



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

**Virulencia en ramillas de nogales cv. Chandler por Botryosphaeriaceae spp.
obtenidas desde hospederos frutales con muerte regresiva**

MEMORIA DE TITULO

DIANA ENRIQUETA CORNEJO FARIAS

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 nogales cv. Chandler por Botryosphaeriaceae spp.
obtenidas desde hospederos frutales con muerte regresiva**

Por

DIANA ENRIQUETA CORNEJO FARIAS

MEMORIA DE TITULO

**Presentada a la
Universidad de Talca
Como parte de los requisitos para optar al título de**

INGENIERO AGRÓNOMO

TALCA, 2022

Aprobación:



Gonzalo Díaz Ulloa

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

Profesor asociado

Escuela de Agronomía

Facultad de Ciencias Agrarias



Mauricio Lolas Caneo

Profesor informante: Ing. MS. PhD. Mauricio Lolas

Profesor titular

Escuela de Agronomía

Facultad de Ciencias Agrarias

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

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

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a mi profesor guía Gonzalo Díaz por el apoyo, tiempo y dedicación durante este estudio.

Agradecer a todo el equipo profesional perteneciente al laboratorio de Sanidad Vegetal, en particular a Mauricio Gutiérrez, y a docentes pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Talca.

Agradecer a mis padres e hijo: Florindo, Patricia y Facundo por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado. Agradecer a mi hermano Patricio por su apoyo.

Finalmente quiero agradecer a Javiera, amiga y compañera durante estos años universitarios, por su apoyo incondicional. Y en general agradecer a todas las personas que estuvieron involucradas en mi formación como persona y profesional durante este periodo.

Esta tesis está dedicada a mi padre, Florindo Cornejo. A pesar de nuestra distancia física, siento que estás conmigo siempre y aunque nos faltaron muchas cosas por vivir juntos, sé que este momento hubiera sido tan especial para ti como lo es para mí.

RESUMEN

El nogal (*Juglans Regia*) es un frutal de alta importancia en Chile que hoy supera las 43.104 hectáreas plantadas. Sin embargo, la producción se ve afectada por micosis como la cancrrosis y muerte regresiva de nogal asociados a Botryosphaeriaceae. Recientemente en Chile se ha descrito a especies de Botryosphaeriaceae provocando daños en huertos de vid, arándanos, manzano y nogal. Por lo tanto, el objetivo de este estudio consistió en determinar el grado de la extensión de canchros en ramillas de nogal cv. Chandler en condiciones de invernadero y de campo, inoculadas por 10 aislados pertenecientes a cinco especies de Botryosphaeriaceae (*Diplodia seriata*, *D. mutila*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum arbuti* y *N. parvum*) obtenidas desde manzanos, arándanos, vides y nogales con muerte regresiva. Las estacas y ramillas de nogal en receso fueron podadas en su extremo distal en condiciones de invernadero y de campo, respectivamente. Las heridas de poda fueron inoculadas con diez aislados. Se agregó un tratamiento control (agua o trozo de agar estéril). Después de 4 y 8 meses de incubación en invernadero y en el huerto, se produjeron canchros que midieron desde 11,6 mm a 55,5 mm y 18,2 a 131,5 mm, respectivamente. El reaislamiento fue 100% positivo para los diferentes aislados. Este trabajo demostró que las heridas de poda de estacas y ramillas dormantes de nogal cv. Chandler son susceptibles a las diferentes especies de Botryosphaeriaceae. En conclusión, las especies *N. parvum* (aislados vid, arándano y nogal), *N. arbuti* (aislado manzano) y *D. mutila* (aislado nogal) fueron las más agresivos en estacas. En las ramillas las especies *N. parvum* (aislados vid, arándano y nogal), *N. arbuti* (aislado manzano) y *D. mutila* (aislado nogal) fueron los más agresivas. Finalmente, se rechaza la hipótesis, porque las especies más agresivas incluyen Botryosphaeriaceae de origen distinto al nogal.

Palabras clave: Botryosphaeriaceae, cancro, lesión necrótica, muerte regresiva.

ABSTRACT

Walnut (*Juglans Regia*) is a fruit tree of great importance in Chile, with more than 43,104 hectares planted today. However, production is affected by mycoses such as canker and walnut dieback associated with Botryosphaeriaceae. Recently in Chile, Botryosphaeriaceae species have been described causing damage in vine, blueberry, apple and walnut orchards. Therefore, the objective of this study is to determine the extent of cankers on twigs of walnut cv. Chandler under greenhouse and field conditions, inoculated by 10 isolates belonging to five species of Botryosphaeriaceae (*Diplodia seriata*, *D. mutila*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum arbuti* and *N. parvum*) obtained from apple, blueberry, grapevine and walnut trees with regressive death. Recessing walnut stakes and twigs were pruned at their distal end under greenhouse and field conditions, respectively. Pruning wounds were inoculated with ten isolates. A control treatment (water or sterile agar slice) was added. After 4 and 8 months of incubation in the greenhouse and in the orchard, cankers ranging from 11.6 mm to 55.5 mm and 18.2 to 131.5 mm, respectively, were produced. Reisolation was 100% positive for the different isolates. This work demonstrated that pruning wounds of dormant cuttings and twigs of walnut cv. Chandler are susceptible to the different species of Botryosphaeriaceae. In conclusion, the species *N. parvum* (grapevine, blueberry, and walnut isolates), *N. arbuti* (apple isolate), and *D. mutila* (walnut isolate) were the most aggressive on cuttings. In the twigs, the species *N. parvum* (grapevine, blueberry, and walnut isolates), *N. arbuti* (apple tree isolate), and *D. mutila* (walnut isolate) were the most aggressive. Finally, the hypothesis is rejected, because the most aggressive species include Botryosphaeriaceae of origin other than walnut.

Keywords: Botryosphaeriaceae, canker, necrotic lesion, dieback.

