*Ba.*) *licheniformis* cepa Copihue al 0,333% p/v y otros coformulantes 99% p/v (SAG, 2019). Producto con acción fungicida y bactericida formulado en pasta en base a micelio y conidias de *B. ochroleuca* y *H. virens*, como de esporas de *Ba. licheniformis*. Las especies *B. ochroleuca* e *H. virens* presentan un efecto simultáneo por competencia, inhibición y parasitismo, mientras que *B. licheniformis* presenta un efecto de competencia e inhibición. Este producto está recomendado para cultivos como pomáceas, carozos y vides en las dosis de 7 a 10 l/ha (SAG, 2019). Producto nacional de la empresa Bio Insumo Nativa.

2.6.2 Podexal

Es una pintura fungicida comercial de ingrediente activo piraclostrobin (perteneciente al grupo de inhibidores de quinona externa, QoI) recomendado para la protección de cortes de poda contra las enfermedades de la madera en vides y en otros frutales. Está compuesto de piraclostrobin 0,1% p/v (1 g/L), y otros coformulantes c.s.p 100% p/v. Está recomendado para ser utilizado en pomáceas, carozos y berries (SAG, 2017). Al ser aplicado sobre el corte de poda protege de la infección causada por la germinación de esporas o el desarrollo de micelio de los hongos que atacan la madera expuesta. Producto fabricado por la empresa BASF- Chile.

2.6.3 Kocide

Kocide es un fungicida comercial de la empresa ANASAC, que contiene un 53% p/p de hidróxido de cobre como ingrediente activo y otros coformulantes c.s.p 100% p/p. Es un producto formulado en gránulos dispersables en agua (PW). Presenta una acción contacto y preventiva, para el uso agrícola con el fin de controlar importantes enfermedades causadas por hongos y bacterias en diferentes tipos de cultivos. Kocide está recomendado para ser utilizado en pomáceas, carozos, vides y otros frutales. En el caso de las enfermedades de la madera la dosis recomendada es 200 – 300 g/ hL (SAG, 2019).

2.6.4 Mamull

Producto en base a un consorcio biológico que incluye a tres biocontroladores; *B. ochroleuca* cepa Mitique al 0,333% p/v, *Trichoderma (T.) gamsii* cepa Volqui al 0,333% p/v e *H. virens* cepa Ñire al 0,333% p/v y otros coformulantes 99% p/v (SAG, 2019). Producto con acción fungicida compuesto por micelio y conidias de, *B. ochroleuca* e *H. virens* y (*T. gamsii*). Respectivamente *B. ochroleuca* e *H. virens* presentan un efecto tanto de competencia, inhibición y parasitismo, mientras que *T. gamsii* presenta un efecto de competencia y microparasitismo.

Está recomendado para ser utilizado en manzano, cerezos, vid y arándanos en la dosis de 100 g/hL (SAG, 2020). Producto nacional de la empresa Bio Insumo Nativa.

2.6.5 Protección contra *Neonectria* y *Diplodia*

Recientemente un estudio en Nueva Zelanda, evaluó la efectividad de captan (grupo ftalimidias) en la protección de heridas por caída de hojas en manzano; los resultados mostraron una disminución del 55 al 70% de la infección con al menos 4 aplicaciones durante la temporada (Walter et al., 2019a).

Diferentes estudios también fueron realizados en vides, arándano y almendro; en el primer caso, se evaluó efectividad de inhibidores de la biosíntesis de esteroides, fungicidas DMI, para inhibir la germinación de conidias y el crecimiento micelial de tres aislados de las especies *D. seriata* y *D. mutila*, dos aislados de *Neofusicoccum australe* y uno de *N. parvum*, obtenidos de vides. Los resultados mostraron que tebuconazol, miclobutanil, procloraz y procloraz más epoxiconazol tienen una considerable actividad in vitro contra *D. mutila*, *D. seriata*, *N. australe* y *N. parvum*. De hecho, estos compuestos DMI fueron capaces de detener la germinación conidial e inhibir el crecimiento micelial de Botryosphaeriaceae asociadas a muerte de brazos en vides (Torres et al., 2013).

En arándanos, por otro lado, pastas fungicidas y agentes de control biológico fueron evaluados por su efectividad como protectores de heridas de poda contra *N. parvum*. Se pudo constatar en el estudio que las pastas formuladas con 0,1% benomilo (Bencimidazole), tebuconazol (DMI) al 0,5% y iprodione (Dicarboximida) al 0,06% proporcionaron una protección considerable de las heridas de poda contra *N. parvum*, mientras que el control biológico fue ineficiente (Latorre et al., 2013). Sin embargo, el biocontrol evaluados en base a productos individuales de *Bacillus* y *Trichoderma* como producto en base a cítricos fueron ineficaces en la protección de heridas de poda en arándanos (Latorre et al., 2013).

Finalmente, en almendro se evaluó la eficacia in vitro de diez fungicidas contra cuatro Botryosphaeriaceae spp. (*D. seriata*, *N. luteum*, *N. mediterraneum* y *N. parvum*) los varios ensayos mostraron que ciproconazol, piraclostrobin, tebuconazol y tiofanato-metilo fueron eficaces para la inhibición del crecimiento micelial de la mayoría de estos hongos. Es más, el ingrediente activo tiofanato-metilo fue el fungicida más eficaz, en disminuir las lesiones y presentó porcentajes de infección más bajo en heridas de poda inoculadas artificialmente (Olmo et al., 2017).

