

**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**Virulencia en ramillas de manzano cv. Fuji por Botryosphaeriaceae spp. obtenidos desde
diferentes hospederos frutales con muerte regresiva**

MEMORIA DE TÍTULO

JAVIERA CATALINA DUARTE PEÑA

TALCA- CHILE

2022

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, 2022

**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**Virulencia en ramillas de manzano cv. Fuji por Botryosphaeriaceae spp. obtenidos desde
diferentes hospederos frutales con muerte regresiva**

Por

JAVIERA CATALINA DUARTE PEÑA

MEMORIA DE TITULO

**presentada a la
Universidad de Talca como
parte de los requisitos para optar al título de**

INGENIERO AGRÓNOMO

TALCA, 2022

**El presente estudio fue apoyado y financiado por el Proyecto Fondecyt Regular 1210109
(Anid, Chile).**

Aprobación:



Gonzalo Díaz Ulloa

Profesor Guía: Ing. Agr. Mg Cs. Dr. Gonzalo Díaz Ulloa

Profesor asociado

Escuela de Agronomía

Facultad de Ciencias Agrarias



Mauricio Lolas Caneo

Profesor informante: Ing. MS. PhD. Mauricio Lolas Caneo

Profesor titular

Escuela de Agronomía

Facultad de Ciencias Agrarias

Fecha de presentación de la Defensa de Memoria: 17 de agosto 2022

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer especialmente a mis padres Carmen y Miguel y a mis hermanos Diego y Paulina. A mis padres, darles las gracias por entregarme valores, por apoyarme incondicionalmente siempre en las decisiones que tomé, por brindarme fortaleza, por motivarme a cumplir mis metas y por creer siempre en mí.

Quiero agradecer a Mauricio Gutiérrez y a todo el equipo del Laboratorio de Patología Frutal por brindarme toda su ayuda, apoyo, tiempo y disposición, ya que fueron parte fundamental en este proceso.

Además, quiero agradecer a todas las personas que conocí en los años de universidad, a mis profesores, compañeros y en especial a mis amigos que estuvieron conmigo en los buenos y malos momentos. A Diana por ser mi gran y fiel amiga y compañera todos estos años, por el inmenso apoyo y cariño. A mi pololo Marcelo, por nunca dejarme sola y por acompañarme en cada momento.

Finalmente agradezco a mi profesor guía Gonzalo Díaz Ulloa, por toda la dedicación, paciencia y apoyo en el desarrollo de este estudio.

RESUMEN

Chile tiene un importante rol como exportador de manzanas, siendo los cultivares Gala, Fuji y Cripps Pink los que representan un volumen significativo en las exportaciones con una superficie cultivada de 36.816 ha, cuya producción está altamente concentrada entre las regiones del Maule y O'Higgins. Sin embargo, esta producción se ve afectada por varios problemas, entre los que destacan las pudriciones asociadas a hongos. Entre los patógenos fungosos que recientemente han sido reportados causando problemas en diversos huertos frutales son las especies de la familia Botryosphaeriaceae. Estas especies causan cancris y muerte regresiva de ramillas y brazos desarrollando cancris necróticos en los tejidos, provocando daños en huertos de vid, manzanos, arándanos y nogales. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar el grado de la extensión de cancris en ramillas de manzano cv. Fuji en condiciones de invernadero y de campo, las cuales mediante heridas de poda fueron infectadas con 10 aislados pertenecientes a 5 especies de Botryosphaeriaceae (*Diplodia seriata*, *D. mutila*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum arbuti* y *N. parvum*) colectadas desde manzanos, arándanos, vides y nogales con muerte regresiva. Los resultados obtenidos indicaron que las heridas de poda de estacas y ramillas dormantes de manzano cv. Fuji son susceptible a las diferentes especies de Botryosphaeriaceae, desarrollando lesiones necróticas de color pardo oscuro, en donde *N. arbuti* proveniente del manzano, *N. parvum* y *D. mutila* provenientes de nogal fueron significativamente los más virulentos, tanto en condición de invernadero y campo. Sin embargo, el aislado que presentó una menor virulencia fue *L. theobromae*.

Palabras claves: Botryosphaeriaceae. cancris, lesión necrótica, muerte regresiva, manzano.

ABSTRACT

Chile has an important role as an exporter of apples, with the cultivars Gala, Fuji and Cripps Pink representing a significant volume of exports with a cultivated area of 36,816 ha, whose production is highly concentrated between the regions of Maule and O'Higgins. However, this production is affected by several problems, including fungus-associated rots. Among the fungal pathogens that have recently been reported causing problems in several fruit orchards are species of the Botryosphaeriaceae family. These species cause cankers and dieback of twigs and branches developing necrotic cankers in the tissues, causing damage in grapevine, apple, blueberry and walnut orchards. Therefore, the objective of the present study was to determine the extent of cankers on twigs of apple cv. Fuji under greenhouse and field conditions, which were infected by pruning wounds with 10 isolates belonging to 5 species of Botryosphaeriaceae (*Diplodia seriata*, *D. mutila*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum arbuti* and *N. parvum*) collected from apple, blueberry, grapevine and walnut trees with dieback. The results obtained indicated that pruning wounds of dormant cuttings and twigs of apple cv. Fuji are susceptible to the different species of Botryosphaeriaceae, developing dark brown necrotic lesions, where *N. arbuti* from apple, *N. parvum* and *D. mutila* from walnut were significantly the most virulent, both in greenhouse and field conditions. However, the isolate with the lowest virulence was *L. theobromae*.

Keywords: Botryosphaeriaceae. cankers, necrotic lesion, dieback, apple tree.

ÍNDICE

Página

1. INTRODUCCIÓN	¡Error! Marcador no definido.
1.1 Hipótesis.....	3
1.2 Objetivo general	3
1.3 Objetivos específicos	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Generalidades del manzano	4
2.2 Generalidades de la producción de manzanas.....	5
2.2.1 Manzanas chilenas en el contexto internacional	5
2.2.2 Principales países exportadores e importadores de manzanas.....	6
2.2.3 Competidores indirectos y directos de Chile en las exportaciones de manzanas.....	8
2.3 Generalidades de la superficie de manzanas.....	9
2.3.1 Generalidades del cultivar Fuji.....	10
2.4 Desarrollo de las enfermedades de manzanos en Chile	10
2.5 Familia Botryosphaeriaceae.....	12
2.5.1 Aspectos epidemiológicos de cancrrosis y muerte regresiva de manzanos en Chile central	12
2.5.2 Enfermedades por Botryosphaeriaceae en manzanos.....	14
2.5.3 Enfermedades por Botryosphaeriaceae en kiwis	15
2.5.4 Enfermedades por Botryosphaeriaceae en nogales.....	16
2.5.5 Enfermedades por Botryosphaeriaceae en vid.....	17
2.5.6 Enfermedades por Botryosphaeriaceae en arándanos	18
2.5.7 Infecciones cruzadas de Botryosphaeriaceae	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1 Ubicación del ensayo	19
3.2 Aislados fungosos en estudio	19
3.3 Inoculación de estacas de manzano en condición de invernadero	21

3.4 Inoculación de ramillas de manzano en condición de campo	22
3.5 Diseño experimental y análisis estadístico en condiciones de invernadero y campo	23
4. RESULTADOS	24
4.1 Lesiones necróticas en estacas inoculadas en condición de invernadero	24
4.1 Lesiones necróticas en ramillas inoculadas en condición de campo	26
5. DISCUSIÓN	28
6. CONCLUSIÓN	31
7. BIBLIOGRAFÍA	32

ÍNDICE DE CUADROS

N° de cuadro	Página
Cuadro 2.1. Superficie y productividad de los principales países productores de manzanos y potenciales competidores, comparados con Chile.	5
Cuadro 2.2. Países exportadores de manzana.....	6
Cuadro 2.3. Principales variedades exportadas por Chile.....	7
Cuadro 2.4. Países importadores de manzana.....	8
Cuadro 2.5. Superficie y distribución de plantaciones de manzanos variedades rojas y verdes (hectáreas) en la Región del Maule.	9
Cuadro 2.6. Superficie por hectárea de las principales variedades rojas en la Región del Maule.	10
Cuadro 3.1. Aislados fungosos obtenidos desde frutales con muerte regresiva en la Región del Maule.....	20
Cuadro 4.1. Análisis de varianza para SQRT(Largo de lesión (mm)) por Botryosphaeriaceae spp.	25
Cuadro 4.2. Análisis de varianza para largo de lesión (mm) por Botryosphaeriaceae spp.	27

ÍNDICE DE FIGURAS

N° de figura	Página
Figura 2.1. Exportación de manzanas (Ton) y su participación en los mercados de destino (%).7	
Figura 2.2. Triángulo de la enfermedad compuesto por hospedero susceptible, patógeno virulento y condiciones ambientales favorables para la infección.....	11
Figura 2.3. Lesiones sarnosas causadas por <i>Venturia inaequalis</i> en hojas y fruta.....	11
Figura 2.4. Ciclo de la enfermedad cancrrosis y muerte regresiva del manzano en Chile central.	13
Figura 2.5. Síntomas de cancrrosis y muerte regresiva en manzanos, asociados a Botryosphaeriaceae spp. Manzano cv. Cripps Pink de 25 años con cancro alargado en el tronco (flecha roja) y muerte regresiva (flecha blanca) (A). Cancro perenne severo en el tronco de un manzano de 25 años cv. Cripps Pink (B). Cancro alargado en el tronco de árbol adulto de manzano con muerte regresiva de brazos (C). Árbol joven (7 años) cv. Fuji mostrando cancro y muerte regresiva con presencia de picnidios (D).....	14
Figura 2.6. Síntomas de Cancro Áspero a nivel de huerto con ramas afectadas.	14
Figura 3.1. Laboratorio Patología Frutal, Universidad de Talca (A) y Zona del estudio de campo, Estación experimental Panguilemo (B).	19
Figura 3.2. Colonias de los diferentes aislados fungosos que crecen en PDA (2%) en condiciones de incubado a 20°C con régimen de 12h/12h luz/oscuridad. Aislados de Botryosphaeriaceae: <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (LT6-Mz) (A), <i>Diplodia seriata</i> (DS3-Mz) (B), <i>Neofusicoccum arbuti</i> (NA32-Mz) (C), <i>Diplodia mutila</i> (DM2-Mz) (D), <i>Diplodia seriata</i> (DS1-vid) (E), <i>Neofusicoccum parvum</i> (NP10-vid) (F), <i>Neofusicoccum parvum</i> (NP7-Ara) (G), <i>Neofusicoccum parvum</i> (NP9-Ara) (H), <i>Diplodia mutila</i> (DM4-Nog) (I) y <i>Neofusicoccum parvum</i> (NP17-Nogl) (J).	20
Figura 3.3. Inoculación de estacas cv. Fuji con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp, en condición de invernadero. Inoculación en la herida de poda (A). Aislados de Botryosphaeriaceae spp. (B).	21
Figura 3.4. Inoculación de ramillas cv. Fuji con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp. en condición de campo, en Estación Experimental Panguilemo, Región del Maule. Ramillas en receso (A). Inoculación de la herida de poda en ramillas de manzano (B).	22

Figura 4.1. Lesión necrótica en estaca de manzano cv. Fuji inoculada con el aislado *Neofusicoccum arbuti* (NA32-Mz), después de 4 meses de incubación en condición de invernadero. 24

Figura 4.2. Promedio de lesiones necróticas en estacas de manzano cv. Fuji inoculadas con Botryosphaeriaceae spp, después de 4 meses de incubación en condición de invernadero. 25

Figura 4.3. Lesión necrótica en ramilla de manzano cv. Fuji inoculada con el aislado *Neofusicoccum parvum* (NP17-Nog), después de 8 meses de incubación en condición de campo. 26

Figura 4.4. Promedio de lesiones necróticas en ramillas de manzano cv. Fuji inoculadas con Botryosphaeriaceae spp, después de 8 meses de incubación en condición de campo. 27

1. INTRODUCCIÓN

El manzano (*Malus x domestica* Borkh.), es uno de los primeros árboles cultivados por el hombre y sus frutos 'la manzana' son unos de los más consumidos en todo el mundo, por la gran cantidad de variedades existentes hacen que se encuentren al alcance del consumidor durante todo el año y con atributos cada vez más específicos en dulzor, acidez, crocancia entre otros, que permiten el consumo de fibras, antioxidantes, vitaminas entre otros aportes nutricionales (Gil, 2012).