ÍNDICE

	Pagina
RESUMEN	3
1. INTRODUCCIÓN	9
1.1 Hipótesis	11
1.2 Objetivo:	11
1.3 Objetivo específico:	11
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 Importancia del nogal en Chile.....	12
2.1.1 Superficie de nogal	12
2.1.2 Producción y exportación de nueces	14
2.2. Generalidades del cultivo del nogal	15
2.3 Enfermedades del nogal	18
2.3.1 Muerte regresiva en nogal	19
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1 Ubicación del ensayo	25
3.2 Aislados fungosos	25
3.4 Diseño experimental y análisis estadístico en condiciones de laboratorio y campo.....	29
4. RESULTADOS	30
4.1 Condición de invernadero	30
4.2 Condición de campo	
5. DISCUSIÓN	37
6 CONCLUSIÓN	41
7 CITAS BIBLIOGRAFICAS.....	42

INDICE DE CUADROS

	Pagina
Cuadro 2.1. Superficie y distribución geográfica de plantaciones de nogal en las diferentes regiones de Chile.	13
Cuadro 2.2. Exportación nacional de nuez con y sin cascara (toneladas), entre la temporada 2019 y 2020	15
Cuadro 3.1. Especies de Botryosphaeriaceae, <i>Lasiodiplodia theobromae</i> , <i>Diplodia mutila</i> , <i>D. seriata</i> , <i>Neofusicoccum arbuti</i> y <i>N. parvum</i> obtenidos desde frutales con muerte regresiva en la Región del Maule	26
Cuadro 4.1. Análisis de varianza para largo de lesión (mm) por Botryosphaeriaceae spp.	31
Cuadro 4.2. Lesión necrótica en estacas de nogal cv. Chandler (diez años) de los 10 aislados de Botryosphaeriaceae, después de 4 meses de incubación en condiciones de invernadero.	32
Cuadro 4.2. Análisis de Varianza para SQRT Largo de lesión (mm) - Suma de Cuadrados Tipo III.	34
Cuadro 4.2.2 Lesión necrótica en ramillas de nogal cv. Chandler (diez años) de los 10 aislados de Botryosphaeriaceae, después de 8 meses de incubación en condiciones de campo	35

INDICE DE FIGURA

	Pagina
Figura 2.1. Parte comestible de la nuez, donde se aprecia el endocarpo (cascara) y cotiledones (corresponde a la parte comestible o nuez)	12
Figura 2.2. Flores masculinas (principios de octubre) de nogal cv. Chandler, San Rafael, Región del Maule.	16
Figura 2.3. Características morfológicas y culturales de Botryosphaeriaceae causando canchros y muerte regresiva de brazos en nogales en la Región del Maule. Conidia (A) y cultivo en APD (B) de <i>Diplodia mutila</i> . Conidia y cultivo en APD de <i>Dothiorella sarmentorum</i>	20
Figura 2.4. Muerte regresiva de ramilla de nogal cv. Chandler de plantación adulta de 12 años en Longaví, Región del Maule. Cancro y muerte de ramilla con presencia de picnidios (A). Corte transversal de ramillas con muerte mostrando necrosis sectorial de la madera (B). 21	21
Figura 2.5. Muerte regresiva de nogal cv. Chandler de plantación adulta de 12 años de edad en Longaví, Región del Maule. Planta mostrando brazos y múltiples ramillas con muerte (A). Muerte de ramillas y necrosis de la madera (B).	22
Figura 2.3. Atizonamiento de brote y frutos afectados por Botryosphaeriaceae como <i>N. mediterraneum</i> en huerto de nogal en California, E.E.U.U (Moral et al., 2019).	22
Figura 3.1. Zona del estudio de campo, Fundo San Cayetano (A) y Laboratorio Patología Frutal, Universidad de Talca (B).	25
Figura 3.1. Aislados de especies de Botryosphaeriaceae utilizados en el estudio. <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (LT-Mz) (A), <i>Diplodia seriata</i> (DS-Mz) (B), <i>Neofusicoccum arbuti</i> (NA-Mz) (C), <i>D. mutila</i> (DM-Mz) (D), <i>D. seriata</i> (DS-Vid) (E), <i>Neofusicoccum N. parvum</i> (NP-Vid) (F), <i>N. parvum</i> (NP-Ara-1) (G), <i>N. parvum</i> (NP-Ara-2) (H), <i>Diplodia mutila</i> (DM-Nog) (I), <i>Neofusicoccum parvum</i> (NP-nog) (J).....	27
Figura 3.2. Inoculación de ramilla cv. Chandler con suspensión de micelio de Botryosphaeria spp. en condiciones de laboratorio. Ramilla con herida de poda fresca (A). Inoculación de la herida de poda en estacas de nogal (B).....	28
Figura 3.3. Inoculación de ramillas de nogal cv. Chandler con suspensión de fragmentos de micelio (10 ⁶ fragmentos/mL) de Botryosphaeriaceae spp. en condiciones de campo, en San Rafael, Región del Maule. Ramillas en receso (A). Ramilla con herida de poda fresca (B). Inoculación de la herida de poda en ramillas de nogal (C).....	29
Figura 4.1. Estacas de nogal cv. Chandler con lesiones necróticas provocadas por Botryosphaeriaceae spp. en condiciones de laboratorio. Estacas mostrando cancro y necrosis (A). Ramilla mostrando necrosis del tejido desde la zona de inoculación (B).....	30

Figura 4.3. Estacas de nogal cv. Chandler con lesiones necróticas visibles provocadas por *Neofusicoccum parvum* (NP-nog) (A) y *Neofusicoccum arbuti* (NA-Mz) (B) en condiciones de campo. 33

Figura 4.4. Promedio de lesiones necróticas en estacas de nogal cv. Chandler inoculadas con *Botryosphaeriaceae* spp. después de 8 meses en condición de campo en San Rafael, Región del Maule. 34

Figura 4.5. Reaislamiento de ramillas inoculadas con *Botryosphaeriaceae* spp. en medio de cultivo APD (2%) después de 7 días de incubación a 20°C. *Lasiodiplodia theobromae* (LT-Mz) (A), *Diplodia seriata* (DS-Mz) (B), *Neofusicoccum arbuti* (NA-Mz) (C), *D. mutila* (DM-Mz) (D), *D. seriata* (DS-Vid) (E), *Neofusicoccum N. parvum* (NP-Vid) (F), *N. parvum* (NP-Ara-1) (G), *N. parvum* (NP-Ara-2) (H), *Diplodia mutila* (DM-Nog) (I), *Neofusicoccum parvum* (NP-nog) (J), Testigo (K). 36

1. INTRODUCCIÓN

Chile, desde el punto de vista del sector productivo enfocado en fruta fresca tiene un reconocimiento a nivel mundial. Es el principal país productor y exportador de frutas del hemisferio sur, siendo líder en exportación de cerezas, uvas, arándanos y nueces (Odepa, 2022). Además, en fruta procesada, nuestro país destaca los números envío de manzana, uva y ciruela deshidratada. Chile es además un actor reconocido en la industria mundial por producir y exportar más de 50 diferentes especies frutales, y es considerado un proveedor de categoría mundial por su fiabilidad y cumplimiento de la inocuidad alimentaria en base a la normativa internacional (Odepa, 2022).