Algunos estudios también han verificado el uso ácido fosforoso y fuentes nitrogenadas como alternativa para controlar el crecimiento y esporulación del cancro europeo. En el primer ensayo, al comparar el tratamiento control con los 6 tratamiento de ácido fosforoso, se validó que ninguno de estos últimos causó una reducción estadísticamente significativa en el desarrollo de la enfermedad (Walter et al., 2019b). Por otra parte, al aplicar diferentes concentraciones de fuentes nitrogenadas, se validó que una concentración sobre 0,2 mol/L pudo disminuir significativamente la germinación de conidias, permitiendo limitar el crecimiento de *Neonectria*. Por ende, es posible desarrollar nuevos estudios para validar la eficacia efectiva de nitrógeno como controlador de *N. ditissima* (Campbell et al., 2018).

En Nueva Zelanda, una reciente investigación evaluó, en cultivares Royal Gala y Braeburn, la posibilidad que microorganismos endófitos en hojas y tallos puedan ser utilizados como biocontroladores de *N. ditissima*. De hecho, entre los diferentes aislados bacterianos y fúngicos que fueron obtenidos, se encontraron algunos capaces de reducir de manera importante la enfermedad inhibiendo el crecimiento del hongo y validando, por lo tanto, la posibilidad de ser desarrollados como biocontroladores (Liu et al., 2020).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Aislamiento fungoso

Se evaluó la eficacia protectora de Mamull y Coraza contra las infecciones de *Neonectria ditissima* y *Diplodia seriata* en ramillas de manzanos cv. Gala. Para ello se utilizaron dos aislados; *N. ditissima* aislado MZ-Nec-1 y *D. seriata* aislado MZ-B1 ambos pertenecen al Banco Micológico del Laboratorio de Patología Frutal de la Universidad de Talca. Las especies *N. ditissima* y *D. seriata* se identificaron por morfología y molecularmente, y fueron previamente obtenidos desde manzanos con síntomas de cancro europeo y de muerte regresiva, respectivamente.

3.2 Ubicación del estudio

La evaluación de la eficacia de control sobre *N. ditissima* y *D. seriata* se realizó en el ‘Cuartel manzanos’ de la Estación Experimental Panguilemo, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Talca. La estación experimental está localizada en Panguilemo, Región del Maule, en Ruta 5 Sur Km 245 (35° 22’ S, 71°35’ N). Este ‘Cuartel manzanos’ presenta un marco de plantación de 2,4 m entre hilera y 4,8 m sobre hilera en cv. Gala, sobre portainjerto MM111, plantadas en el año 1998.

3.3 Protección de heridas de poda en ramillas

En el estudio se utilizaron nueve plantas adultas aparentemente sanas del cv. Gala contiguas, seleccionándose 10 ramillas en cada planta, las que fueron podadas en su extremo distal, asegurando una homogeneidad de tamaño con una longitud de 30 cm de largo y un diámetro de 10 mm. Inmediatamente después de realizar la poda, se aplicaron sobre las heridas de poda en forma preventiva y localizada, los fungicidas formulados: 1) en pastas: Podexal (piraclostrobin 0,1%, BASF, Chile), y Coraza® (*H. virens* cepa Ñire + *B. licheniformis* cepa Copihue + *B. ochroleuca* cepa Mitique, Bio Insumos Nativa, Chile) mediante la utilización de brochas, y 2) para aspersión: Mamull (*B.* cepa Mitique + *T. gamsii*

cepa Volqui + *H. virens* cepa Ñire, Bio Insumos Nativa, Chile) y Kocide 2000 WG (hidróxido de cobre 53,8%, ANASAC, Chile), mediante la utilización de aspersores manuales de 500 ml (Cuadro 3.1).

3.4 Inoculación de heridas de poda

Transcurridas 24 horas desde la poda y protección de las ramillas se inocularon con un disco de agar invertido de 5-mm con crecimiento activo de cultivo de 7 días de edad en medio APD de *N. ditissima* (MZ-Nec-1) y de *D. seriata* (MZ-B1). Un igual número de ramillas se dejaron sin protección (agua), pero fueron inoculadas de la misma manera como se indicó arriba, designados como tratamientos testigos positivos (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Fungicidas químicos y biológicos utilizados para evaluar la eficacia protectora contra las infecciones de *Neonectria ditissima* y *Diplodia seriata* en heridas de poda de *Malus x domestica* cv. Gala. Julio 2016– mayo 2017.

	Producto comercial	Ingrediente activo	Aplicación en corte de poda	Dosis o Concentración Recomendada en etiqueta
T1	Testigo	agua	sin protección	-
T2	Coraza	<i>Hypocrea virens</i> cepa Ñire <i>Bacillus licheniformis</i> cepa Copihue <i>Bionectria ochroleuca</i> cepa Mitique	Brocha	10 L/ha
T3	Podexal	Piraclostrobin 0,1%	Brocha	directo
T4	Kocide	Hidróxido de cobre 53%	Aspersión (3ml/herida)	200 g/ hL
T5	Mamull	<i>Bionectria ochroleuca</i> cepa Mitique <i>Trichoderma gamsii</i> cepa Volqui <i>Hypocrea virens</i> cepa Ñire	Aspersión (3ml/herida)	100 g/hL

3.5 Lesión en la madera de las ramillas

Luego de 10 meses desde la protección e inoculación de las ramillas, se procedió a su recolección. Una vez en el laboratorio de Fitopatología Frutal, se retiró la corteza de cada ramilla y se dejó expuesto la necrosis de la madera. Posteriormente, se utilizó un pie de metro para medir el avance de *N. ditissima* y *D. seriata*, dando como resultado la medición en milímetros de la necrosis en la madera (mm) asociada al hongo.