Nuestro país tiene un importante rol, dado que es el cuarto exportador de manzanas, con un 12% a nivel mundial y es el principal del hemisferio sur con el 44% (Echeñique, 2017) siendo los cultivares Gala, Fuji y Cripps Pink los que representan un volumen significativo en las exportaciones de dicha especie.

Según cifras del Centro de Información de Recursos Naturales (Ciren), del Ministerio de Agricultura, en Chile existen alrededor de 36.816 ha destinadas a la producción de manzanas, cuya producción está altamente concentrada entre las regiones del Maule y O'Higgins, que reúnen el 87% de la superficie plantada a nivel nacional (Odepa, 2021).

Los árboles de manzano son afectados por diversos factores bióticos y abióticos que limitan su producción, almacenaje y distribución de los frutos (Latorre, 2018). En este sentido las micosis (enfermedades asociadas a hongos) son un factor importante que puede limitar la producción y conservación de los frutos. El manzano es susceptible a enfermedades destacando a los fitopatógenos *Venturia inaequalis* agente causal de la sarna del manzano, *Botrytis cinerea* agente causal de la pudrición calicinal de la manzana, y *Neofabraea vagabunda* (= *N. alba*) asociada a ojo de buey (Acuña, 2010; Latorre, 2004; Latorre, 2018).

Entre los fitopatógenos, las especies fungosas pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae son considerados en la actualidad unos de los más importantes causando problemas en especies urbanas, forestales y frutales. Las especies de Botryosphaeriaceae tienen una distribución mundial causando muerte regresiva, canchales, tizones de los brotes, manchas foliares, pudriciones de frutos y semillas y escobas de bruja en una amplia gama de plantas hospedantes de importancia agrícola, forestal, ecológica y económica. Además, algunas especies son saprófitas mientras que otras son endofíticas por lo cual sólo causarán enfermedad si su hospedero sufre situaciones de estrés (Alves et al., 2005). Internacionalmente, las especies de Botryosphaeriaceae como *Diplodia seriata*, *Diplodia mutila*, *Lasiodyplodia theobromae*, *Neofusicoccum parvum*, *Neofusicoccum australe*, *Dothiorella iberica* entre otras han sido descritas causando problemas en huertos y viñedos comerciales asociados a la muerte de ramillas, brazos y cargadores en California, E.E.U.U (Úrbez-

Torres et al., 2006; McDonald y Eskalen, 2011), España (Gramaje et al., 2012), Italia (Guarnaccia et al., 2016), Perú (Rodríguez-Gálvez et al., 2020), Uruguay (Sessa et al., 2016) y Sudáfrica (Slippers et al., 2013).

En Chile, las especies de Botryosphaeriaceae han sido descritas causando muerte regresiva de ramillas y brazos en arándanos (Espinoza et al., 2009), avellanos europeos (Guerrero y Perez, 2013), nogales (Díaz et al., 2018), manzanos (Díaz et al., 2019), kiwis (Díaz et al., 2021), uva de mesa (Morales et al., 2012), uva para vino (Díaz et al., 2013) y paltos (Valencia et al., 2019). Todos los trabajos mencionados han determinado las especies causantes incluyendo la identificación y patogenidad en cada hospedero donde fueron aislados previamente. La alta incidencia de la muerte regresiva en especies frutales descritas y que se cultivan en las proximidades en muchas ocasiones, la infección sobre otros hospederos puede ser posible, bajo estas circunstancias. Por lo tanto, se desconoce a nivel nacional, si las especies de Botryosphaeriaceae asociadas en arándanos, nogales y vides son capaces de infectar otro hospedero como el manzano.

A continuación, se plantea la hipótesis y objetivos del presente estudio:

1.1 Hipótesis

Las heridas de poda de ramillas de manzano son infectadas por Botryosphaeriaceae, desarrollando canchros necróticos en los tejidos, pero la extensión de la lesión varía en virtud de la especie de Botryosphaeriaceae inoculada, en donde los aislados del manzano serían más virulentos que el resto de las especies obtenidas desde otro hospedero frutal.

1.2 Objetivo general

Determinar la extensión de canchros en ramillas de manzano inoculadas con Botryosphaeriaceae colectadas desde manzanos, arándanos, vides y nogales con muerte regresiva.

1.3 Objetivos específicos

Determinar la lesión necrótica causada por especies de Botryosphaeriaceae inoculadas sobre heridas de poda en estacas de manzano cv. Fuji en condiciones de invernadero.

Determinar la lesión necrótica causada por especies de Botryosphaeriaceae inoculadas sobre heridas de poda de ramillas de manzano cv. Fuji en condiciones de campo.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Generalidades del manzano

El manzano (*Malus x domestica* Borkh.) pertenece a la familia Rosaceae y género *Malus*. Es una especie caducifolia, adaptada a climas templados fríos, su fruta es dulce y se consume principalmente fresca, de mayor difusión a escala mundial, debido principalmente a su facilidad de adaptación a diferentes climas y suelos, su potente valor alimenticio, nutritivo, terapéutico y a la diversidad de productos que se obtienen en la industria transformadora.

El manzano es un árbol de 1.8-4.6 metros de altura, tiende a mostrar una copa redondeada y ramas angulares. Sus hojas caducas son de forma elíptica u ovalada, con los bordes ligeramente dentados; son gruesas y ásperas al tacto. El haz tiene una coloración verde oscuro en tanto el envés, dotado con pelillos cortos, es de un tono verde grisáceo.

Sus flores, que crecen en grupos, exhiben 5 pétalos ovalados de color blanco y rosa y aspecto delicado que se desarrollan en grupos. En el centro de cada flor se localizan varios estambres y el estigma. La manzana es un fruto carnoso (pomo) y tanto la forma como el color y sabor de los frutos difieren en una amplia gama que depende de la variedad.

Suele florecer a finales de la primavera. Las abejas y otros insectos se encargan de polinizar las flores hermafroditas, aunque los agricultores prefieren que la polinización sea cruzada para desarrollar las frutas y obtener una mejor cosecha. Con la intención de facilitar esta forma de polinización, pueden situarse colmenas de abejas en los árboles. Según la variedad, el cultivo madura en diferentes épocas del año.

Los manzanos silvestres pueden crecer fácilmente a partir de semillas, pero los cultivados normalmente se propagan por injertos y comienzan a dar frutos entre los 2 y los 5 años. Para madurar, las manzanas requieren entre 100 y 200 días.

2.2 Generalidades de la producción de manzanas

2.2.1 Manzanas chilenas en el contexto internacional

Chile desde el último tercio del siglo XX, gracias a la creciente búsqueda y apertura de nuevos mercados, ha logrado posicionarse en diversos destinos y ha garantizado una mayor estabilidad de la actividad exportadora. Factor importante en esta dinámica es la diversidad climática, consecuencia de nuestra geografía y ubicación en el hemisferio, lo que permite producir y exportar más de 75 especies diferentes, entre las cuales destacan: uva de mesa, manzanas, kiwi, arándanos y paltas (Grau, 2015). De acuerdo a información de la Asociación de Exportadores de Frutas de Chile AG (ASOEX), en lo que va del desarrollo de la actual temporada 2020-2021, las exportaciones de frutas frescas a los diferentes mercados del mundo alcanzan 1.839.723 toneladas, cifra que es ligeramente mayor al mismo periodo de la temporada pasada (0,3%) y las principales frutas exportadas por el país, en términos de volúmenes son uvas de mesa con una participación en el total de las exportaciones de 28,7%, seguidas de las cerezas con el 19,2%, manzanas 17%, ciruelas 6,6%, arándanos 6,4%, peras 4,8%, nectarines 3,9%, paltas 3,9%, y mandarinas con el 3,4% del total de frutas exportados a la fecha.

De acuerdo al ranking otorgado por el analista del mercado internacional de la manzana, Edmund O'Rourke, califica y clasifica a Chile en los primeros lugares como líder mundial en la industria de la manzana (Cuadro 2.1).

Cuadro 2.1. Superficie y productividad de los principales países productores de manzanos y potenciales competidores, comparados con Chile.

País	Superficie (ha)	Productividad (Ton/Ha)
China	3.700.000	5,0
India	210.000	5,7
Estados Unidos	170.000	28,2 (5°)
Irán	150.000	13,0
Turquía	121.000	17,4
Uzbekistán	83.000	4,6
Georgia	76.000	1,8
Italia	70.000	28,6 (4°)

Francia	70.000	25,7 (6°)
Corea del Norte	68.000	9,6
Argentina	60.000	16,3
Azerbaiyán	60.000	4,1
España	50.000	17,5
Japón	46.600	20,1
Alemania	45.000	31,1 (3°)
Pakistán	45.000	13,3
Corea del Sur	40.000	16,3
Chile	39.095	25,7 (7°)
Australia	18.700	19,7
Sudáfrica	17.000	38,2 (2°)
Nueva Zelanda	11.740	41,7 (1°)

Fuente: Estadísticas frutales. Centro de Pomáceas, Universidad de Talca, 2011.

2.2.2 Principales países exportadores e importadores de manzanas

En 2020 China fue el principal exportador de manzana en el mundo con 1.058.094 toneladas (12,9%), seguido por Italia con 935.424 toneladas (11,4%) y Estados Unidos de América con 808.118 toneladas (9,9%), por lo que estas 3 naciones representaron el 34,2% de las exportaciones mundiales.

Cuadro 2.2. Países exportadores de manzana

País	Exportaciones (ton)	Participación (%)
China	1.058.094	12,9
Italia	935.424	11,4
EE. UU	808.118	9,9
Chile	659.920	8,0
Polonia	657.310	8,0
Sudáfrica	508.451	6,2
Francia	407.813	5,0

Nueva Zelandia	401.188	4,9
Irán	400.000	4,9
Países Bajos	236.396	2,9

Fuente: FAOSTAT, 2020

Cuadro 2.3. Principales variedades exportadas por Chile

Variedades	2012	2014	2016	2018	2019	2020	2021	2022
Galas	16.673	19.160	18.855	18.937	16.241	16.394	15.249	11.080
Cripps Pink	3614	4.317	4.443	6.302	5.869	5.600	6.834	4.075
Granny Smith	6.106	5.320	4.516	4.556	4.292	4.272	4.253	2.464
Rojas	7.459	7.134	6.330	5.451	3.968	2.902	2.696	1.368
Fuji	3.744	4.226	3.866	4.004	3.382	3.196	2.624	1.871
Otras	2.491	2.313	900	924	641	759	777	563
Ambrosia	0	138	211	276	366	356	388	376

Fuente: ASOEX, 2022

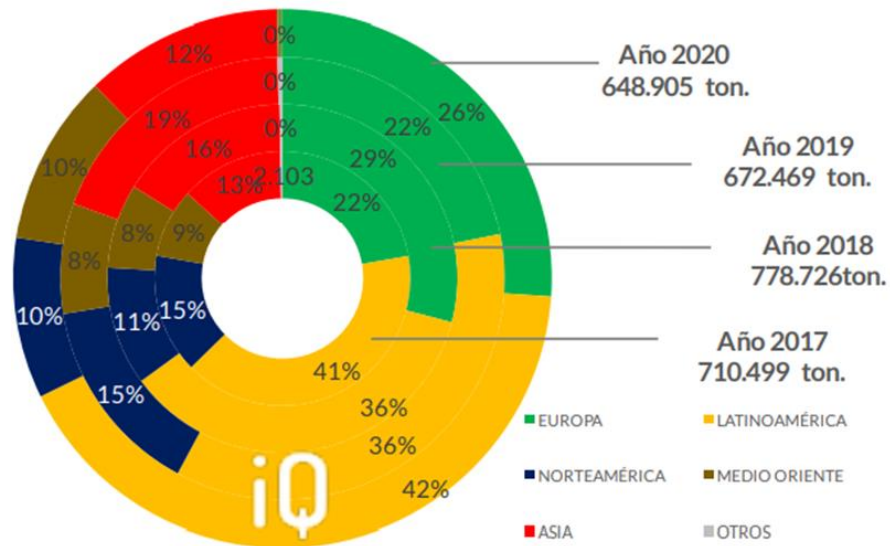


Figura 0.1. Exportación de manzanas (Ton) y su participación en los mercados de destino (%). (iQonsulting, 2021).