Según catastro publicado en enero de 2022 la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (Odepa), junto con la Asociación de Exportadores de Frutas de Chile (ASOEX), da cuenta del periodo entre enero-diciembre de 2021, en el cual se registra un total de exportaciones de fruta de 3,42 millones de toneladas, por un valor de USD 7.183 millones FOB. Con respecto al mismo período del año anterior, se registra aumento de 3,3% en volumen exportado, y de 2,3% en valor.

De este total en valor, 70,3% corresponde a fruta fresca, 20,3% a fruta procesada (jugos, aceites, conservas, congelados, deshidratados), y 9,4% a frutos secos (nueces, almendras, avellanas, entre otros).

La industria chilena de frutos secos, incluyendo en ella a sus tres principales especies: nueces, almendras y avellanas, ha experimentado un dinámico desarrollo basado en la presencia de una serie de características que se traducen en ventajas comparativas y competitivas con respecto a los mayores productores mundiales. Estas ventajas se manifiestan en el buen clima del país, con otoños en general secos, apropiados para la cosecha, y terrenos planos que permiten mecanizar parte del proceso productivo y facilitan la utilización de riego en los predios (Bravo, 2012).

El nogal persa o inglés (*Juglans regia*) es una especie frutal caducifolio que pertenece a la familia de las Juglandaceae (Lemus, 2001). En la actualidad posee una superficie de 43.104 ha, convirtiéndose en el segundo frutal en importancia, después de los cerezos (Odepa, 2022). Se distribuyen principalmente entre las regiones de Valparaíso (7.003 ha), Metropolitana (16.430 ha), O'Higgins (7.785 ha) y Maule (7.007 ha). En la Región del Maule, el crecimiento de las plantaciones de nogales ha ocurrido en los últimos 15 años, lo que ha conllevado ser

un importante productor y exportador de nueces de calidad (Lemus, 2001). Sin embargo, han aparecidos desafíos asociados a problemas productivos como problemas de heladas, manejo hídrico y ocurrencia de enfermedades entre otros.

El nogal es un cultivo que a diferencia de otros frutales que no se ve afectado por muchas plagas y enfermedades. Dentro de las plagas, la que genera mayor preocupación es la polilla del manzano. Mientras que, en el caso de las enfermedades, la pudrición radical y del cuello ocasionada por *Phytophthora* spp. y la peste negra destacan por su importancia económica y prevalencia (Latorre, 2018; Morales et al., 2019). *Phytophthora cinnamomi* ha sido descrita como la especie más agresiva que afecta al nogal. Es un patógeno primario, ataca las raicillas de nogal y causa cancro a nivel del cuello y exudación negra (Besoain et al., 2019).

En los últimos años, se ha visto un incremento de enfermedades asociada a especies de Botryosphaeriaceae que provocan canchros y muerte regresiva de brazos en nogal (Moral et al., 2019a; Moral et al., 2019b). Es más, en California se han descrito a varias especies de la familia Botryosphaeriaceae incluyendo a *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia* spp. y *Neofusicoccum* spp. causando muerte regresiva de ramillas y brazos en nogales (Chen et al., 2014). De la misma forma, en España, varias especies de la familia Botryosphaeriaceae como *B. dothidea*, *Diplodia seriata*, *Dothiorella sarmentorum*, *Dothiorella* spp., *Neofusicoccum mediterraneum*, y *N. parvum*, han sido descritas causando canchros y muerte regresiva de brazos (López-Moral et al., 2020). En este sentido, en Chile se describió a la especie *D. mutila* causando la muerte de brazos en nogales en la Región del Maule en una incidencia entre 5 y 20% (Díaz et al., 2018). Actualmente, se ha observado un incremento en la prevalencia de la enfermedad en nogales comerciales de la Región del Maule, siendo una preocupación para los productores.

La alta incidencia de muerte regresiva reportada no solo en nogales (Díaz et al., 2018), sino que es un problema más amplio que afecta a manzanos (Díaz et al., 2019), vides (Morales et al., 2012; Díaz et al., 2013) y arándanos (Espinoza et al., 2009), ratifican que es una enfermedad que ataca a varios hospederos frutales, sino que además que estas especies frutales se cultiven en forma conjunta en un mismo huerto o en las cercanías como ocurre en la zona central de Chile, es posible que ocurra infecciones cruzada por especies de Botryosphaeriaceae entre estos hospederos frutales, siendo potenciales fuentes de inóculo entre los frutales. En la actualidad no existe evidencia o literatura sobre la posible infección cruzada asociada a especies de Botryosphaeriaceae en diferentes especies frutales en Chile.

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

1.1 Hipótesis:

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

1.2 Objetivo:

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

1.3 Objetivo específico:

Determinar lesión necrótica causada por especies de Botryosphaeriaceae inoculadas sobre heridas de poda en estacas lignificadas de nogales cv. Chandler en condiciones de invernadero.

Determinar lesión necrótica causada por especies de Botryosphaeriaceae inoculadas sobre heridas de poda de ramillas lignificadas de nogales cv. Chandler en condiciones de campo.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importancia del nogal en Chile

El nogal (*Juglans regia L*) es un árbol frutal de gran importancia económica, se encuentra ampliamente difundida por el mundo debido a sus cualidades, ya que es cultivado tanto por su madera, hojas aromáticas, como planta ornamental y mayormente por especies frutal que produce un fruto comestible conocido como 'nuez' (Figura 2.1) (Lemus, 2001). La nuez del nogal, fruto seco de alto valor nutritivo (Leiva, 2017; Lemus, 2001).



Figura 2.1. Parte comestible de la nuez, donde se aprecia el endocarpo (cáscara) y cotiledones (corresponde a la parte comestible o nuez).

Una ventaja importante de la nuez chilena está marcada por la época en la que Chile cosecha sus frutos (marzo/abril), período que coincide con la mayor demanda de los principales importadores (mayo/noviembre) o en otras palabras los mercados de destino. Gracias a esta situación Chile puede ofrecer nueces recién cosechadas, de mejor sabor y color, y con una duración superior a la de otros competidores. Chile, además posee gran flexibilidad para ofrecer frutos de nuez con y sin cascara de acuerdo con las necesidades específicas de cada cliente (Chilenut, 2017).