3.6 Re-aislamiento del *Diplodia seriata* y *N. ditissima*

Para asegurar que el necrosamiento de la madera fue provocado por la inoculación de *N. ditissima* y *D. seriata*, una vez medido el avance, se realizó el re-aislamiento mediante la siembra de trocitos de ramillas con necrosis, que previamente se desinfectaron superficialmente con alcohol 75% por 15 segundos, se colocaron en placas de Petri con medio agar-papa-dextrosa al 2% (APD).

Luego de 10 días de incubación, se pudo observar el crecimiento del hongo, cuya identificación se realizó a través de microscopio óptico, observándose el crecimiento y morfología de las hifas y las esporas características de esta especie.

3.7 Diseño experimental y análisis estadístico

El estudio fue conducido en un diseño completamente al azar (DCA) utilizando 10 ramillas por árbol como unidad experimental. Se utilizaron nueve repeticiones por tratamiento. Se analizaron separadamente los datos de *D. seriata* y *N. ditissima*. Los promedios se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA), seguido de una prueba de rango múltiple de Tukey ($p < 0.05$). Se utilizó el programa estadístico Statgraphics.

4. RESULTADOS

4.1 Protección de heridas de poda en manzano cv. Gala contra *D. seriata*.

Todas las ramillas sin protección desarrollaron lesiones necróticas en la madera de ramillas de manzano cv. Gala, después de diez meses de inoculados con micelio de *Diplodia seriata* (T1), fluctuando entre 35,2 a 42,7 mm en longitud (Figura 4.1). Las observaciones microscópicas y del crecimiento de la colonia de los aislados fungosos, obtenidos desde el cultivo de trocitos con tejido necrótico de la madera inoculados, confirmó la presencia de este hongo fitopatógeno, confirmando la identificación de *D. seriata* (100% de re-aislamiento).

Todos los tratamientos de protección evaluados, tanto en pasta como asperjados, disminuyeron significativamente el largo de la lesión necrótica con respecto al tratamiento testigo (agua) (Cuadro 4.1). El tratamiento que obtuvo la mayor eficacia fue la pasta con ingrediente activo piraclostrobin (tratamiento podexal) que alcanzó un 74% de eficacia en la protección de heridas de poda en el cv. Gala, seguido por los tratamientos biocontroladores Coraza y Mamull, con un 71% y 68% de eficacia, respectivamente (Cuadro 4.1; Figura 4.2). Aunque estadísticamente estos tres tratamientos son igual de efectivos (Figura 4.1). Una menor eficacia presentó el fungicida de ingrediente activo hidróxido de cobre (tratamiento Kocide) alcanzando un valor de eficiencia del 41%. Sin embargo, este tratamiento, al igual que los demás, no permitió el avance de la estría necrótica como la obtenida con el tratamiento testigo (tratamiento sin protección) (Figura 4.1 y 4.2).



Figura 4.1. Lesiones necróticas desarrolladas en ramillas de manzano cv. Gala protegidas con fungicidas comerciales químicos y biológicos, después de 10 meses post-inoculación con micelio de *Diplodia seriata*.

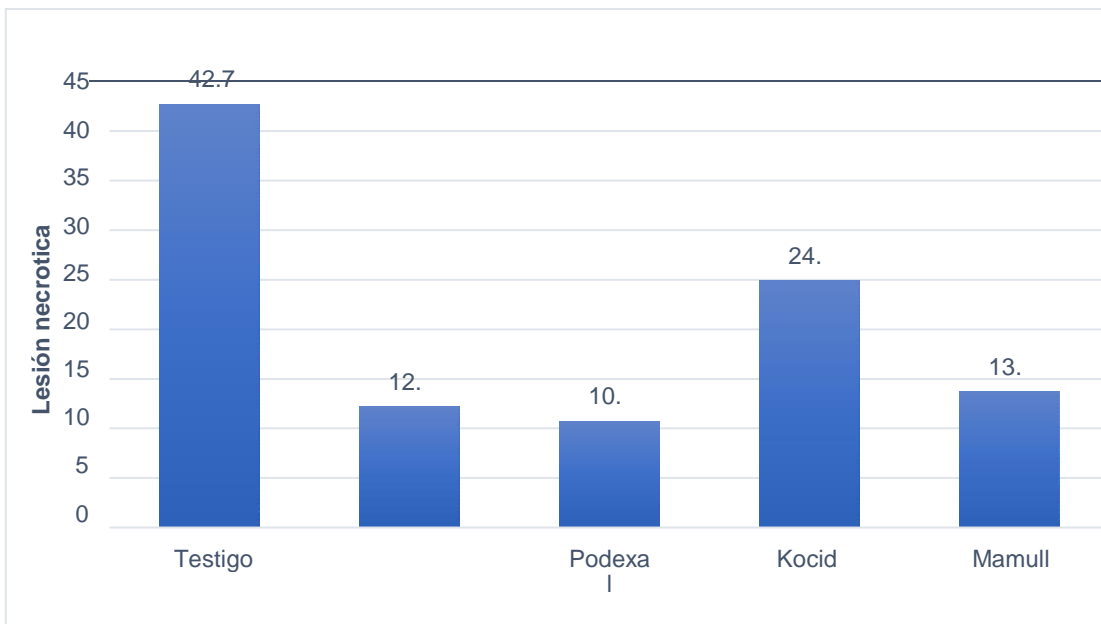


Figura 4.2 Longitud de lesión necrótica (mm) de ramillas de manzano cv. Gala protegidas e inoculadas con *Diplodia seriata*, después de 10 meses en la estación experimental de Panguilemo, Universidad de Talca.