También en 2020 Federación de Rusia fue el principal importador de manzana en el mundo con 651.480 toneladas (8,5%), seguido por Alemania con 637.567 toneladas (8,3%) y Países Bajos con 282.294 toneladas (3,7%), por lo que estas 3 naciones representaron el 21,3% de las importaciones mundiales.

Cuadro 2.4. Países importadores de manzana

País	Importaciones (ton)	Participación (%)
Federación de Rusia	651.480	8,5
Alemania	637.567	8,3
Países Bajos	282.294	3,7
México	247.522	3,2
India	215.538	2,8
España	201.567	2,6
Canadá	198.304	2,6
Filipinas	198.163	2,6

Fuente: FAOSTAT, 2020

2.2.3 Competidores indirectos y directos de Chile en las exportaciones de manzanas

De los competidores indirectos que Chile enfrenta en el mercado mundial de las exportaciones de manzanas, los principales desarrollos y avances se observan en los países del hemisferio norte, en particular en países de Europa del Este y en el mayor productor mundial, China.

Entre los competidores directos de Chile en el mercado de contraestación, Brasil es el país que presenta un mayor grado de avance en el volumen de sus exportaciones, con un incremento de 154% entre los años 2001 y 2010, pero mostrando sus exportaciones una curva muy errática en el período, manteniéndose alrededor de 100.000 toneladas anuales. Sudáfrica registró un aumento de 28%, pero presentando una baja relevante en los últimos tres años. Los otros países del hemisferio sur involucrados en la producción de manzanas, como Nueva Zelanda y Argentina, han experimentado bajas en sus exportaciones. Por lo tanto, la ventaja de contraestación que presenta

la industria chilena de la manzana no se ve amagada, por ahora, por los otros competidores del hemisferio sur (Bravo, 2011).

2.3 Generalidades de la superficie de manzanas

En Chile, según Odepa (2021) se encuentran alrededor de 36.816 ha destinadas a la producción de manzanas, siendo las Regiones del Maule y O'Higgins las que reúnen un 87% de la superficie plantada a nivel nacional.

Sin embargo, la superficie de manzanos en Chile, que tuvo su máximo en 2013 con 37.545 hectáreas, ha estado declinando a partir de entonces en una tasa de 600 ha anuales. Este proceso podría explicarse por la baja rentabilidad de huertos plantados con clones tradicionales de Gala y Fuji; lo anterior acentuado por una menor calidad de la fruta debido a condiciones climáticas adversas; la limitada superficie destinada a nuevos cultivares club; y la plantación de cerezos en desmedro de manzanos, producto de la mayor rentabilidad de las cerezas de exportación (Sepúlveda et al., 2017). Es ampliamente aceptado que el nuevo escenario climático proyectado para las principales zonas manzaneras actuales, entre las regiones de O'Higgins y del Maule, se caracterizará por un aumento de la temperatura y disminución de las precipitaciones (AGRIMED, 2017).

La superficie nacional plantada con manzanos está dividida en variedades de manzanas verdes y rojas (**Cuadro 2.2**).

La superficie plantada con manzanos verdes representa alrededor de 20% de la superficie total de manzanos plantados en el país. Granny Smith es la variedad de manzanas verdes más plantada a nivel nacional, cubriendo cerca de 90% de la totalidad de la superficie de estas variedades (**Cuadro 2.3**).

Los manzanos rojos, por su parte, representan cerca de 80% de las plantaciones de manzanos totales del país y, según las últimas mediciones, registran a Royal Gala, Fuji, Red Chief y Scarlett como principales variedades (Bravo, 2011).

Cuadro 2.5. Superficie y distribución de plantaciones de manzanos variedades rojas y verdes (hectáreas) en la Región del Maule.

Variedad	Años (Superficie en hectáreas)		
	2013	2016	2019

Roja	18863,4	18705,9	16870,3
Verde	3624,6	3362,4	2766,7
TOTAL	22488	22068,3	19637

Fuente: Catastro frutícola Cirén-Odepa, 2019

Cuadro 2.6. Superficie por hectárea de las principales variedades rojas en la Región del Maule.

Variedad	Superficie (hectáreas)		
	2013	2016	2019
Royal Gala	4683,8	3321,9	2342,6
Brookfield Gala	-	1442,9	1896,7
Fuji	1528,5	-	-
Red chief	1526,9	1341,5	-
Fuji raku raku	1495,3	2286,7	1768,1
Scarlett	1356	-	1090,9
Pink lady	1091,3	-	1579,9
TOTAL	11681,8	8393	8678,2

Fuente: Catastro frutícola Cirén-Odepa, 2019

2.3.1 Generalidades del cultivar Fuji

La variedad Fuji fue obtenida en el National Fruit Research Station de Morioka, en Japón en el año 1939 por un cruzamiento entre “Ralls Janet” x “Red Delicious”. Presenta ramas vigorosas y un eje con escasa dominancia apical. Es una variedad con alto potencial productivo que puede llegar a 100 ton/Ha, pero presenta alternancia (Galdames y Mesa, 2013). Su fruto de color rojo con algunas tonalidades verdes es de buen tamaño y su sabor es bastante dulce, es una de las variedades más dulces con aproximadamente 11% de azúcares (Merlet, 2016).

2.4 Desarrollo de las enfermedades de manzanos en Chile

En fitopatología se habla de enfermedad para referirse a una serie de respuestas visibles e invisibles de las células o tejidos de una planta a un microorganismo patogénico o factores ambientales, lo que resulta en cambios adversos de la forma, función o integridad de la planta, pudiendo conducir a interrupción parcial o muerte de ésta o sus partes.

Según lo planteado por Arauz, (1998) y Agrios, (2005), las interacciones de los tres componentes de las enfermedades se han concebido como un triángulo que se conoce en general como el "triángulo de las enfermedades", donde cada lado del triángulo representa uno de los tres componentes: Hospedero susceptible, fitopatógeno virulento y condición medioambiental favorable (Figura 2.1).

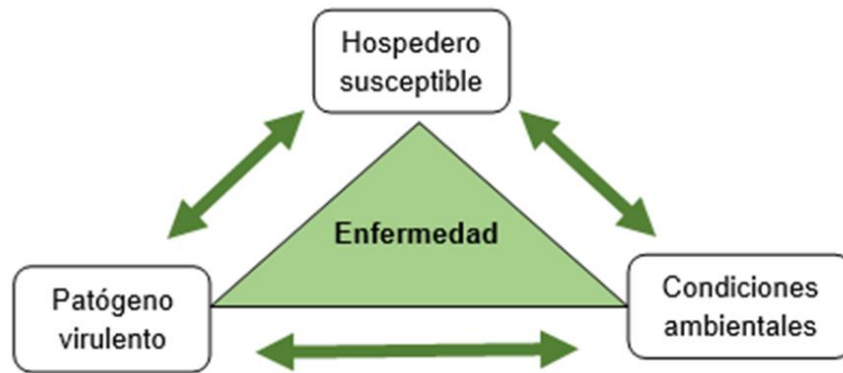


Figura 2.2. Triángulo de la enfermedad compuesto por hospedero susceptible, patógeno virulento y condiciones ambientales favorables para la infección. (Díaz y Lolas, 2016).

En el caso de los manzanos, la mayoría de las enfermedades son producidas por hongos, aunque en algunos casos están causadas por bacterias, por fitoplasmas o por microorganismos parasitarios (Latorre, 2018).

Las enfermedades pueden afectar a todas las partes del manzano incluyendo frutos, hojas, brotes, ramas, tronco y raíces. Las enfermedades consideradas de importancia en Chile son la sarna del manzano causado por *Venturia inaequalis*, cancro europeo del manzano asociado a *Neonectria ditissima*, y cancrrosis y muerte regresiva de la madera, asociada a *Botryosphaeria dothidea*, entre otras enfermedades (Acuña, 2010; Latorre, 2004; Latorre y Toledo, 1984).

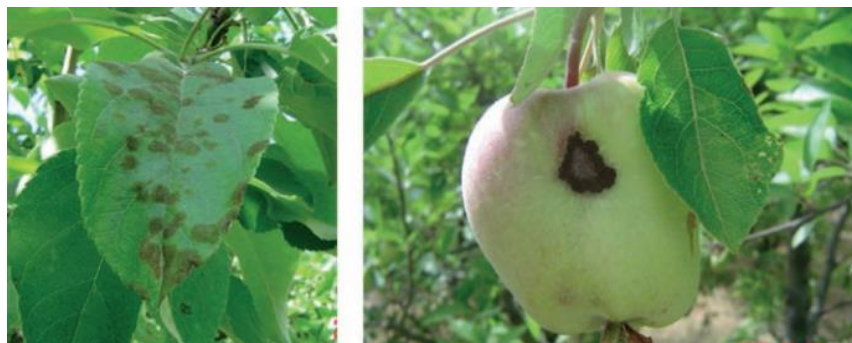


Figura 0.3. Lesiones sarnosas causadas por *Venturia inaequalis* en hojas y fruta.

En ocasiones, sobre todo en el caso de las enfermedades que afectan al sistema radical o al cuello del árbol, como es el caso de *Phytophthora cactorum* el proceso puede concluir con la muerte del manzano. Por otro lado, en Chile se reportó a *Phytophthora syringae* causando pudriciones de frutos de manzano durante postcosecha (Lolas et al., 2016). Otras enfermedades que causan pudriciones en frutos son *Botrytis cinerea* causando pudrición calicinal, *Penicillium expansum* causando moho azul en frutos y *Phlyctema vagabunda* (= *Neofabraea vagabunda* = *N. alba*) agente causal de ojo de buey, la cual causa importantes pérdidas en variedades tardías como Cripps Pink y Fuji durante almacenaje (Pinilla, 2013; Soto-Alvear et al., 2013).

En el desarrollo de una enfermedad infecciosa ocurre una serie de eventos o pasos sucesivos los cuales son conocidos o han sido denominados como el ciclo de la enfermedad. En algunas ocasiones, el ciclo de una enfermedad se encuentra estrechamente relacionado con el ciclo de vida del patógeno, pero cabe señalar que se refiere fundamentalmente a la aparición, desarrollo y prevalencia de una enfermedad y no al patógeno mismo (Arauz, 1998), el ciclo de una enfermedad incluye los cambios y síntomas que sufre una planta, así como los que se producen en el patógeno, y los períodos comprendidos en una estación de crecimiento o al cabo de estaciones de crecimiento consecutivas. Los eventos principales del ciclo de una enfermedad incluyen la inoculación, penetración, establecimiento de la infección, colonización (invasión), crecimiento, reproducción, dispersión y supervivencia del patógeno en ausencia de su hospedante (Agrios, 2005).