2.1.1 Superficie de nogal

En cuanto a la superficie cultivada de nogales a nivel mundial, según estimaciones de la FAO, hay 52 países que cultivan nueces. En total, la estimación de la superficie mundial plantada con nogales es de 989.736 ha, de acuerdo con cifras oficiales del año 2014. China, Estados Unidos, Irán y Turquía concentran el 70% de esta superficie (FIA, 2017).

Actualmente, Chile posee una superficie frutícola de 342.654 ha, donde los cerezos se han convertido en la principal especie frutal plantada con 48.960 ha. En segundo lugar, se encuentran los nogales ingleses (*Juglans regia*) con alrededor de 43.734 ha hasta el año

2022, mostrando un importante crecimiento durante los últimos diez años (Odepa, 2022). Basados en los datos proporcionados por el Odepa (2022), la superficie de nogales se concentra entre las regiones de Valparaíso (7.003 ha), Metropolitana (16.430 ha), O'Higgins (7.785 ha) y Maule (7.007 ha), de norte a sur a nivel nacional (Cuadro 2.1). En la Región del Maule, los nogales ingleses cv. Chandler tienen una superficie plantada de 7.007 ha, siendo un cultivo de creciente interés y expansión en la zona, alcanzado el tercer lugar en importancia en la región después de los manzanos y avellanos con 16.870 y 11.225 ha, respectivamente (Odepa, 2022).

Cuadro 2.1. Superficie y distribución geográfica de plantaciones de nogal en las diferentes regiones de Chile.

Región	Superficie (ha)	% nacional
Atacama	14,3	0,04
Coquimbo	2145,3	6,1
Valparaíso	7003,3	16,6
Metropolitana	16430,2	34,6
O'Higgins	7785,9	17,2
Maule	7007,6	17,2
Bío Bío	1426,5	3,5
Araucanía	410,7	1,0
Los Lagos	3,5	0,01
Los Ríos	9,4	0,02
Ñuble	1497,9	3,7
TOTAL	43734,9	100

Fuente: Odepa, 2022

Las variedades más plantadas son Chandler, que hoy representa el 85% de los nogales plantados en Chile, solo un 10% corresponde a Serr, y el 5% restante a otras variedades, las que suelen ser Howard o Tulare. Pero Chandler se adapta mejor a todos los climas y si bien para el norte se adapta mejor la Serr, sin que Chandler funcione mal, de Santiago al sur es mucho más fácil la producción de Chandler (García, 20017). La preferencia por el cultivar Chandler se debe a que presenta características como; menor vigor, mayor rendimiento y brotación más tardía que Serr y otras variedades, por lo que se adapta mejor al clima de las zonas donde se concentra su distribución (FIA, 2017).

2.1.2 Producción y exportación de nueces

El fuerte impulso que ha tenido en Chile el cultivo industrial del nogal en los últimos 30 años se debe, en primer lugar, al desarrollo tecnológico constante, que desde los años 80 impulsó el INIA; además del importante incremento que tuvo el consumo de la nuez a nivel mundial y a un período de alrededor de 15 años de muy altos precios. En la actualidad se cultivan más de 42.000 hectáreas de nogal en nuestro país, desde Coquimbo a La Araucanía, con una producción de 130 mil toneladas en 2019. El potencial de esta superficie, aunque se mantuviera constante, es de más de 240 mil toneladas, lo que se expresará en los próximos años (Lemus, 2019).

Los frutos secos alcanzaron ventas por 7606 toneladas durante el periodo enero-abril 2022. En comparación con igual período del año 2021, estos valores representan una disminución de -23,7% en volumen y -9,7% en valor, comparado con igual período del año anterior. El principal producto exportado en términos de valor es la nuez sin cáscara, que registra ventas por 1.070 toneladas, representando 49% del total de envíos de frutos secos. El principal destino fue Francia (7%) Países Bajos (6%) y Ecuador (3%), En cuanto a la nuez con cáscara, se registró ventas por 749 toneladas, enviadas principalmente a India (9%), Bielorrusia (2,4%) y Francia (1,8%) (Pefaur, 2021).

De la producción nacional de nueces de nogal, se exporta alrededor de un 90% y el 10% restante se destina al mercado interno. En el país no existe un gran desarrollo de este mercado, debido a que el hábito de consumir nueces diariamente aún no se ha instaurado (FIA, 2017).

Según registros oficiales del Servicio Agrícola y Ganadero de Chile (SAG) reunidos por ASOEX (Asociación Chilena de Exportadores de Frutas), las exportaciones de la presente temporada, que comprende el 21 de marzo como el primer día de la temporada 2020, han experimentado un déficit en comparación con la temporada anterior, tanto en los envíos de nuez con y sin cáscara (Cuadro 2.2).

Cuadro 2.2. Exportación nacional de nuez con y sin cascara (toneladas), entre la temporada 2019 y 2020.

Exportación de nuez con cáscara (Toneladas)					
Junio		% de cambio	Exportaciones 21/mar al 30/jun		% de cambio
2019	2020	2020 vs 2019	2019	2020	2020 vs 2019
5.473	3.829	-30%	8.644	6.489	-25%

Exportación de nuez sin cáscara (Toneladas)					
Junio		% de cambio	Exportaciones 21/mar al 30/jun		% de cambio
2019	2020	2020 vs 2019	2019	2020	2020 vs 2019
28.515	19.481	-32%	72.342	47.109	-33%

Fuente: Chilenut, 2020

Sin embargo, cultivo del Nogal en Chile es y seguirá siendo un negocio importante en la fruticultura chilena y hoy cuenta con un gran número de empresas agrícolas de mediano y pequeño tamaño, que junto a las de mayor tamaño, generan un gran número de empleos en toda la cadena productiva, que va desde la producción de plantas en los viveros, la producción agrícola, el procesamiento agroindustrial, la logística y la comercialización del producto a nivel global (Chilenut, 2020)

2.2. Generalidades del cultivo del nogal

El nogal es un frutal caducifolio de gran tamaño que desarrollan, una notoria médula en el centro del tronco y presentar hojas compuestas de folíolos impares grandes, de color verde opaco, bastante ricas en componentes aromáticos (ej: taninos), como todas las demás partes de la planta (Chilenut, 2017; Lemus, 2001). El nogal es una planta monoica autofértil y de fecundación anemogama que presenta dicogamia o época de maduración diferente para cada sexo (Figura 2.2.), este problema se soluciona con huertos injertados ya que en el injerto con yema adulta puede producir flores masculinas al año de injertado (Barriga,1991).