Cuadro 4.1 Largo de la necrosis de la madera (mm) y eficacia de control (%) de los biofungicidas como protectores de cortes de poda en ramillas inoculadas con el hongo *Diplodia seriata* en *Malus x domestica*, cv. Gala. Estación Experimental Panguilemo, Universidad de Talca. Julio-2016 – mayo 2017.

Tratamientos	Ingrediente activo	Largo estría necrótica (mm)	Eficiencia (%)
Testigo	agua	42,7 c	-
Coraza	<i>T. virens</i> + <i>Ba. licheniformis</i> + <i>B. ochroleuca</i>	12,2 a	71,4
Podexal	Piraclostrobin 0,1%	10,7 a	74,9
Kocide	Hidróxido de cobre 53%	24,9 b	41,7
Mamull	<i>B. ochroleuca</i> + <i>T. gamsii</i> + <i>T. virens</i>	13,7 a	67,9
<i>Valor-P</i>		<0,0001	

Promedios seguidos con letras distintas en columnas indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a prueba de rango múltiple de Tukey ($p < 0,05$).

4.2 Protección de heridas de poda en manzano cv. Gala contra *N. ditissima*.

Todas las ramillas sin protección desarrollaron lesiones necróticas en la madera de ramillas de manzano cv. Gala, después de diez meses de inoculados con micelio de *N. ditissima* (T1), fluctuando entre 15,4 a 24,1 mm en longitud (Figura 4.3). Las observaciones microscópicas y del crecimiento de la colonia de los aislados fungosos, obtenidos desde el cultivo en APD (2%) de trocitos con tejido necrótico de la madera inoculados, confirmó la presencia de este hongo fitopatógeno (Figura 4.3).

Todos los tratamientos de protección evaluados (podexal, coraza, mamull y kocide) tanto en pasta como asperjados, disminuyeron significativamente ($P < 0,0001$) el largo de la lesión necrótica con respecto al tratamiento Testigo (Cuadro 4.2). El tratamiento que obtuvo la mayor eficacia fue la pasta piraclostrobin (Podexal) que alcanzó un 66% de eficacia en la protección de heridas de poda en el cv. Gala, seguido por pasta biológica Coraza y Mamull, con un 64% y 53% de eficacia, respectivamente (Cuadro 4.2). Aunque estadísticamente estos tres tratamientos son igual de efectivos. Una menor eficacia presentó el fungicida en base a hidróxido de cobre, alcanzando una eficacia del 49%. Sin embargo, el tratamiento kocide, al igual que los demás, disminuyó significativamente el avance de la estría necrótica versus el tratamiento testigo (sin protección) (Figura 4.4)

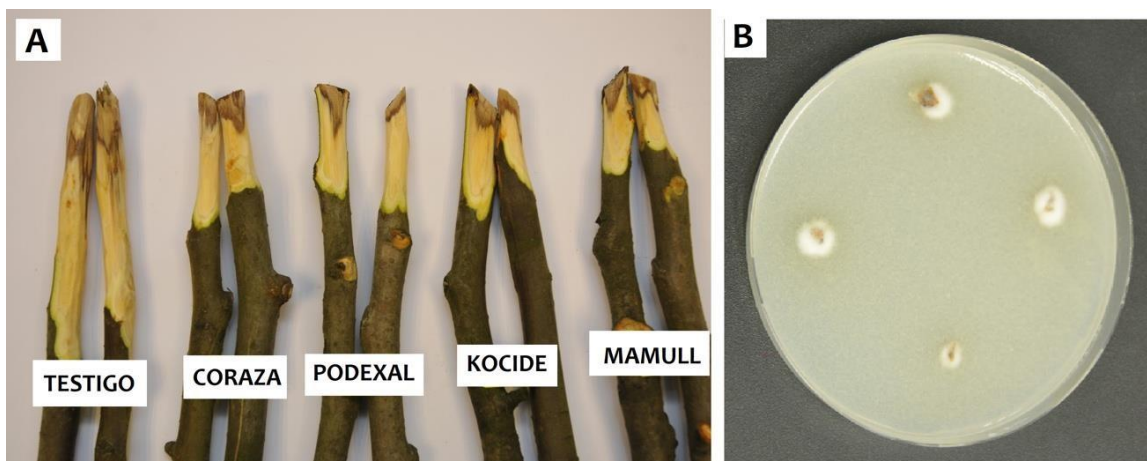


Figura 4.3. Lesiones necróticas desarrolladas en ramillas de manzano cv. Gala protegidas con fungicidas comerciales químicos y biológicos, después de 10 meses post-inoculación con micelio de *N. ditissima* (A). Re-aislamiento de *N. ditissima* en medio de cultivo APD (2%) desde trozos de la zona de avance en lesión de ramillas de tratamiento testigo (B).