2.5 Familia Botryosphaeriaceae

Las especies de Botryosphaeriaceae abarca una familia morfológicamente diversa de hongos Ascomycota y que la constituyen al menos 23 géneros y 187 especies (Díaz y Latorre 2020). Estos hongos pueden actuar como patógenos saprófitos, endofíticos o latentes (Phillips et al. 2013). Miembros de esta familia son reconocidos como fitopatógenos agresivos en diferentes tipos de hospederos, desde cultivos agrícolas hasta hospederos ornamentales y forestales. Su amplia distribución; capacidad de persistir endofíticamente; capacidad de volverse patógeno solo cuando sus hospederos están bajo estrés, causando enfermedades que eventualmente pueden conducir a la muerte del hospedero; y la capacidad de adaptarse y colonizar nuevos hospederos (Slippers y Wingfield, 2007) convierte a estos organismos en un gran desafío para la patología vegetal.

2.5.1 Aspectos epidemiológicos de canchris y muerte regresiva de manzanos en Chile central

El ciclo de la enfermedad se inicia con la planta de manzano enferma en el huerto, las cuales tienen estructuras afectadas como ramillas y brazos (fuente de inóculo-planta enferma), que con

frecuencia están acompañadas de estructuras reproductivas de los hongos (picnidios), las que también se desarrollan en abundancia en los residuos de poda dejados en el suelo (importante potencial fuente de inóculo). Los frutos con pudrición negra dejados en el suelo o momificados en los árboles, son otra fuente de inóculo potencial en el huerto.

Con la lluvia los picnidios se hidratan y descargan las conidias principalmente durante otoño-invierno, y se diseminan con el salpicado de la lluvia y el viento, pudiendo llegar a las heridas de poda; es entonces cuando se puede iniciar una nueva infección, luego las heridas infectadas, principal vía de entrada para Botryosphaeriaceae, desarrollan canchros con los meses y años, pudiendo causar muerte de ramillas y brazos.

Los monitoreos de liberación de conidias, en las condiciones mediterráneas templadas de la región del Maule, indican que los peaks de liberación se producen principalmente durante junio y agosto, aunque se pueden extender durante seis meses. Las liberaciones están asociadas principalmente a eventos de lluvia.



Figura 0.4. Ciclo de la enfermedad canchros y muerte regresiva del manzano en Chile central.

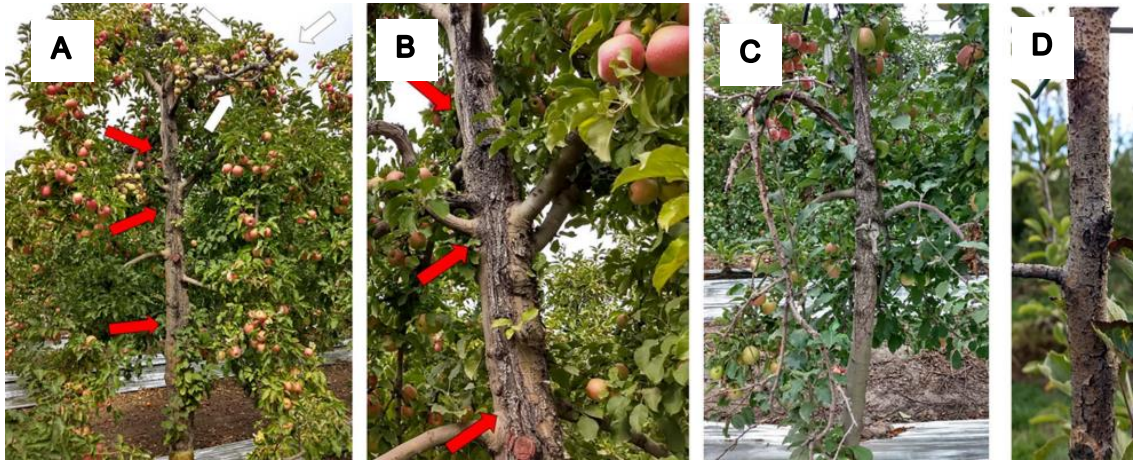


Figura 2.5. Síntomas de cancrrosis y muerte regresiva en manzanos, asociados a *Botryosphaeriaceae* spp. Manzano cv. Cripps Pink de 25 años con cancro alargado en el tronco (flecha roja) y muerte regresiva (flecha blanca) **(A)**. Cancro perenne severo en el tronco de un manzano de 25 años cv. Cripps Pink **(B)**. Cancro alargado en el tronco de árbol adulto de manzano con muerte regresiva de brazos **(C)**. Árbol joven (7 años) cv. Fuji mostrando cancro y muerte regresiva con presencia de picnidios **(D)**.

2.5.2 Enfermedades por *Botryosphaeriaceae* en manzanos

Uno de los agentes causales es el hongo *Botryosphaeria dothidea*. Los síntomas más característicos se presentan en ramas y ramillas de plantas jóvenes y adultas. La corteza afectada se desprende y se enrolla, adquiriendo una tonalidad anaranjada. Bajo la corteza aparece un cancro que provoca el anillado y muerte de las ramas. En la corteza afectada se forman los cuerpos frutales del hongo, los que la tornan áspera, de ahí el nombre común de la enfermedad “cancro áspero”. Este hongo puede afectar también los frutos, tanto en el huerto como en postcosecha.



Figura 0.6. Síntomas de Cancro Áspero a nivel de huerto con ramas afectadas.

En la primavera se inicia la liberación de ascosporas y conidias, dependiendo del estado sexual del hongo presente en los árboles, las cuales van a infectar los frutos en desarrollo desde la cuaja hasta la cosecha. Ambos tipos de esporas son diseminados por las lluvias y dispersadas por el viento. La infección ocurre por la penetración directa en frutos mojados, con temperaturas entre 28 y 30°. El síntoma típico de Pudrición Blanca en los frutos es la decoloración de la epidermis, resaltando el color oscuro de las lenticelas. La pulpa de los frutos afectados permanece firme al tacto; sin embargo, la pudrición puede extenderse a la totalidad del fruto (Pinilla, 2013).

El control de estas especies se basa en la remoción y eliminación de todo el material infectado ya sea de ramas, brotes o ramillas enfermas o muertas para evitar el avance de los canchros a tejidos sanos del árbol (Álvarez et al., 2004), como también se deben proteger las heridas de poda con pastas protectoras a base de fungicidas.

Además, las especies *Diplodia mutila* (estado asexual de *Botryosphaeria stevensii*) y *Diplodia seriata* (estado asexual de *Botryosphaeria obtusa*) han sido descritos como hongos patógenos de plantas causantes de la podredumbre de la manzana durante la precosecha y/o la postcosecha (Díaz et al., 2019).

Las enfermedades asociadas con las especies de *Botryosphaeria* suelen aparecer en los frutos maduros, 2-4 semanas antes de la cosecha, aunque la infección puede haber desarrollado antes (Kohn y Hendrix 1982; Arauz y Sutton 1990). Recientemente, se han producido importantes brotes de podredumbre negra causada por *D. seriata* en la Región del Maule, Chile (Cáceres et al. 2016). Dicha región se caracteriza por un clima templado cálido, donde las condiciones meteorológicas más cálidas y secas se dan en verano (máximo 29 °C) y los días más frescos (mínimo 3,5 °C) y húmedos se dan en invierno. La precipitación media anual varía entre 720 mm a 1137 mm, concentradas en los meses de invierno. Sin embargo, en la última década, las precipitaciones son frecuentes en la época de la cosecha, especialmente para los cultivares de cosecha tardía, como Fuji y Cripps Pink, que se cosechan entre marzo y mayo. Estas condiciones de lluvia favorecen las infecciones fúngicas, aumentando el riesgo de pudrición de la manzana causada por *Botryosphaeriaceae* y otras especies fúngicas (Díaz et al., 2019).

2.5.3 Enfermedades por *Botryosphaeriaceae* en kiwis

En Chile los agentes causales de muerte regresiva en kiwis son predominantemente las familias *Diaporthaceae* y *Botryosphaeriaceae*. Identificados en base a su morfología y estudio moleculares corresponden en orden de importancia a las especies *Diaporthe ambigua* y *D. australafricana*

pertenecientes a la familia Diaporthaceae, seguidos por especies *Diplodia seriata* y *Neofusicoccum parvum* pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae (Díaz et al., 2021).

Los síntomas externos asociados a la muerte regresiva incluyen una declinación general de las plantas de kiwi, presentando entrenudos cortos, hojas pequeñas y cloróticas, caída prematura de frutos, y muerte de cargadores y brazos desde los extremos (ápices), que conlleva en reiteradas oportunidades con la muerte de la planta en pocos años. Los síntomas comúnmente observados en cortes transversales de cargadores y brazos (plantas de 8 a 30 años de edad), son una necrosis de la madera de color pardo a pardo oscuro de forma irregular y en V de la madera, incluyendo necrosis central de la madera. En casos muy avanzados de la enfermedad y en plantas mayores a 30 años, se observa adicionalmente una pudrición blanda de la madera de las plantas atacadas por hongos. Basados en los síntomas externos, la enfermedad se presenta en una prevalencia entre un 5 y 85% en huertos de kiwis localizados en la zona central, entre las regiones de Valparaíso y del Maule (Díaz et al., 2021). Esto nos indica, que es una enfermedad de importancia a nivel nacional para las plantaciones de kiwi.

Epidemiológicamente, la infección a nivel de huerto se inicia principalmente desde las heridas de poda, las cuales son realizadas en brazos y cargadores de kiwi durante el invierno. Las principales fuentes de inóculo son los residuos lignificados enfermos que se dejan sobre el suelo de los huertos y los brazos enfermos en las mismas plantas. En este material se desarrollan estructuras reproductivas como los picnidios (conidias) y peritecios (ascosporas), los cuales se estimulan en condiciones de agua libre (principalmente precipitaciones mayores a 5 mm) y con temperaturas medias entre 8 y 15°C, para liberar las esporas, por lo tanto, dicha dispersión se produce por el salpicado de las lluvias y viento. Cabe mencionar que un manejo importante para reducir el potencial de inóculo es la eliminación o incorporación en profundidad de los residuos de poda como la remoción de estructuras lignificadas con muerte regresiva.

2.5.4 Enfermedades por Botryosphaeriaceae en nogales

Los agentes causales de muerte regresiva de ramillas y brazos en nogales son los hongos saprófitos que pertenecen a la familia Botryosphaeriaceae. En diversos trabajos realizados en Irán, España, Corea del Sur, República Checa y California (EE. UU), se han identificado a varias especies incluyendo a *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia mutila*, *Diplodia seriata*, *Dothiorella viticola*, *Dothiorella sarmentorum*, *Dothiorella iberica*, *Dothiorella omnivora*, *Neofusicoccum parvum*, *Neofusicoccum mediterraneum*, *Neofusicoccum nonquaesitum*, *Neofusicoccum vitifusiforme* (Trouillas et al., 2010; Cheon et al., 2013; Chen et al., 2014; Moral et al., 2019; López-Moral et al.,

2020; Sohrabi et al., 2020). Recientemente, en Chile se describió a la especie *D. mutila* siendo la más relevante causando muerte de brazos en nogales en la Región del Maule (Díaz et al., 2018).

Esta enfermedad se desarrolla por hongos que se alimentan de materia orgánica y otros restos en descomposición, ingresan a las plantas a través de aberturas naturales como lenticelas y estomas o a través de heridas de poda a nivel de huerto (Acuña, 2010; Latorre, 2018), heridas por desprendimiento de hoja o fruto o daños causados por insectos plaga, causando importantes daños, reduciendo el nivel de producción y longevidad del huerto. La infección ocurre por esporas (conidias) las que son dispersadas por el salpicado de las lluvias, viento e insectos, para iniciar la infección en invierno desde las heridas de poda de ramillas y brazos.

La sintomatología de la enfermedad está representada por muerte de yemas, ramas, ramillas y brazos con un avance regresivo desde el ápice hacia la base de la estructura por lo cual al realizar un corte transversal en ramillas y brazos enfermos se puede observar una necrosis de la madera. Chen et al. (2014) demostraron que no solo afecta estructuras de madera, sino que también es posible dañar hojas y frutos, presentando los síntomas de tizón y marchitamiento.