Figura 2.2. Flores masculinas (principios de octubre) de nogal cv. Chandler, San Rafael, Región del Maule. Foto de Gonzalo Díaz.

Las nueces son el fruto del nogal y es una drupa siempre comestible, tienen cáscara leñosa (Figura 2.1), y entre las especies varía el tamaño y el porcentaje de pulpa o porción comestible (Lemus, 2001).

El sistema radical es muy desarrollado, consta de una raíz principal y un sistema secundario de raíces superficiales, las cuales se encuentran marcadamente distribuidas tanto vertical como horizontalmente (Chilenut, 2017). Las raíces del nogal son altamente sensibles a la falta de oxígeno en el suelo (Lemus et al., 2010). Las raíces de los árboles adultos pueden penetrar hasta una profundidad de 3 metros y las de nuevas variedades compactas hasta 1,50 m (Villaseca, 2004)

En Chile, se prefiere cultivar en su mayoría especies de nogal con fructificación lateral, ya que esta característica permite una rápida entrada en producción, menor vigorosidad y, por ende, mayores rendimientos, debido a la posibilidad de establecer cultivos con mayor densidad de plantación (Gil, 2012).

Chandler es un cultivar mayoritariamente plantado por ser altamente productivo, con cerca de 90% de las flores femeninas en yemas laterales (Gil, 2012). Es moderadamente vigoroso y semierecto. Las nueces son grandes, redondas, suaves, con cáscara algo blanda, por lo que no son buenas para la venta con cáscara, aunque, al parecer, este defecto tiende a desaparecer a medida que el árbol se hace adulto. La nuez se parte con facilidad, y algunos autores describen que resiste mejor el almacenamiento que otros cultivares. El porcentaje de llenado de la nuez es del 49% (Valenzuela, 2001), además, el peso de fruto promedio de 14,6 g, peso de nuez de 7,1 g, calibre ecuatorial de 37 mm y un número de frutos que alcanzan un color claro, que varía entre el 90 y el 100% de las nueces (Ibacache, 2002).

El comportamiento productivo de Chandler es bueno, si cuenta con buenos polinizantes que se traslapen con la floración femenina. En los últimos años ha sido el cultivar más plantado en California, introducidos a partir del Programa de Mejoramiento Genético de Nueces de la Universidad de California, probablemente por su facilidad al descascarado mecánico, base de la industria estadounidense. En Chile también se está plantando extensamente (Valenzuela et al., 2001).

Su polinizador habitual en California era cv. Franquette, posteriormente se seleccionó un polinizador específico, cv. Cisco, sin embargo, la excesiva susceptibilidad a bacteriosis de este último aconseja la utilización de cv. Fernette (Aletà, 2002).

En la actualidad, en Chile casi la totalidad de los huertos con plantas de nogal adulto, se encuentran sobre portainjertos de nogal inglés o francos. Sin embargo, durante los últimos años, se ha introducido el uso de portainjerto de semilla Paradox y sus derivados clonales como, Vlach, VX211 Y RX 1, ya que estos han presentado resultados favorables en California, Estados Unidos, y se espera que estos mismos resultados se repliquen en Chile, debido al gran parecido en las condiciones climáticas. Estos portainjertos, excepto Vlach presentan muy buena resistencia a *Phytophthora* y se debe pagar royalty por ellos (FIA, 2017).

El cultivo comercial del nogal corresponde a una inversión a largo plazo ya que los árboles de esta especie pueden mantenerse productivos entre 30 a 60 años. En comparación con otras especies frutales, la entrada a plena producción es más lenta ya que los primeros frutos comienzan a aparecer entre el tercer y cuarto año, alcanzando el árbol su plena producción entre el séptimo y octavo año con una producción promedio de huerto de 5.000 kilos por ha (Chilenut, 2009).

2.2.1 Requerimientos edafoclimáticos

Las condiciones óptimas para nogal se dan en climas montañosos de valles cordilleranos o lomajes suaves a los pies de la cordillera, con baja humedad relativa, para evitar la enfermedad bacteriana peste negra de los frutos u hojas. En Chile este clima se encuentra a más de 600 msnm (Loewe, 2001)

La variabilidad de los suelos chilenos, sumado al gran crecimiento en el interés de plantar nogales, ha llevado a que estos se planten en casi todo tipo de suelos. Hay que tener en cuenta que las plantas de nogal se desarrollan bien en suelos francos a francos arenosos, con buen drenaje, libre de napas freáticas y compactaciones de suelo. Las raíces del nogal son

muy sensibles a la falta de oxígeno en el suelo y texturas más finas o con compactaciones, y suelos con poco drenaje, hacen más propenso al nogal a desarrollar enfermedades de la raíz (*Phytophthora* sp.). Otro factor del suelo importante es saber que cultivo había anteriormente en el huerto, los nogales tienen una fuerte alelopatía con raíces de paltos y de nogales (Mendoza, 2020).

El nogal requiere de cierta cantidad de horas de frío acumuladas (aproximadamente entre 400 a 1.000 h dependiendo de la variedad) para salir del receso y así fructificar normalmente en la temporada siguiente. A la vez, es exigente en calor durante su período vegetativo, requiriendo al menos de seis meses en que la temperatura media alcance los 10 °C. Temperaturas demasiado elevadas (40 °C) provocan quemaduras, deshidratación del fruto y defoliación parcial de la planta. Debido a estas exigencias algunos autores señalan que la especie es sensible a los fríos primaverales tardíos, siendo catalogada como una especie adicta al calor. En cambio, otros autores la consideran resistente al frío (CIREN, 2001)

A pesar de su rusticidad es muy sensible a la sequía. Para la seguridad del cultivo se debe tener una disponibilidad de agua de 8.000 m³/anuales o 0,85 L/s por hectárea. La calidad del agua es también importante y debe considerar una conductividad eléctrica mayor a 2 mmhos, además baja en sales y cloruros (Chilenut, 2020)

El nogal común presenta sensibilidad a las heladas tardías de primavera. Por lo tanto, es conveniente evitarlas en época de (octubre-noviembre), sobre todo en plantas jóvenes, ya que afectan las flores y frutos pequeños. Las heladas tempranas en otoño también pueden ocasionar pérdidas en los brotes terminales, algunos de los cuales pueden llevar flores femeninas, lo que disminuye la producción frutal. Sin embargo, el vigor del árbol no se ve perjudicado por las heladas, por lo que resulta posible cultivar el nogal con objetivos madereros en aquellas zonas donde las condiciones climáticas no favorecen la producción frutal (Loewe, 2001).