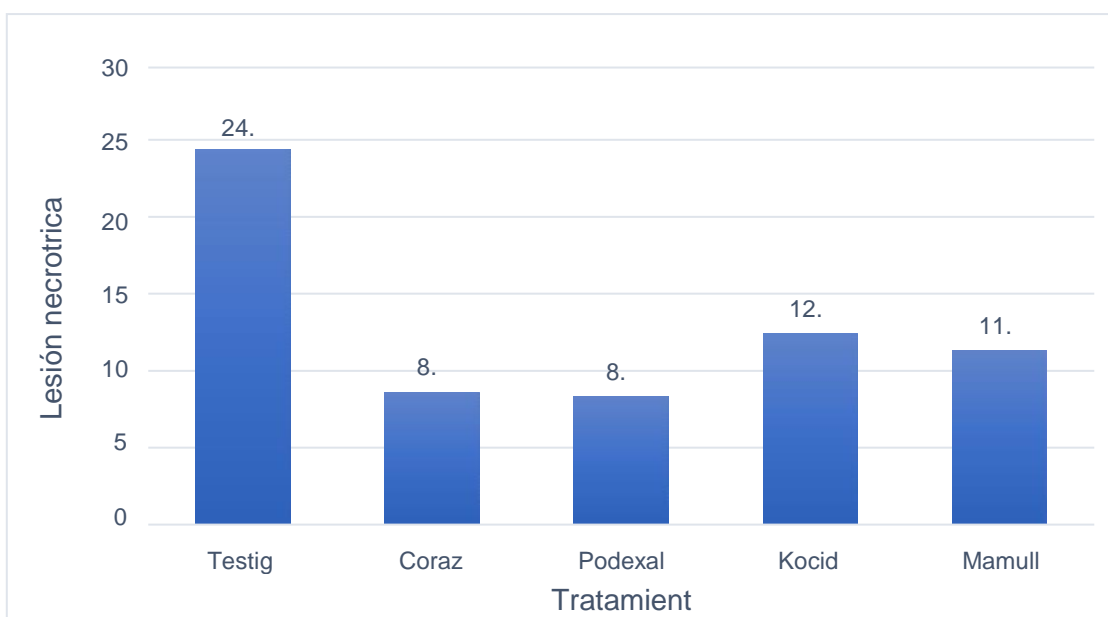


Figura 4.4. Longitud de lesión necrótica (mm) de ramillas de manzano cv. Gala protegidas con fungicidas e inoculadas con *Neonectria ditissima*, después de 10 meses en la estación experimental de Panguilemo, Universidad de Talca, Talca.

Cuadro 4.2 Largo de la necrosis de la madera (mm) y eficacia de control (%) de los biofungicidas como protectores de cortes de poda en ramillas inoculadas con el hongo *Neonectria ditissima* en *Malus x domestica*, cv. Gala. Estación Experimental Panguilemo, Universidad de Talca. Julio-2016 – mayo 2017.

Tratamientos	Ingrediente activo	Largo estría necrótica (mm)	Eficiencia (%)
Testigo	agua	24,4 c	-
Coraza	<i>T. virens</i> <i>Ba. licheniformis</i> + <i>B. ochroleuca</i>	8,6 a	64,7
Podexal	Piraclostrobin 0,1%	8,3 a	65,9
Kocide	Hidróxido de cobre 53%	12,4 b	49,1
Mamull	<i>B. ochroleuca</i> + <i>T. gamsii</i> + <i>T. virens</i>	11,3 ab	53,6
<i>Valor-P</i>		<0,0001	

Promedios seguidos con letras distintas en columnas indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a prueba de rango múltiple de Tukey ($p < 0,05$).

5. DISCUSIÓN

Basado en los resultados obtenidos en el presente trabajo, se demuestra que una única aplicación de protección localizada de productos agroquímicos y biocontroladores sobre las heridas de poda de ramillas de manzano, pueden ser efectivas en disminuir las infecciones asociadas a *D. seriata* y *N. ditissima*, hongos causantes de muerte regresiva de brazos y cancro europeo, respectivamente en el cultivo del manzano en la Región del Maule. Este trabajo constituye el primero en evaluar y demostrar la eficacia de productos biológicos comerciales en el control de *D. seriata* y *N. ditissima* en manzanos en Chile.

En el actual estudio, la reducción significativa del largo de la estría necrótica por la protección de las heridas de poda contra hongos que dañan a la madera, fue obtenida con productos fungicidas agroquímicos y biológicos formulados tanto en pasta como en líquido, coincidiendo con trabajos previos contra Botryosphaeriaceae en vides (Díaz y Latorre, 2013; Zuñiga, 2016), arándanos (Latorre et al., 2013) en Chile, como en California y España en vides (Rolshausen et al., 2010) y almendros (Olmo et al., 2017) entre otros, respectivamente. De la misma forma, las infecciones por *N. ditissima* se reducen con la protección de heridas de poda al utilizar productos fungicidas sintéticos y biológicos concordando con los trabajos realizados en manzanos en Alemania por Weber (2014) y Nueva Zelanda por Walter et al. (2019a).

La eficacia de los productos podría ser mejorada si se incorpora más de una aplicación sobre las heridas de poda, ya que la susceptibilidad de la herida de poda se mantiene susceptibles por lo menos 30 días en manzanos para infecciones por *N. ditissima* (Weber, 2014), como en vides contra Botryosphaeriaceae (Eskalen et al., 2007; Rolshausen et al., 2010; Elena and Luque, 2016a). Este aspecto debe ser considerado y estudiado para tener certeza en la utilización de más de una aplicación de protección para mejorar eficacia sobre las heridas de poda de biocontroladores como también fungicidas sintéticos.

Es importante recordar que los patógenos de enfermedades de la madera como pueden ser *D. seriata* y *N. ditissima*, ingresan a la planta hospedera a través de las heridas frescas de

poda, siendo ésta la principal o una de las principales vías de infección, lo que ha sido demostrado en los diferentes estudios por Bester et al. (2007) en vides en Sudáfrica; Elfar et al. (2013) en arándanos de Chile; McDonalds et al. (2009) en paltos en California (E.E.U.U). Todo esto marca aún más la importancia de la aplicación de fungicidas comerciales tanto pronto sea posible después de la poda para la protección de hongos asociados a muerte de brazos y cancro europeo.