2.5.5 Enfermedades por Botryosphaeriaceae en vid

Varias especies de Botryosphaeriaceae han sido identificadas como causantes de canchros y muerte regresiva de *Vitis vinifera* en varias regiones vitivinícolas del mundo.

Dentro de los agentes causales se encuentran *Botryosphaeria australis*, *B. dothidea*, *B. lutea*, *B. obtusa*, *B. parva*, *B. rhodina* y *B. stevensii*. Además de *Diplodia seriata*, *D. mutila*, *Neofusicoccum parvum* y *Spencermartinsia viticola* (Díaz et al., 2013; Taylor et al., 2005), siendo principalmente *Diplodia seriata* una de las especies más encontradas en Chile, asociándose a la enfermedad de brazo muerto o también llamado Botryosphaeria dieback (Díaz et al., 2013).

Los síntomas de Botryosphaeria spp. se caracterizan por la presencia de brotes débiles y decaimiento generalizado de las vides. Internamente, se observan canchros de color café en forma de "U" o de "V" de color café oscuro, puntos negros en secciones transversales y estrías necróticas vasculares en las secciones longitudinales de brazos y troncos (Morales et al., 2012; Taylor et al., 2005).

2.5.6 Enfermedades por Botryosphaeriaceae en arándanos

En Chile, existen estudios de cancrrosis y muerte regresiva en arándano, asociados a diferentes géneros fúngicos en regiones de la zona centro como la región metropolitana, la región del Libertador General Bernardo O'Higgins y la región del Maule, y en la zona sur como la región de La Araucanía y región de Los Lagos (Espinoza et al., 2008; Espinoza et al., 2009, Pérez et al., 2014). En la zona sur, las condiciones climáticas favorecen el desarrollo de enfermedades fungosas en flores, frutos y madera y respecto a éstas últimas se han reportado diversos hongos que pueden ser encontrados de forma asociada o individual en una misma planta induciendo daños, entre los cuales se destacan *Botryosphaeria corticis*, *B. dothidea*, *Neofusicoccum arbuti*, *N. australe* y *N. parvum*, causando cancrrosis en ramillas y muerte regresiva (Espinoza et al., 2008; Espinoza et al., 2009; Pérez et al., 2014).

La sintomatología asociada con estos fitopatógenos es muy variada, con síntomas comunes, predominando decoloración de hojas, marchitez, defoliación, muerte unilateral de tallos, necrosis regresiva, cancros en brotes, cancros basales en tallos y en casos más críticos con compromiso de la corona, decoloración de haces vasculares, disminución de brotación basal y muerte de la planta (Pérez et al., 2014).

2.5.7 Infecciones cruzadas de Botryosphaeriaceae

Como se mencionó anteriormente, las especies de Botryosphaeriaceae son responsables de las enfermedades de la madera en distintas especies frutales y en Chile se han descrito varias especies de Botryosphaeriaceae asociadas a muerte regresiva de brazos.

En este sentido, los frutales mencionados pueden ser fuentes de inóculo cuando están cercanos a plantaciones de manzanos. Es por eso que el hecho de que los aislamientos de hongos obtenidos de un hospedero puedan causar síntomas de enfermedad también en algunos hospederos alternativos sugiere que las infecciones cruzadas son posibles entre manzanos, nogales, vides y arándanos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del ensayo

Este estudio se llevó a cabo bajo condiciones de invernadero y campo. El trabajo de invernadero se realizó en el laboratorio de Patología Frutal, adjunto a la Facultad de Ciencias Agrarias, ubicado en el Campus Lircay de la Universidad de Talca, Avenida Lircay s/n, Talca, Chile, coordenadas Lat (S) 35° 24', Long (W) 71° 37'. El trabajo de campo se llevó a cabo en la Estación experimental Panguilemo (35°21'59"S 71°36'18"W) de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Talca, Talca, Región del Maule, Chile (**Figura 3.1**).

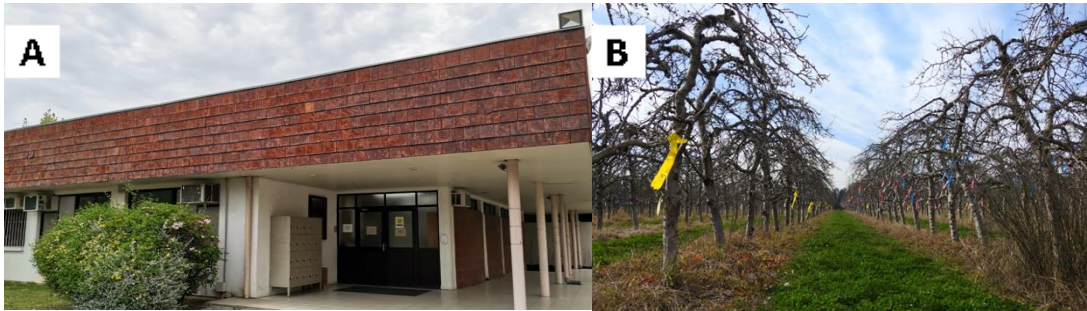


Figura 3.1. Laboratorio Patología Frutal, Universidad de Talca (A) y Zona del estudio de campo, Estación experimental Panguilemo (B).

3.2 Aislados fungosos en estudio

Se utilizaron diez cultivos puros de aislados fungosos pertenecientes a las especies *D. mutila*, *D. seriata*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum arbuti* y *N. parvum* los cuales fueron previamente aislados e identificados morfológica y molecularmente, en estudios realizados en el laboratorio de Patología Frutal en manzanas, arándanos, vides y nueces con síntomas de muerte regresiva obtenidos desde diferentes zonas de la Región del Maule, Chile (**Cuadro 3.1**). Los aislados fungosos se activaron tomando trozos desde cultivos de cada aislado de 15 días de edad mantenidos a 5°C, los cuales se sembraron en placas Petri de 88 mm de diámetro con medio de cultivo agar papa dextrosa (APD, 2%). Los cultivos puros de cada aislado se mantuvieron activos en condiciones de incubado a 20°C con régimen de 12h/12h luz/oscuridad y se realizaron repiques desde puntas de hifas de los aislados fungosos incubados cada 7 días para disponer de cultivos activos para los diferentes estudios (**Figura 3.2**).

Cuadro 3.1. Aislados fúngicos obtenidos desde frutales con muerte regresiva en la Región del Maule. Elaboración propia.

Tratamiento	Especie	Hospedero	Origen de muestra
1	<i>Lasiodiplodia theobromae</i> (LT6-Mz)	Manzano	Los Niches
2	<i>Diplodia seriata</i> (DS3-Mz)	Manzano	Molina
3	<i>Neofusicoccum arbuti</i> (NA32-Mz)	Manzano	Parral
4	<i>Diplodia mutila</i> (DM2-Mz)	Manzano	Talca
5	<i>Diplodia seriata</i> (DS1-Vid)	Vid	San Clemente
6	<i>Neofusicoccum parvum</i> (NP10-Vid)	Vid	Curicó
7	<i>Neofusicoccum parvum</i> (NP7-Ara-1)	Arándano	Longaví
8	<i>Neofusicoccum parvum</i> (NP9-Ara-2)	arándano	Linares
9	<i>Diplodia mutila</i> (DM4-Nog)	Nogal	Parral
10	<i>Neofusicoccum parvum</i> (NP17-Nog)	Nogal	San Rafael

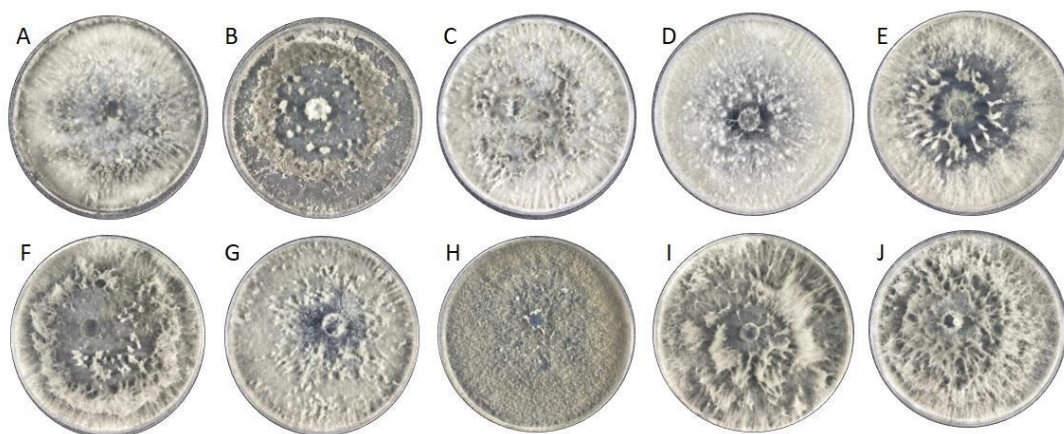


Figura 3.2. Colonias de los diferentes aislados fúngicos que crecen en PDA (2%) en condiciones de incubado a 20°C con régimen de 12h/12h luz/oscuridad. Aislados de Botryosphaeriaceae: *Lasiodiplodia theobromae* (LT6-Mz) (A), *Diplodia seriata* (DS3-Mz) (B), *Neofusicoccum arbuti* (NA32-Mz) (C), *Diplodia mutila* (DM2-Mz) (D), *Diplodia seriata* (DS1-vid) (E), *Neofusicoccum parvum* (NP10-vid) (F), *Neofusicoccum parvum* (NP7-Ara) (G), *Neofusicoccum parvum* (NP9-Ara) (H), *Diplodia mutila* (DM4-Nog) (I) y *Neofusicoccum parvum* (NP17-Nog) (J).

3.3 Inoculación de estacas de manzano en condición de invernadero

En la inoculación de estacas en invernadero se utilizaron los 10 aislados de Botryosphaeriaceae spp. (*Lasiodiplodia theobromae*, *Diplodia seriata*, *D. mutila*, *Neofusicoccum arbuti* y *N. parvum*). (Figura 3.1). Para este ensayo se seleccionaron ramillas lignificadas dormantes de manzano cv. Fuji, las cuales se encontraban libre de plagas y enfermedades. Estas ramillas se podaron manualmente con el uso de tijera Felco 5 (Flisch group, Suiza), desde su zona basal (n=520) de aproximadamente 50 cm de longitud. Este material se transportó al laboratorio para su implementación, después de 24 horas, las ramillas en receso se podaron en bisel en su zona distal y se colocaron en forma vertical al interior de cajas plásticas de 90x60x30 cm aproximadamente, que internamente tenían un contenido de 5 litros de perlita. Las ramillas fueron sumergidas unos 3 cm en un enraizante (Anasac, Chile). Una vez ordenadas las ramillas en las cajas, estas se mantuvieron a una temperatura constante de 18-22°C con régimen de luz (12h/12h) y con una humedad de 85%. Cada 15 días fueron regadas con 1 litro de agua. Inmediatamente después, cada herida de poda se inoculó con 40 µL de suspensión de fragmentos de micelio (10^6 fragmentos/mL) de cada aislado y al tratamiento testigo se les colocó 40 µL de agua destilada estéril. Después de 4 meses de incubación, se procedió a observar síntomas externos e internos y a medir la lesión necrótica (mm) desde la zona de inoculación (herida de poda) hacia la base de las ramillas utilizando un calibrador digital Vernier serie 500 Absolute digimatic, (Mitutoyo America Corporation, EE. UU). Finalmente, se realizó un re-aislamiento de cada ramilla en medio APD para confirmar los postulados de Koch (Díaz & Latorre, 2014).