2.3 Enfermedades del nogal

Las enfermedades del nogal común son relativamente escasas en comparación con otras especies frutales. No obstante, se conocen algunas enfermedades de importancia económica, debidas tanto a bacterias como a hongos (Acuña, 2010; Latorre, 2018) Dentro de las enfermedades de origen fungoso más comunes que afectan al nogal son la Pudrición de raíces causada por *Armillaria melle*; cancro gomoso, causado por *Botryosphaeria dohidea*; cancrisis causado por *Cytospora* sp. y *Neofusicoccum* sp. entre otras (Acuña, 2010). Por otra parte, las enfermedades referentes a bacteriosis más

importantes en Chile son agallas del cuello y raíces, causada por *Agrobacterium tumefaciens* y la peste negra del nogal causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (Acuña, 2010; Latorre, 2018).

La peste negra se caracteriza por el desarrollo de manchas necróticas hundidas, café oscuras a negras, que comprometen parcial o totalmente la nuez. Durante los estados iniciales de la infección, se presenta un halo de tejidos acuosos. Ataques severos pueden producir marchitez de brotes terminales que eventualmente conducen al desarrollo de pequeños canchros en madera lignificada (Millar, 2020).

Otra patología importante en los nogales a nivel nacional es la pudrición de raíces y el cuello causada por el género fungoso *Phytophthora* (Acuña, 2010; Latorre, 2004). Recientemente se han descrito a *Phytophthora cinnamomi* y *P. citrophthora* causando pudrición de raíces y cuellos de nogales (Guajardo et al., 2019). Estos patógenos producen pérdidas productivas en torno al 12% a nivel nacional (Chilenut, 2020; Guajardo, 2019; Lemus, 2010).

2.3.1 Muerte regresiva en nogal

La muerte regresiva de ramas y ramillas en frutales es una enfermedad de importancia económica a nivel mundial, que no solo afecta al nogal si no que afecta a diferentes especies y causa grandes pérdidas productivas, debido a que disminuye la calidad y cantidad de los frutos (Latorre, 2018; Chen et al., 2014). Dentro de los agentes causales que se han descrito asociados a la muerte regresiva del nogal, se destacan las Botryosphaeriaceae spp. (Chen et al., 2014; López-Moral et al., 2020).

En los últimos años, se ha observado un incremento de canchros y muerte regresiva de brazos en nogal por especies de Botryosphaeriaceae (Chen et al., 2014; Moral et al., 2019a; Moral et al., 2019b). La muerte regresiva de ramillas y brazos de nogales ha sido descrita en España, California, China, República Checa y Corea del Sur (Chen et al., 2014; Cheon et al., 2013; Trouillas et al., 2010; Zhang et al., 2017; Moral et al., 2019a; López-Moral et al., 2020).

En el trabajo de Trouillas et al. (2010) se identificó a *Neofusicoccum parvum* desde muestras de ramillas y brazos con muerte regresiva. Posteriormente, el trabajo de Chen et al. (2014), donde muestreó 13 condados de California, se describieron 10 especies de Botryosphaeriaceae entre las que se incluye *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia mutila*, *D. seriata*, *Dothiorella iberica*, *Lasiodiplodia citricola*, *Neofusicoccum mediterraneum*, *N. nonquaesitum*, *N. parvum*, *N. vitifusiforme* y *Neoscytalidium dimidiatum*. Sin embargo, también

describió a dos especies de la familia Diaporthaceae incluyendo *Diaporthe neotheicola* y *D. rhusicola*. De la misma forma, en España, varias especies de la familia Botryosphaeriaceae como *B. dothidea*, *Diplodia seriata*, *Dothiorella sarmentorum*, *Dothiorella* spp., *Neofusicoccum mediterraneum*, y *N. parvum*, han sido descritas causando canchros y muerte regresiva de brazos (López-Moral et al., 2020).

En este sentido, en Chile se describió a la especie *D. mutila* causando la muerte de brazos en nogales en la Región del Maule en una incidencia entre 5 y 20% (Díaz et al., 2018). Actualmente, se ha observado un incremento en la prevalencia de la enfermedad en nogales comerciales de la Región del Maule, siendo una preocupación para los productores. Las especies se identificaron mediante las características de crecimiento de las colonias, formas y tamaño de conidias e identificación molecular usando tres genes (ITS, BT y FE). Recientemente se ha descrito a *Dothiorella sarmentorum* asociados a muerte de ramillas en nogales de la Región del Maule (**Figura 2.3**)

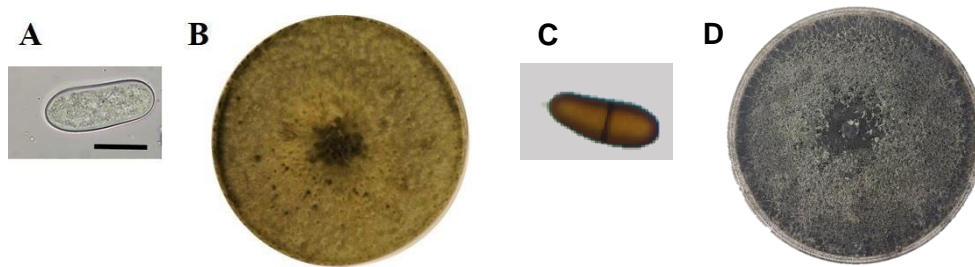


Figura 2.3. Características morfológicas y culturales de Botryosphaeriaceae causando canchros y muerte regresiva de brazos en nogales en la Región del Maule. Conidia (A) y cultivo en APD (B) de *Diplodia mutila*. Conidia y cultivo en APD de *Dothiorella sarmentorum*.

Los síntomas en plantas de nogales afectadas por Botryosphaeriaceae incluyen muerte en brazos y ramillas de plantas jóvenes y adultas, muerte de yemas y brotes, por necrosamiento de la madera con una coloración pardo claro a pardo oscuro (**Figura 2.4, 2.5 y 2.6**). Externamente desarrollan canchros alargados de pardo a naranjado, seguido por una gran aparición de picnidios negros en la corteza afectada (Latorre y Toledo, 1984, Sutton et al., 2014; Pinilla, 2013). En Chile se describió a la especie *D. mutila* y *Do. sarmentorum* causando la muerte de brazos en nogales en la Región del Maule (Díaz et al., 2018).