Se han realizado también, una gran cantidad de estudios en diferentes cultivos para evaluar la eficiencia de los distintos fungicidas disponibles en el mercado y encontrar el producto más efectivo. Contrariamente al trabajo realizado por Latorre (2013) en arándanos, en el cual la pasta con el ingrediente activo piraclostrobin no mostró grandes diferencias y sus resultados no fueron significativos para proteger las heridas de poda, en este estudio, piraclostrobin fue uno de los tratamientos más efectivos. De hecho, los fungicidas aplicados con brocha como pastas, es decir Coraza y Podexal, presentaron mayor eficacia respecto a los productos en aspersión, mostrando resultados similares al estudio de Díaz y Latorre (2013) y Zuñiga(2016). Esto es debido a que las pastas no solo contienen los ingredientes activos, sino que además anteponen una barrera física que seguramente cumple un rol protector per se y además ayuda a la retención del producto, lo que las hace las eficaces ante la presencia de microorganismos (Díaz y Latorre, 2013). Es importante indicar, que hoy en día se busca las aplicaciones líquidas por razones de tiempo y costo, se están empezando a estudiar y a implementar. En el trabajo de Olmo et al., 2017, lograron la mejor eficacia con la aplicación líquida de metil-tiofanato (bencimidazole) en la protección de heridas de poda en almendros. Es más, recientemente en Nueva Zelanda han demostrado la eficacia de fungicidas aplicados por nebulizadora obteniendo un buen control (80%) de *Neofusicoccum luteum* en la protección de heridas frescas de poda en vides (Sosnowsky y Mondy, 2019). Coincidentemente, Brown et al (2020) en California en vides, también lograron altas eficacias con fungicidas aplicados líquidamente con maquinaria, usando las dosis comerciales de piraclostrobin (QoI) + boscalid (SDHI) y metil-tiofanato (Bencimidazole) + miclobutanil (DMI) contra Botryosphaeriaceae. Esto nos demuestra que las aplicaciones líquidas son interesantes y

por ende deben estudiarse para mejorar su aplicación y la efectividad para implementarla en el manejo integrado de enfermedades y combinarlas con los biocontroladores.

El tratamiento con hidróxido de cobre por otro lado, nombre comercial Kocide, fue el menos eficaz respecto a los otros fungicidas utilizados, esto es debido a que, si bien presenta una rápida liberación de los iones de cobre, tiene efecto de choque y una buena eficacia, presenta una baja persistencia. Por lo tanto, los resultados de este trabajo son similares al estudio de Muñoz (2015) donde este ingrediente activo por sí solo no era capaz de limitar el crecimiento de la enfermedad ojo de buey en manzanas, más bien en conjunto a otros ingredientes genera un control más eficaz. Esta idea se confirma en el estudio realizado por Andrade et al. (2017) en el cultivo de papa donde la mezcla de hidróxido de cobre junto a *Trichoderma* spp. se ha demostrado efectivos como tratamiento foliar, para el control del tizón tardío de la papa.

El tratamiento testigo por lo demás, fue el que presentó mayor crecimiento de la estría necrótica (mm), lo que permite indicar que, si bien se obtuvieron diferencias en la eficiencia de los fungicidas, todos fueron capaces en una medida o en otra de detener el avance de las patologías tratadas. Esto proporciona un importante avance sobre el uso de fungicidas biológicos pues, marca la eficiencia de estos últimos en la protección de heridas de poda en manzano.

En la agricultura de hoy en día, se exigen una disminución de los productos agroquímicos utilizados en la producción por exigencias medioambientales, riesgo biológico y por exigencias mercado. Por lo tanto, nuestros resultados indican que la utilización de productos comerciales en base a biocontroladores son una alternativa efectiva y real disponibles en Chile, siendo los productos comerciales como Mamull (*Trichoderma* spp.) y Coraza (*Trichoderma* spp. y *Bacillus*) una buena alternativa para incorporar en la producción integrada de enfermedades en el manzano, enfocados en cancro europeo y cancos y muerte regresiva (Weber, 2014; Mondello et al., 2018). Es más, recientemente Liu et al (2020), obtuvieron promisorios resultados en el control de *N. ditissima* evaluando bacterias y hongos propios del manzano, mostrando un potencial biocontrol con estos organismos propios del manzano.

Contra el cancro europeo. Sin embargo, de forma contraria el biocontrol evaluado en la protección de heridas de poda en arándanos, la utilización de productos basados en un solo biocontrolador como *Bacillus* y *Trichoderma* fueron ineficaces en la protección contra *Neofusicoccum* en arándanos (Latorre et al., 2013). Esto indica que las formulaciones que están compuestas por más de un biocontrolador (consorcio) presentan una mayor eficacia y son una alternativa para ser incorporada para el control de hongos que penetran por las heridas en especies arbóreas.

Finalmente, estos resultados nos indican que la protección de las heridas de poda en manzanos debe realizarse considerando al menos una aplicación invernal utilizando productos fungicidas agroquímicos (piraclostrobin) o fungicidas biocontroladores (en base a especies de *Trichoderma* spp.) bajo condiciones de la Región del Maule. Es más, son necesarios una mayor cantidad de estudios para mejorar eficacia de protección, considerando la susceptibilidad de la herida de poda, número de aplicación, combinación de manejos culturales y aplicaciones liquidas automatizadas entre otras.

6. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el siguiente trabajo se concluye que:

- 1) Los productos comerciales en base a consorcios de biocontroladores son eficaces en la protección de heridas de poda de manzanos contra *D. seriata*.
- 2) Los productos comerciales en base a consorcios de biocontroladores son eficaces en la protección de heridas de poda de manzanos contra *N. ditissima*.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, I. 2000. Controle el cancro europeo, la enfermedad más frecuente del manzano sureño. Tierra Adentro N° 35:30-31.
- Agrios, G.A. 2005. Plant pathology. Fifth edition. Elsevier Academic Press. Oxford, UK. 922 p.
- Andrade, N., Venegas, C., Cancino, B. y Doussoulin, H. 2017. Utilización de *Trichoderma spp.* e hidróxido de cobre, como tratamiento foliar, para el control del tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*). Agro Sur. 45: 31-38
- Bester, W., Crous, P. W., and Fourie, P. H. 2007. Evaluation of fungicides as potential grapevine pruning wound protectants against *Botryosphaeria* species. Australian Plant Pathology. 36: 73-77.
- Brown A., Travadon, R., Lawrence D., Torres G., Zhuang, G. and Baumgartner, K. 2020. Pruning-wound protectants for trunk-disease management in California table grapes. Crop Protection. 141: 105490.
- Campbell, R. E., Chevalier C. E., Tournon, A., and Walter, M. 2018. The effect of nitrogen source on in vitro growth of *Neovectria ditissima* (European canker). New Zealand Plant Protection. 71: 180-188.
- Coque, M., Díaz, M y Garcia, J. 2012. El cultivo del manzano. Edit orial: IMP. EDICIONES PARANINFO S.A. - MUNDI-PRENSA. Primera edición. Madrid. España. 221 p.
- Díaz, G.A., y Latorre, B, A. 2017. Redagrícola. Cancrosis de la madera en vides y efectividad de control. Recuperado: <https://www.redagricola.com/cl/cancrosis-la-madera-vides-efectividad-control/>. Consultado el 17 de noviembre del 2020.

Díaz, G.A, and 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.

Díaz, G. A., Auger, J., Besoain, X., Bordeu, E and Latorre B. A. 2013. Prevalence and pathogenicity of fungi associated with grapevine trunk diseases in Chilean vineyards. *Ciencia e Investigación Agraria*. 40(2): 327-339.

Díaz, G. A., Latorre, B. A., Ferrada, E., Gutiérrez, M., Bravo, F and Lolas M. 2018. First Report of *Diplodia mutila* Causing Branch Dieback of English Walnut cv. Chandler in the Maule Region, Chile. *Plant Disease*, 102(7): 1451.

Díaz, G. A., Mostert, L., Halleen, F., Lolas M., Gutierrez M., Ferrada E and Latorre B. A. 2019. *Diplodia seriata* Associated with Botryosphaeria Canker and Dieback in Apple Trees in Chile. *Plant Disease*, 103(5): 1025.

Díaz, G. A y Lolas, M. 2016. Enfermedades de pre y postcosecha en manzanos. Boletín técnico, volumen 16 N°5. Centro de Pomáceas. Universidad de Talca, Talca, Chile. Recuperado en: <http://pomaceas.utalca.cl/wp-content/uploads/2016/06/enfermedades-pre-y-pos-cosecha.pdf>. Consultado el 15 de julio del 2020.

Elena, G., and Luque, J. 2016a. Seasonal susceptibility of grapevine pruning wounds and cane colonization in Catalonia, Spain following artificial infection with *Diplodia seriata* and *Phaeomoniella chlamydospora*. *Plant Disease* 100:1651-1659.

Elena, G., and Luque, J. 2016b. Pruning debris of grapevine as a potential inoculum source of *Diplodia seriata*, causal agent of Botryosphaeria dieback. *European Journal of Plant Pathology* 144:803-810.

Elfar, K., Torres, R., Díaz, G.A., and Latorre, B, A. 2013.Characterization of *Diaporthe australafricana* and *Diaporthe* spp. associated with stem canker of blueberry in Chile. *Plant Disease*. 97:1042-1050.

Eskalen, A., Feliciano, A.J., and Gubler, W.D. 2007. Susceptibility of grapevine pruning wounds and symptom development in response to infection by *Phaeoacremonium aleophilum* and *Phaeomoniella chlamydospora*. *Plant Disease* 91:1100-1104.

Gil, G. 2009. *Fruticultura, El potencial productivo*. Editorial: Ediciones Universidad Católica de Chile. Cuarta edición. Santiago, Chile. 431 p.

Latorre, B, A. 2005. *Enfermedades de las Plantas Cultivadas*. Editorial: Ediciones Universidad Católica de Chile. Sexta edición. Santiago. Chile. 720.

Latorre, B, A. 2018. *Compendio de las enfermedades de las plantas*. Editorial: Ediciones Universidad Católica de Chile. Primera edición. Santiago, Chile. 1093 p.

Latorre, B, A; Torres, R; Silva, T and Elfar, K. 2013. Evaluation of the use of wound-protectant fungicides and biological control agents against stem canker (*Neofusicoccum parvum*) of Blueberry. *Ciencia e Investigación Agraria*. 40(3):537-545.

Liu, J., Ridgway, H. J., and Jones, E. E. 2020. Apple endophyte community is shaped by tissue type, cultivar and site and has members with biocontrol potential against *Neonectria ditissima*. *Journal of Applied Microbiology*. 128: 1735-1753.

López, N. H. Muñoz, L. Martín, M.T. Martín. 2013. Efectos de tres fungicidas sobre 11 especies de hongos asociados al decaimiento de la vid. *Phytoma*, edición 251. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, Zamadueñas, Valladolid, España.

McDonalds, V., Lynch, S., and Eskalen, A. 2009. First report of *Neofusicoccum australe*, *N. luteum*, and *N. parvum* associated with avocado branch canker in California. *Plant Disease*. 93: 967.

Merlet, H., Navarro, A y Rosales, C. 2016. Manual técnico, productivo y económico de la manzana. Centro de Información y Recursos Naturales (CIREN). Publicación N° 191. Recuperado en: <http://bibliotecadigital.ciren.cl/handle/123456789/26085>. Consultado el 14 de julio del 2020.