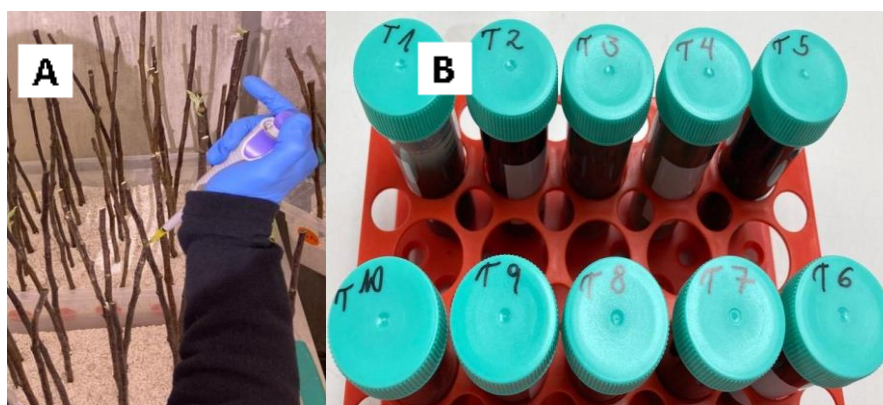


Figura 3.3. Inoculación de estacas cv. Fuji con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp, en condición de invernadero. Inoculación en la herida de poda (A). Aislados de Botryosphaeriaceae spp. (B).

3.4 Inoculación de ramillas de manzano en condición de campo

En condición de campo ubicado en el centro experimental Panguilemo de la Universidad de Talca, se seleccionaron ramillas lignificadas y sanas (30 cm de largo, 1 año) de plantas adultas de manzanos cv. Fuji. Se podaron con ángulo de 45° con tijeras manuales Felco 5 (Flisch group, Suiza), se inocularon con 40 µL de suspensión de fragmentos de micelio (10^6 fragmentos/mL) de cada aislado y al tratamiento testigo se les colocó 40 µL de agua destilada estéril sobre la herida de poda. Después de 8 meses de incubación, se procedió a observar síntomas externos e internos y a medir la lesión necrótica (mm) desde la zona de inoculación (herida de poda) hacia la base de las ramillas utilizando un calibrador digital Vernier serie 500 Absolute digimatic (Mitutoyo America Corporation, EE. UU). Finalmente, se realizó un re-aislamiento de cada ramilla en medio APD para confirmar los postulados de Koch (Díaz & Latorre, 2014).

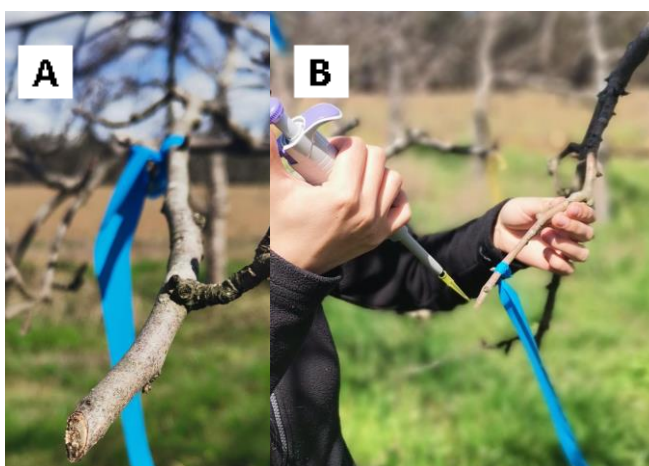


Figura 3.4. Inoculación de ramillas cv. Fuji con suspensión de fragmentos de micelio (10^6 fragmentos/mL) de *Botryosphaeriaceae* spp. en condición de campo, en Estación Experimental Panguilemo, Región del Maule. Ramillas en receso (A). Inoculación de la herida de poda en ramillas de manzano (B).

3.5 Diseño experimental y análisis estadístico en condiciones de invernadero y campo

En condición de invernadero se utilizó un diseño completamente al azar (DCA). La unidad experimental correspondió a cinco ramillas, empleando cuatro repeticiones. Los promedios de las lesiones necróticas de los diez aislados de Botryosphaeriaceae y el testigo fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA; $P < 0.05$) y en caso de ser significativa la diferencia entre los promedios, se realizó una prueba de rango Múltiple de Tukey. Se utilizó el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics Technologies, Inc. Virginia, E.E.U.U).

En condición de campo se utilizó un diseño de bloques al azar (DBA). La unidad experimental correspondió a ocho ramillas por plantas, empleando cuatro repeticiones. Los promedios de las lesiones necróticas de los diez aislados y el testigo fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA; $P < 0.05$) y en caso de ser significativa la diferencia entre los promedios, se realizó una prueba de rango Múltiple de Tukey (HSD). Se utilizó el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics Technologies, Inc. Virginia, E.E.U.U).

4. RESULTADOS

4.1 Lesiones necróticas en estacas inoculadas en condición de invernadero

Las estacas de manzano cv. Fuji después de 4 meses de incubación en condición de invernadero, brotaron y formaron sistema radical. Al ser inoculadas con los 10 aislados de Botryosphaeriaceae spp. desarrollaron lesiones necróticas visibles de color pardo oscuro, desde la zona infectada hacia la base de las estacas, desde 22,5 a 156,4 mm. (Figura 4.1 y 4.2).



Figura 4.1. Lesión necrótica en estaca de manzano cv. Fuji inoculada con el aislado *Neofusicoccum arbuti* (NA32-Mz), después de 4 meses de incubación en condición de invernadero.

De acuerdo a los resultados obtenidos los promedios de las lesiones en las estacas de manzano según los aislados fue el siguiente: en *N. arbuti* (Na32-Mz) 156,4 mm, *N. parvum* (NP17-Nog) 130,4 mm, *D. mutila* (DM4-Nog) 117 mm, *N. parvum* (NP7-Ara) 60 mm, *N. parvum* (NP10-vid) 42,6 mm, *N. parvum* (NP9-Ara) 38 mm, *D. seriata* (DS3-Mz) 32,5 mm, *D. mutila* (DM2-Mz) 28 mm, *D. seriata* (DS1-vid) 23,1 mm y *L. theobromae* (LT6-Mz) con un promedio de 22.5 mm.

Basados en análisis estadístico, se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los promedios ($P=0,0001$) de largo de lesión (**Cuadro 4.1**), donde las especies de Botryosphaeriaceae como *N. arbuti* (Na32-Mz) proveniente de manzano, *N. parvum* (NP17-Nog) y *D. mutila* (DM4-Nog) proveniente de nogal, fueron los más significativamente agresivos que el resto de los aislados,

incluyendo al testigo (**Figura 4.2**). Las estacas inoculadas con tratamiento testigo (agua) presentaron lesiones pequeñas y fueron distintos estadísticamente a las lesiones causadas por todas las especies de Botryosphaeriaceae.

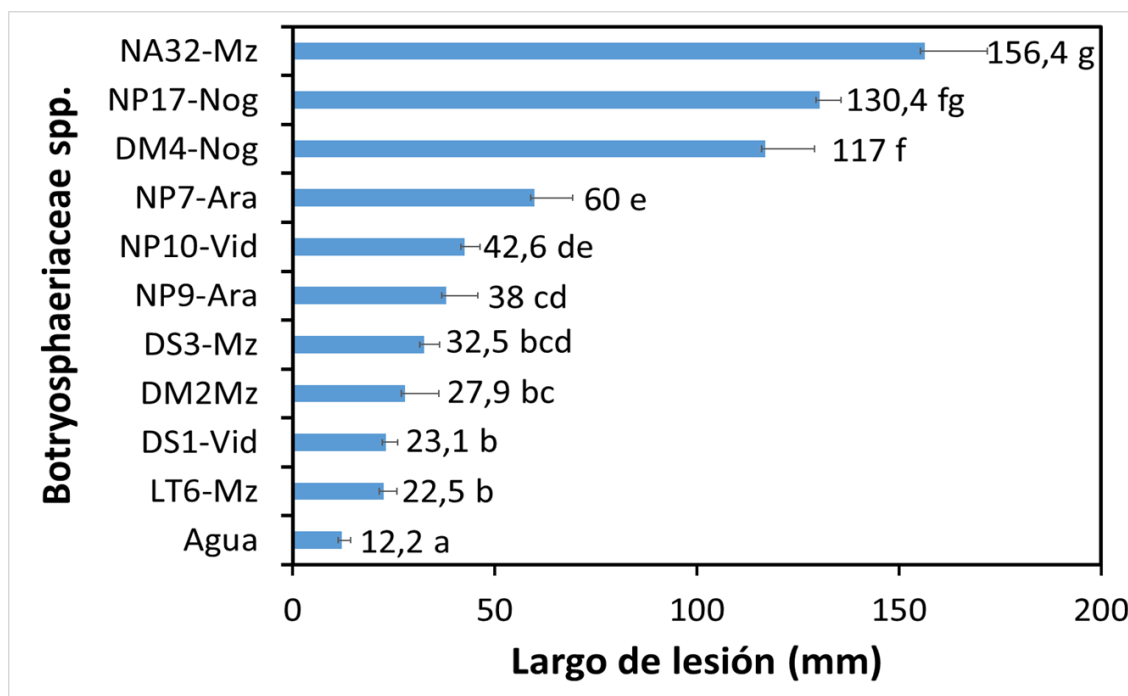


Figura 4.2. Promedio de lesiones necróticas en estacas de manzano cv. Fuji inoculadas con Botryosphaeriaceae spp, después de 4 meses de incubación en condición de invernadero.

Cuadro 4.1. Análisis de varianza para SQRT(Largo de lesión (mm)) por Botryosphaeriaceae spp.

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	369,598	10	36,9598	150,87	0,0001
Intra grupos	8,08445	33	0,244983		
Total (Corr.)	377,682	43			

Finalmente, los diferentes aislados fueron exitosamente re-aislados desde las lesiones de ramillas, sembradas en medio de cultivo APD. Esto confirmó la presencia e identificación de cada especie y aislado, cumpliéndose de esta manera las pruebas de patogenicidad, donde los aislados inoculados fueron los mismos que causaron las lesiones. Para el caso de tratamiento con agua (testigo), los reaislamientos fueron negativos a hongos.

4.1 Lesiones necróticas en ramillas inoculadas en condición de campo

En las ramillas lignificadas de manzano cv. Fuji inoculadas con las especies de Botryosphaeriaceae después de 8 meses de incubación en condición de campo, se observaron lesiones necróticas visibles de color pardo oscuro, desarrollando lesiones desde 26,2 a 70,7 mm (**Figura 4.3 y 4.4**).

De acuerdo a los resultados obtenidos los promedios de las lesiones en las ramillas de manzano según los aislados fue el siguiente orden decreciente: *N. arbuti* (NA32-Mz) 70,7 mm, *N. parvum* (NP17-Nog) 69,3 mm y *D. mutila* (DM4-Nog) 66,8 mm. Seguido por los aislados *D. seriata* (DS3-Mz) con un promedio de 38 mm, *N. parvum* (NP9-Ara) con 36.1 mm, *N. parvum* (NP10-vid) con 35 mm, *N. parvum* (NP7-Ara) con 33.7 mm, *D. mutila* (DM2-Mz) con 31.5 mm y *D. seriata* (DS1-vid) con 26.5 mm y finalmente *L. theobromae* (LT6-Mz) con un promedio de 26,2 mm (**Figura 4.4**).



Figura 4.3. Lesión necrótica en ramilla de manzano cv. Fuji inoculada con el aislado *Neofusicoccum parvum* (NP17-Nog), después de 8 meses de incubación en condición de campo.

Basados en análisis estadístico, se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los promedios ($P=0,0001$) de largo de lesión (**Cuadro 4.2**), donde las especies de Botryosphaeriaceae como *N. arbuti* (Na32-Mz) proveniente de manzano, *N. parvum* (NP17-Nog) y *D. mutila* (DM4-Nog) proveniente de nogal, fueron los más agresivos y diferentes estadísticamente del resto de los aislados, incluyendo al testigo (**Figura 4.4**). Las estacas inoculadas con tratamiento testigo (agua) presentaron lesiones pequeñas y fueron distintos estadísticamente a las lesiones causadas por las distintas especies de Botryosphaeriaceae.