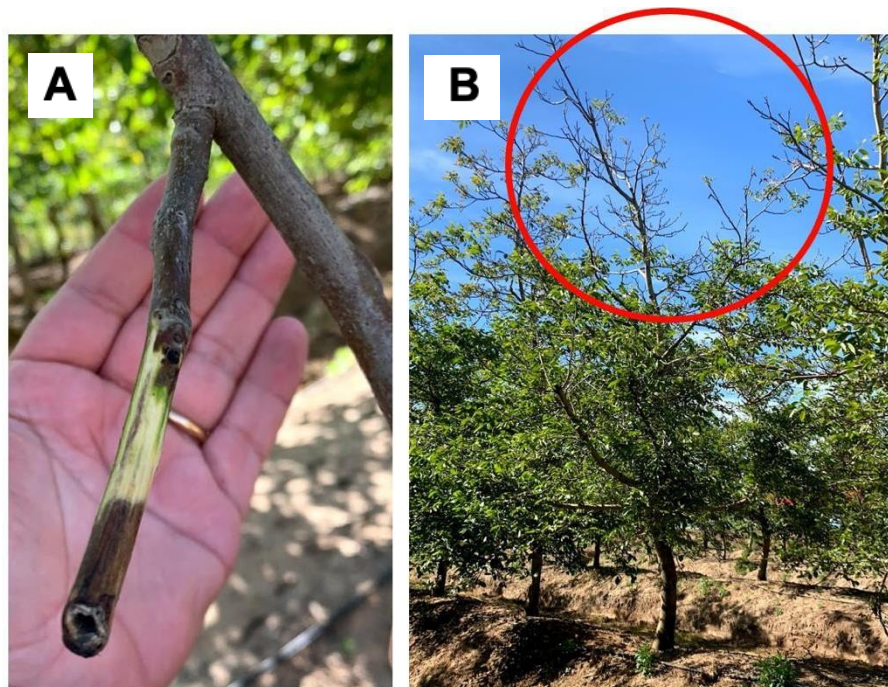


Figura 2.4. Muerte regresiva en nogales. Ramillas mostrando síntoma de necrosis de la madera de las ramillas, desde la herida de poda (**A**). Árbol con muerte regresiva, con menor desarrollo de brotes, por presencia de ramillas con muerte parcial (**B**). Fotos de Gonzalo Díaz.

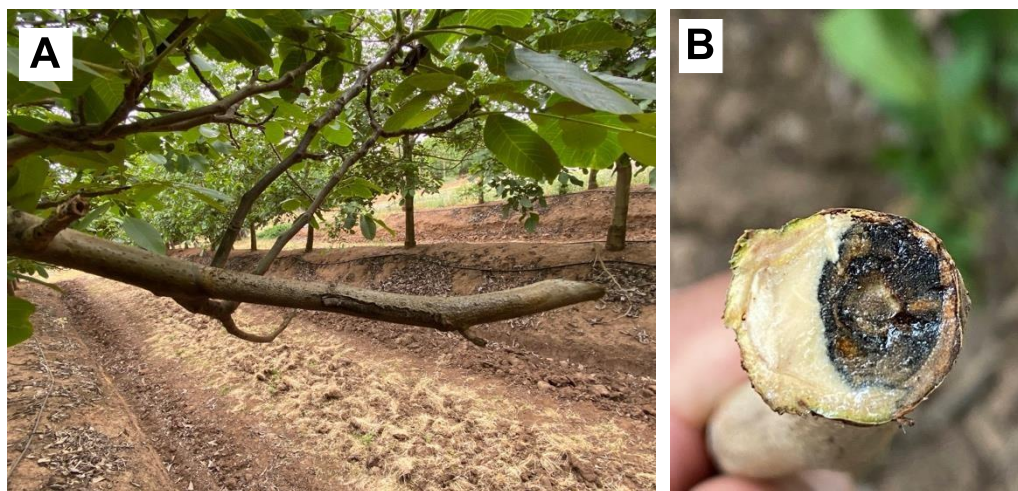


Figura 2.5. Muerte regresiva de ramilla de nogal cv. Chandler de plantación adulta de 12 años en Longaví, Región del Maule. Cancro y muerte de ramilla con presencia de picnidios (**A**). Corte transversal de ramillas con muerte mostrando necrosis sectorial de la madera (**B**). Fotos de Gonzalo Díaz.

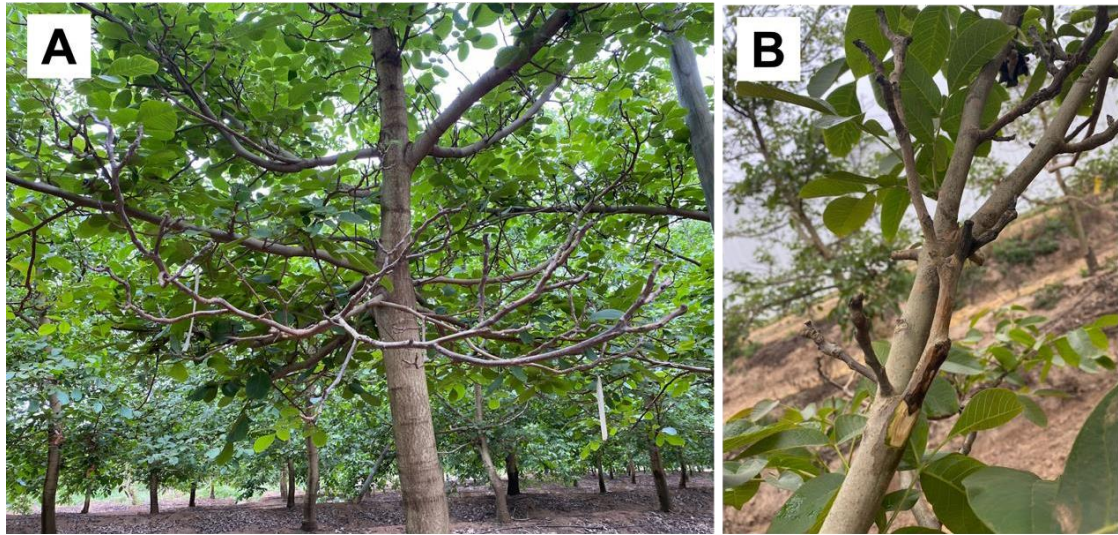


Figura 2.6. Muerte regresiva de nogal cv. Chandler de plantación adulta de 12 años en Longaví, Región del Maule. Planta mostrando brazos y múltiples ramillas con muerte **(A)**. Muerte de ramillas y necrosis de la madera **(B)**. Gonzalo Díaz.