Mondello, V., Songy, A., Battiston, E., Pinto, C., Trotel-Aziz, P., Clément, C., Mugnai L. and Fontaine F. 2018. Grapevine Trunk Diseases: A Review of Fifteen Years of Trials for Their Control with Chemicals and Biocontrol Agents. *Plant Disease*. 102: 1189-1217.

Muñoz, C. 2015. Efecto de distintos fungicidas y fosfito de potasio aplicados en precosecha sobre la prevalencia de la enfermedad ojo de buey (*Neofabraea alba*) en manzana (*Malus domestica*) cv. pink lady. Memoria para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Talca. Chile. Facultad Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. 34p.

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). 2019. Catastro frutícola año 2019. 8p. Recuperado en: https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2019/09/catastro_maule.pdf. Consultado el: 5 de junio del 2020.

Ojer, M., Reginato Meza, G., Vallejos, F and Boulet, A. 2011. Producción de duraznos para industria. Editorial: Zeta Editores. Universidad Nacional de Cuyo. Primera edición. Mendoza, Argentina. 240p.

Olmo, D; Gramaje, D and Armengol, J. 2017. Evaluation of fungicides to protect pruning wounds from Botryosphaeriaceae species infections on almond trees. *Phytopathologia Mediterranea*. 56(1): 77–86.

Pinilla, B. 2013. Principales enfermedades de las pomáceas. Boletín técnico, volumen 13 N°5. Centro de Pomáceas. Universidad de Talca, Talca, Chile. Recuperado en: http://pomaceas.otalca.cl/wp-content/uploads/2016/06/Boletin_N13_5.pdf. Consultado el 17 de noviembre del 2020.

Quiroz, I. 2017. Tendencias de la plantación en manzanos, perales y cerezos y su impacto en la oferta de la fruta. Universidad de Talca, Talca, Chile. Recuperado en: <http://pomaceas.otalca.cl/wp-content/uploads/2016/07/Isabel-Quiroz.-PomaExpo-2017.pdf>. Consultado el: 5 de junio del 2020.

Rolshausen, P., J. Úrbez-Torres, J., Rooney-Latham, S., Eskalen, A., Smith, R. and Gubler W. 2010. Evaluation of Pruning Wound Susceptibility and Protection Against Fungi Associated with Grapevine Trunk Diseases. American Journal of Enology and Viticulture. 61: 113-119.

SAG. 2017. Podexal. Recuperado de https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/podexal_27-12-2017.pdf. Consultado el 5 de noviembre del 2020.

SAG. 2019. Coraza. Recuperado de: http://www.sag.cl/sites/default/files/ref._21_etiqueta_coraza_08.08.2019.pub_.pdf. Consultado el 5 de noviembre del 2020.

SAG. 2019. Kocide. Recuperado de: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/kocide_2000_20-05-2019.pdf. Consultado el 5 de noviembre del 2020.

SAG. 2020. Mamull. Recuperado de: <https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/etiqueta-mamull-09-07-20.pdf>. Consultado el 5 de noviembre del 2020.

Sosnowski, M. and Mundy D. 2019. Pruning Wound Protection Strategies for Simultaneous Control of Eutypa and Botryosphaeria Dieback in New Zealand. *Plant Disease*. 103(3): 519-525.

Sutton, B. T., Aldwinckle, H., Agnello, A., Walgenbach, J. 2014. *Compendium of Apple and Pear Diseases and Pests*. Editorial: Amer Phytopathological Society. Segunda edición. Minesota, USA. 224p.

Swinburne, T. R. 1975. European canker of apple. *Review of Plant Pathology* 54: 787–799.

Toranzo, J. 2016. Producción mundial de manzanas y peras. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Recuperado en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_produccion-mundial-de-manzanas-y-peras_0.pdf. Consultado el 14 de julio del 2020.

Torres, C; Latorre, B, A; Undurraga, P y Bensoain, X. 2013. Evaluación de fungicidas DMI contra especies de Diplodia y Neofusicoccum asociadas con canchros por Botryosphaeria en la vid. *Ciencia e investigación agraria*. vol.40 no.1.

Valencia, A., Gil, P., Latorre, B and Rosales, M. 2019. Characterization and Pathogenicity of Botryosphaeriaceae Species Obtained from Avocado Trees with Branch Canker and Dieback and from Avocado Fruit with Stem End Rot in Chile. *Plant Disease*, 103(5): 996-1005.

Weber, R. 2014. Biology and control of the apple canker fungus *Neonectria ditissima* (syn. *N. galligena*) from a Northwestern European perspective. *Erwerbs-Obstbau*. 56: 95–107.

Walter, M., Manktelow, D. W., Le Berre, F., Campbell, R. E., Turner, L., Vorster, L., Patrick, E., Butler, R. C., and Northcott, G. L. 2019a. How much captan is required for wound protection of *Neonectria ditissima* conidial infection in apple? *New Zealand Plant Protection*. 72: 95-102.

Walter, M., Campbell, R. E., and Turner, L. 2019b. Can phosphorous acid be used to control *Neonectria ditissima* in New Zealand grown apples?. *New Zealand Plant Protection*. 72: 117-122.

Warrington, I.J., and Weston, G.C.1990. *Kiwifruit: Science and management*. Ray Richards publisher in association with the New Zealand Society for Horticultural Science. Auckland, New Zealand. 575p.

Zuñiga, M. 2016. Evaluación de diferentes fungicidas para el control de *Phaeomoniella chlamydospora* en heridas de poda en *Vitis vinifera* cvs. Cabernet Sauvignon y Sauvignon blanc. Memoria para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Talca, Chile. Facultad Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. 43p.