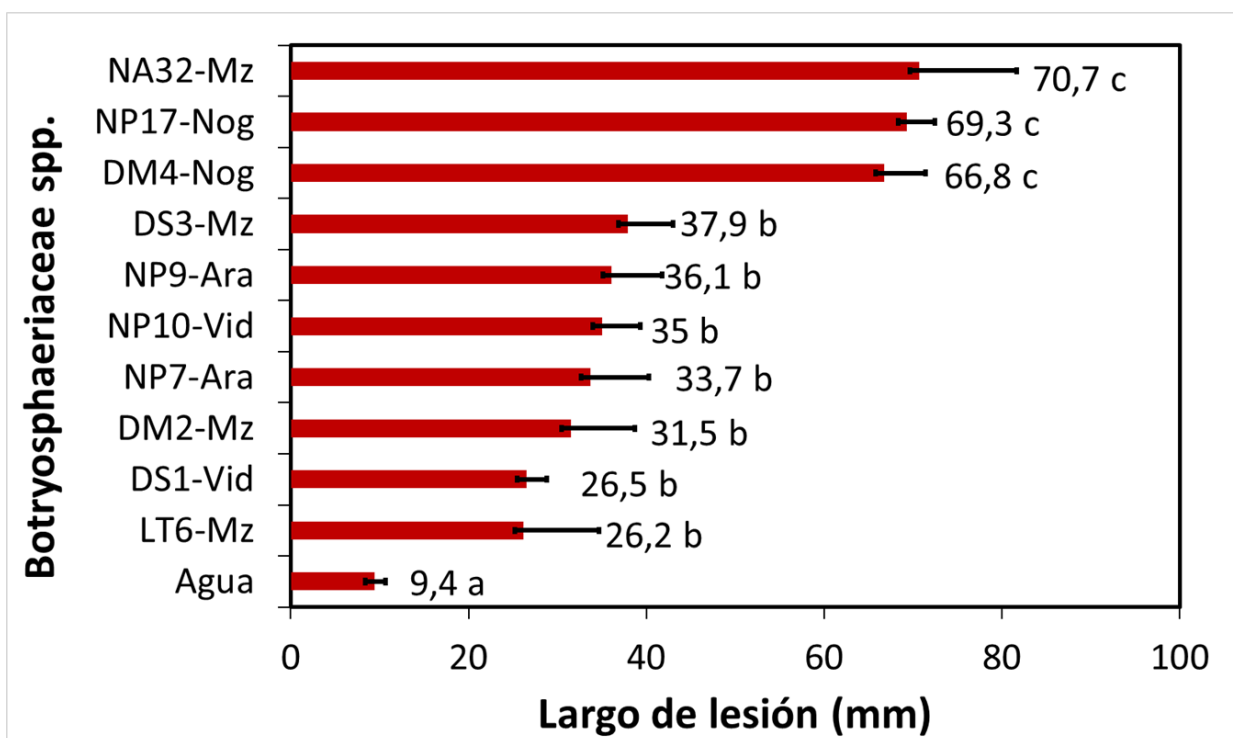


Figura 4.4. Promedio de lesiones necróticas en ramillas de manzano cv. Fuji inoculadas con Botryosphaeriaceae spp, después de 8 meses de incubación en condición de campo.

Cuadro 4.2. Análisis de Varianza para largo de lesión (mm) por Botryosphaeriaceae spp.

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Tratamiento	15957,2	10	1595,72	42,09	0,0001
B: Bloque	77,5245	3	25,8415	0,68	0,5702
Residuos	1137,3	30	37,91		
Total (corregido)	17172,1	43			

Finalmente, los aislados fueron re-aislados desde las lesiones de ramillas, sembradas en medio de cultivo APD. Esto confirmó la presencia e identificación de cada especie y aislado, cumpliéndose exitosamente que las pruebas de patogenicidad fueron causados por las mismas especies que se inocularon. Las especies fueron identificadas en base al crecimiento de la colonia y la observación de las conidias. En el caso del testigo, los re-aislamiento fueron negativos.

5. DISCUSIÓN

Basado en los resultados obtenidos en el presente estudio sobre la susceptibilidad de ramillas dormantes de manzano cv. Fuji a la infección por diferentes especies de Botryosphaeriaceae obtenidas desde manzanos, arándanos, vides y nogales con muerte regresiva indican que los aislados de *Neofusicoccum arbuti* (NA32-Mz) provenientes de ramillas de manzano cv. Fuji, *Neofusicoccum parvum* (NP17-Nog) y *Diplodia mutila* (DM4-Nog) provenientes de ramillas lignificadas de nogal cv. Chandler, fueron los más virulentos en cuanto a la extensión de la lesión necrótica y síntomas de muerte regresiva en ramillas de manzano, tanto en condición de invernadero y campo.

Diversos trabajos a nivel mundial han reportado a especies de la familia Botryosphaeriaceae causando canchros y muerte regresiva de brazos en manzano. El presente estudio concuerda con estudios previos realizados donde al inocular ramillas con especies de Botryosphaeriaceae y posterior incubación, se induce la formación de canchros necróticos en los tejidos, y muerte regresiva de brotes (Abdollahzadeh, 2015; Delgado-Cerrone et al., 2016; Latorre y Toledo, 1984; Rooney-Latham y Soriano, 2016; Sessa et al., 2016; Úrbez-Torres et al., 2016). Es más, los resultados del presente trabajo confirman lo obtenido previamente por Delgado-Cerrone et al. (2016) y Sessa et al. (2017) desde Uruguay, quienes determinaron a las especies de *Neofusicoccum* como las más agresivas de las Botryosphaeriaceae en huertos de manzanos. De igual manera, en el presente trabajo se describe a *N. arbuti*, como la especie de mayor virulencia con respecto a las otras, lo que está en concordancia lo publicado recientemente por Díaz et al. (2022), donde se caracterizaron Botryosphaeriaceae spp. causando muerte regresiva en manzanos en Chile, y determinaron a las especies *N. arbuti* como las más agresiva en ramillas de 1, 2 años y estacas de manzanos en diferentes cultivares de manzanos.

En Uruguay, se describieron a las especies *N. parvum* y *N. australe* siendo agresivas, pero a *Lasiodiplodia theobromae* en muy baja frecuencia (Delgado-Cerrone et al., 2016; Sessa et al., 2017), siendo similar al actual estudio donde *L. theobromae* presentó menor virulencia en ramillas de manzano. Sin embargo, según estudios por Díaz et al., (2022), obtuvieron que la especie *L. theobromae* era la más agresiva provocando pudriciones de 8 cultivares de manzana. Sin embargo, esta especie no ha sido descrita previamente como causante de pudriciones por manzanas (Díaz et al., 2019). Por lo tanto, *L. theobromae* podría ser una gran amenaza en frutos de manzana en Chile.

En Chile, en los últimos años, el número de manzanos afectados por canchros y muerte regresiva causada por Botryosphaeriaceae spp. ha aumentado considerablemente en la zona central de Chile,

con prevalencias entre (Díaz et al., 2022). En diferentes hospederos frutales también se han reportado que estas especies de Botryosphaeriaceae son responsables de muerte regresiva incluyendo kiwis (Díaz et al., 2021), nogales (Díaz et al., 2018), vides (Díaz et al., 2013), arándanos (Espinoza et al., 2009; Pérez et al., 2014), paltos (Valencia et al., 2019), limoneros (Guajardo et al., 2018) y avellano europeo (Pávez., 2021). Estas plantaciones al encontrarse cercanos a huertos de manzanos pueden ser posibles fuentes de inóculo cuando presentan una alta e importante prevalencia de muerte regresiva de brazos, siendo esta situación muy recurrente en la Región del Maule. Además, residuos lignificados enfermos ya sea frutos infectados o momificados, restos de poda que caen y se mantienen en el suelo del huerto o los mismos brazos enfermos en la misma planta, son también fuentes de inóculo potenciales, ya que en estos se van desarrollando estructuras reproductivas (picnidios) los cuales se estimularán en presencia de agua y las conidias se dispersarán con el salpicado de gotas de lluvias y viento (Gramaje et al., 2018). Cabe mencionar que estos patógenos ingresan a la planta hospedera a través de las heridas frescas de poda (Gramaje et al., 2018; Latorre, 2018), siendo ésta una de las principales vías de infección, como también ingresan a las plantas a través de aberturas naturales como lenticelas y estomas, heridas por desprendimiento de hoja o fruto o daños causados por insectos plaga. Estas especies son generalmente considerados hongos oportunistas, que necesitan de herida y una predisposición del hospedero asociado a algún estrés ya sea heladas, estrés hídrico, estrés térmico, entre otros, que favorecerá la colonización y expresión de los síntomas (Díaz y Latorre 2020). Por lo tanto, para el manejo de estas enfermedades es relevante determinar las fuentes de inóculo y proteger las heridas de poda.

Finalmente, es importante destacar la relevancia que posee la familia Botryosphaeriaceae causando daño en diversos cultivos frutales de importancia económica a nivel mundial y nacional (Úrbez-Torres et al., 2006; Delgado-Cerrone et al., 2016; Gramaje et al., 2018; moral et al., 2019). El presente trabajo aporta información significativa al ser unos de los primeros estudios que demuestran la infección cruzada de lesiones provocadas por Botryosphaeriaceae spp. obtenidas desde diferentes hospederos frutales en estacas y ramillas de manzano. Esto concuerda con el trabajo realizado en Sudáfrica por Mojeremane et al. (2020), quienes determinaron que aislados de *N. australe* y *N. stellenboschiana* fueron capaces de causar lesiones en vides, ciruelos, manzanos, olivos y pimiento boliviano, variando en virulencia entre los aislados. Por lo tanto, en el estudio de Mojeremane et al. (2020), se demuestra la infección cruzada de Botryosphaeriaceae en diferentes especies frutales y ornamentales. Sin embargo, en este último trabajo se estudiaron en brotes de los hospederos, siendo que son patógenos que atacan a la madera (Mojeremane et al. (2020)). Por lo tanto, más estudios son necesarios para determinar virulencia en otros hospederos frutales evaluando diferentes Botryosphaeriaceae spp. obtenidas desde diferentes especies frutales y probar la infección cruzada por Botryosphaeriaceae.

Cabe mencionar que para prevenir impactos y pérdidas económicas derivadas de esta enfermedad, es necesario seguir realizando estudios e investigaciones para determinar y conocer aspectos epidemiológicos de la infección que generan estas especies asociadas a enfermedades de la madera y de esta manera buscar posibles controles o medidas de manejo, enfocados principalmente en disminuir las fuentes de inóculo, ya sea retirando, quemando o incorporando en profundidad los restos vegetales y de poda, además proteger las heridas de poda y conocer la sensibilidad de los productos fungicidas para prevenir impactos asociados a estas enfermedades.

6. CONCLUSIÓN

Basado en los resultados del presente estudio, se concluye que:

Las estacas de manzano cv. Fuji inoculadas con los 10 aislados fungosos de Botryosphaeriaceae en condición de invernadero desarrollaron lesiones necróticas, siendo la especie *Neofusicoccum arbuti* aislado de manzano, *Neofusicoccum parvum* y *Diplodia mutila* aislado de nogal los más virulentos.

Las ramillas de manzano cv. Fuji inoculadas con los 10 aislados fungosos de Botryosphaeriaceae en condición de campo desarrollaron lesiones necróticas, siendo las especies *Neofusicoccum arbuti* aislado de manzano, *Neofusicoccum parvum* y *Diplodia mutila* aislado de nogal los más virulentos.

La hipótesis se rechaza porque la especie *N. arbuti* aislado desde el manzano, junto con *N. parvum* y *Diplodia mutila* obtenidas desde nogal fueron los más agresivos en manzanos.

7. BIBLIOGRAFÍA

Acuña, R. 2010 Compendio de bacterias y hongos de frutales y vides en Chile. Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 153 p.

AGRIMED, 2017. Atlas agroclimático de Chile: Estado actual y tendencias del clima. Tomo III: Regiones de Valparaíso, Metropolitana, O'Higgins y Maule. Universidad de Chile, Santiago de Chile. 208 p

Agrios, G. N, 2005, fitopatología, 2da edición. México, Limusa, 952 p.

Álvarez, M., Pinilla B. y Herrera G. 2004. Enfermedades del Manzano. Instituto de Investigaciones Agropecuaria, INIA Ministerio de Agricultura. Colección de libros INIA °10. 71 p

Alves, A., Phillips, A., Henriques, I., and Correia, A. 2005. Evaluation of amplified ribosomal DNA restriction analysis as a method for the identification of *Botryosphaeria* species. *FEMS Microbiology Letters* 245: 221-229.

Arauz. C. L, F. 1998. Fitopatología, un enfoque agroecológico. Universidad de Costa Rica. 467 p.

Arauz, L. F., and Sutton, T. B. 1990. Effect of interrupted wetness periods on spore germination and apple infection by *Botryosphaeria obtusa*. *Phytopathology*, 80, 1218–1220.

Bravo, J. 2011. Mercado de la Manzana. Boletín Odepa N° 231. [En línea] Recuperado en <https://www.odepa.gob.cl/odepaweb/publicaciones/doc/4096.pdf> Consultado el 24 de mayo de 2021.

Cheon, W., Kim, Y. S., Lee, S. G., Jeon, Y. H., and Chun, I.-J. (2013). First Report of Branch Dieback of Walnut Caused by *Neofusicoccum parvum* in Korea. *Plant Disease*, 97:1114.

Delgado-Cerrone, L., Mondino-Hintz, P., and Alaniz-Ferro, S. 2016. *Botryosphaeriaceae* species associated with stem canker, dieback and fruit rot on apples in Uruguay. *European Journal of Plant Pathology*, 146(3), 637–655.

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* 40:327-339.

Díaz G.A y Latorre. B. 2020 Cancrosis y muerte regresiva en manzanos: Etiología y aspectos epidemiológicos en Chile. *Revista frutícola* 42 (3):30-64.

Díaz G.A., Latorre B.A., Ferrada E.E., Gutierrez 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* 102:1451-1452.

Díaz, G. A., Latorre B.A., Ferrada, E.E., and Lolas, M. 2019. Identification and characterization of *Diplodia mutila*, *D. seriata*, *Phacidiopycnis washingtonensis* and *Phacidium lacerum* obtained from apple (*Malus x domestica*) fruit rot in Maule Region, Chile. *European journal of Plant Pathology* 153:1259-1273.

Díaz G.A., Mostert L., Halleen F., Lolas M., Gutierrez M., Ferrada E.E., and Latorre B.A., 2019. *Diplodia seriata* associated with *Botryosphaeria* canker and dieback in apple trees in Chile. *Plant Disease* 103:1025-1025.

Díaz, G. A., Valdez, A., Halleen, F., Ferrada, E., Lolas, M., and Latorre, B. A. 2022. Characterization and Pathogenicity of *Diplodia*, *Lasiodiplodia*, and *Neofusicoccum* Species Causing *Botryosphaeria* Canker and Dieback of Apple Trees in Central Chile. *Plant Disease*, 106(3), 925–937.

Díaz, G.A., Zoffoli, J.P., Ferrada, E.E., and Lolas, M. 2020. Identification and Pathogenicity of *Diplodia*, *Neofusicoccum*, *Cadophora* and *Diaporthe* species associated with cordon dieback in kiwifruit cv. Hayward in central Chile. *Plant Disease: Ahead of Printed*: <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-20-0988-RE>

Díaz G.A., Zoffoli, J.P., Ferrada E.E y Lolas. M., 2021. Muerte regresiva en cargadores y brazos de kiwi cv. Hayward en Chile. *Revista frutícola* 43(1):24-64.

Echenique, M. 2017. Manzana, un mercado de alta competitividad y complejidad, de RedAgrícola [En línea] Recuperado en: <https://www.redagricola.com/cl/un-mercado-de-alta-competitividad-y-complejidad/> Consultado el 17 de abril de 2021.

Espinoza, J., Briceño, E., Chávez, E., Úrbez-Torres, J.R., and Latorre, B.A. 2009. *Neofusicoccum* spp. associated with stem canker and dieback of blueberry in Chile. *Plant Disease* 93:1187-1194.

Espinoza, J., Briceño, E., Keith, I. and Latorre, B. 2008. Canker and twig dieback of blueberry (*Vaccinium spp.*) caused by *Pestalotiopsis* spp. and *Truncatella* sp. in Chile. *Plant Disease* 92:1407-1414.

Gil, G. 2012. *Fruticultura - La producción de fruta: Frutas de clima templado y subtropical*. Tercera edición. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 634 p.

Gramaje D., Úrbez-Torres J.R., and Sosnowski M.R. 2018. Managing grapevine trunk diseases with respect to etiology and epidemiology: current strategies and future prospects. *Plant Disease* 102:12-39.

Gramaje D., Agustí-Brisach C., Pérez-Sierra A., Moralejo E., Olmo D., Mostert L., Damm U., and Armengol J. 2012. Fungal trunk pathogens associated with wood decay of almond trees on Mallorca (Spain). *Persoonia* 28:1-13.

Grau, P. 2015. La importancia de la industria de la manzana chilena en el mercado internacional. Instituto de Investigaciones Agropecuaria, INIA-Quilamapu. [En línea] Recuperado en: https://web.inia.cl/wp-content/uploads/2015/01/Art-t%C3%A9cnico_Importancia-mercado-manzanas.pdf. Consultado el 24 de mayo de 2021.

Guarnaccia V., Vitale A., Cirvilleri G., Aiello D., Susca A., Epifani F., Perrone G., and Polizzi G. 2016. Characterization and pathogenicity of fungal species associated with branch cankers and stem-end rot of avocado in Italy. *European Journal of Plant Pathology* 146:963-976.

Kohn, F. C. J and Hendrix, F. F. 1982. Temperature, free moisture, and inoculum concentrations affect the incidence and development of white rot on apples. *Phytopathology*, 72, 313–316.

Latorre, B.A. 2004. *Enfermedades de las plantas cultivadas*. Sexta edición. Ediciones Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 638 p.

Latorre, B.A. 2018. *Compendio de las enfermedades de las plantas*. Primera edición. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 733 p.

Lolas, M., Contreras, JM., Méndez, R., Cáceres, M., and Díaz, GA. 2016. First Report of Phytophthora Fruit Rot in Apple Caused by Phytophthora syringae During Cold Storage in Maule Region, Chile. Plant Disease 100: 1507-1507

Latorre, B., and Toledo, M.V. 1984. Occurrence and relative susceptibility of apple cultivars to Botryosphaeria canker in Chile. Plant Disease 68:36-39.

López-Moral A., Lovera M., Raya M, Cortés-Cosano N., Arquero O., Trapero A., and Agustí-Brisach C. 2020. Etiology of branch dieback and shoot blight of English walnut caused by Botryosphaeriaceae and diaporthe species in southern Spain. Plant Disease 104:533-550.

McDonald V., and Eskalen A. 2011. Botryosphaeriaceae species associated with avocado branch cankers in California. Plant Disease 95:1465-1473.

Merlet, H., Navarro, A., y Rosales, C. 2016. Manual técnico productivo y económico manzana. CIREN. [En línea] Recuperado en <http://bibliotecadigital.ciren.cl/handle/123456789/26085>. Consultado el 24 de mayo de 2021.

Mojeremame, K., Lebenya, P., Du Plessis, I.L., Van der Rijst, M., Mostert, L., Armengol, J., and Halleen, F. 2020. Cross pathogenicity of *Neofusicoccum australe* and *Neofusicoccum stellenboschiana* on grapevine and selected fruit and ornamental trees. Phytopathologia Mediterranea 59:581-593.

Moral, J., Morgan, D., Trapero, A., and Michailides, T. J. 2019. Ecology and epidemiology of diseases of nut crops and olives caused by Botryosphaeriaceae fungi in California and Spain. Plant Disease 103: 1809–1827.

Morales, A., Latorre, B., Piontelli, E. and Besoain, X. 2012. Botryosphaeriaceae species affecting table grape vineyards in Chile and cultivar susceptibility. Ciencia e investigación agraria, 39: 445-458.

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). 2021. Estadísticas productivas, estadísticas de frutales [En línea] Recuperado en: <https://www.odepa.gob.cl/estadisticas-del-sector/estadisticas-productivas> Consultado: 17 de abril de 2021.

Pérez S., Meriño-Gergichevich C. and Guerrero J. 2014. Detection of *Neofusicoccum nonquaesitum* causing dieback and canker in highbush blueberry from Southern Chile. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 14(3): 581-588.

Phillips, A., Alves, A., Abdollahzadeh, J., Slippers, B., Wingfield, M., Groenewald, J., and Crous, P. 2013. The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Studies in Mycology*, 76, 51–167.

Pinilla, B. 2013. Principales enfermedades de las Pomáceas. Boletín técnico volumen 13 no.5. Centro de Pomáceas. Universidad de Talca. Talca, Chile. [En línea] Recuperado en: http://pomaceas.otalca.cl/wp-content/uploads/2016/06/Boletin_N13_5.pdf. Consultado el 21 de mayo de 2021.

Sessa L., Abreo E., Bettucci., and Lupo S. (2017). Diversity and virulence of *Diaporthe* species associated with Wood disease symptoms in deciduous fruit trees in Uruguay. *Phytopathologia Mediterranea* 56: 431-444.

Sepúlveda, A., Arenas L. y Yuri, J., 2019. Desafíos de la producción manzanera ante el nuevo escenario climático. Centro de Pomáceas, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. [En línea] Recuperado en: <https://www.redagricola.com/cl/desafios-de-la-produccion-manzanera-ante-el-nuevo-escenario-climatico/> Consultado el 25 de mayo de 2021.

Slippers, B., Smit, W., Crous, P.W., Coutinho, T.A., Wingfield, B.D., and Wingfield, M.J. 2007. Taxonomy, phylogeny and identification of Botryosphaeriaceae associated with pome and stone fruit trees in South Africa and other regions of the world. *Plant Pathology* 56: 128-139.

Slippers, B. and Wingfield, M. J. 2007. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and their impact. *Fungal Biology Review* 21(2-3):90-106.

Sohrabi, M., Mohammadi, H., León, M., Armengol, J., and Banihashemi, Z. 2020. Fungal pathogens associated with branch and trunk cankers of nut crops in Iran. *European Journal of Plant Pathology*, 157:327-351.

Sutton, T., Aldwinckle H., Agnello A., and Walgenbach, J. 2014. Compendium of apple and pear diseases and pests. Second edition. American Phytopathological Society (APS). Minnesota, USA. 224 p.

Taylor, A., Hardy, G., Wood, P., and Burgess, T. 2005. Identification and pathogenicity of *Botryosphaeria* species associated with grapevine decline in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 34, 187–95.

Trouillas, F. P., Úrbez-Torres, J. R., Peduto, F., and Gubler, W. D. 2010. First Report of Twig and Branch Dieback of English Walnut (*Juglans regia*) Caused by *Neofusicoccum mediterraneum* in California. *Plant Disease*, 94:1267.

Úrbez-Torres J.R., Leavitt G.M., Voegel T.M., and Gubler W.D. 2006. Identification and distribution of *Botryosphaeria* spp. associated with grapevine cankers in California. *Plant Disease*. 90:1490-1503.