Las especies de Botryosphaeriaceae también pueden causar atizonamiento de brotes, flores y frutos en arboles de nogales, generando problemas adicionales **(Figura 2.7)** (Chen et al., 2014; Eichmeier et al., 2020; López-Moral et al., 2020; Moral et al., 2019a). Este fenómeno es muy común en pistachos y almendros en la zona de California, E.E.U.U. donde las especies atacan inflorescencias y frutos (Moral et al., 2019a). En nogales se han determinado como potenciales fuentes de inóculo a los frutos y ramillas que se encuentran en el suelo **(Figura 2.8)** (Moral et al., 2019a).



Figura 2.7. Atizonamiento de brote y frutos afectados por Botryosphaeriaceae como *N. mediterraneum* en huerto de nogal en California, E.E.U.U (Moral et al., 2019).



Figura 2.8. Muerte regresiva en ramillas (A) de nogal cv. Chandler con formación de picnidios (B) como restos de poda (fuentes de inóculo) en huerto comerciales de la Región del Maule. Fotos de Gonzalo Díaz.

También se ha descrito a las especies *D. seriata* (= *Botryosphaeria obtusa*) y *D. mutila* asociadas a la pudrición negra de la manzana (=Black rot) durante precosecha de frutos en la Región de Maule (**Figura 2.9**) (Cáceres et al., 2016; Díaz et al., 2019a). Estos frutos cuando no son cosechados quedan en los árboles de manzano como también en el suelo del huerto, de esta forma pueden ser potenciales fuentes de inóculo (**Figura 2.9**),



Figura 2.9. Frutos de manzanos con pudrición negra causada por *Diplodia seriata* y *D. mutila* en Chile. Frutos con síntomas de pudrición negra 15 días antes de cosecha. Fruto momificado en el árbol con pudrición negra como potenciales fuentes de inóculo en manzanos (Díaz et al., 2019a).

Además, se han identificado *D. seriata*, *D. mutila*, *B. dothidea* y *Spencermartinsia viticola* causando canchales y muerte regresiva, en viñedos para vino y para uva de mesa (Morales et al., 2012; Díaz et al., 2013). Otros hospederos, donde se han descrito a *N. arbuti*, *N. australe* y *N. parvum* causando muerte regresiva es en plantaciones de arándanos (Espinoza et al., 2009). La muerte regresiva en ramillas (*Vaccinium corymbosum* L.) es una enfermedad de amplia distribución mundial y de creciente importancia en Chile, asociada a la especie *Neofusicoccum* (Díaz, 2012; Chou 1987).



Figura 2.1. Ramilla de arándano cv. Duke mostrando muerte regresiva asociados a Botryosphaeriaceae spp. en un campo comercial de plantación de 10 años de edad en Linares, Región del Maule. Foto de Gonzalo Díaz.

La alta incidencia de muerte regresiva reportada no solo en nogales (Díaz et al., 2018), sino que es un problema más amplio que afecta a varios hospederos frutales como manzanos (Díaz et al., 2019), vides (Morales et al., 2012; Díaz et al., 2013) y arándanos (Espinoza et al., 2009), ratifican que es una enfermedad que ataca a varios hospederos frutales, sino que además que estas especies frutales se cultiven en forma conjunta en un mismo huerto o en las cercanías como ocurre en la zona central de Chile, es posible que ocurra infecciones cruzada por especies de Botryosphaeriaceae entre estos hospederos frutales, siendo potenciales fuentes de inóculo entre los frutales. En la actualidad no existe evidencia o literatura sobre la posible infección cruzada asociada a especies de Botryosphaeriaceae en diferentes especies frutales en Chile.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del ensayo

Este estudio se llevó a cabo bajo condiciones de campo y laboratorio. La ubicación del huerto en el que se realizó la investigación fue en Fundo San Cayetano S/N, San Rafael, Región del Maule y el estudio de invernadero se llevó a cabo en el Laboratorio de Patología Frutal, adscrito a la Facultad de Ciencias Agrarias, ubicado en el Campus Talca de la Universidad de Talca, Avenida Lircay S/N, Talca, Chile.

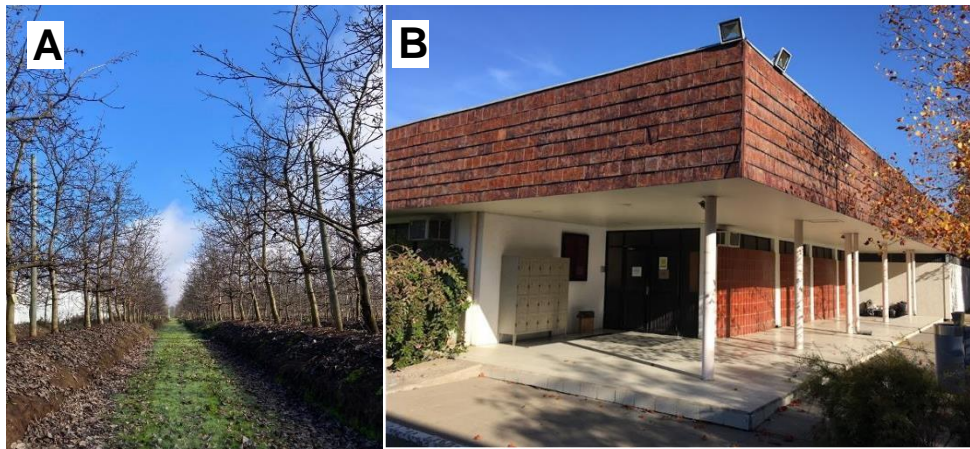


Figura 3.1. Zona del estudio de campo, Fundo San Cayetano (A) y Laboratorio Patología Frutal, Universidad de Talca (B).

3.2 Aislados fungosos e inóculo

Para la preparación del inóculo, se utilizaron cultivos puros de 10 aislados de especies de Botryosphaeriaceae que fueron obtenidos desde arándanos, kiwis, nogales, vid, y manzanos, con muerte regresiva (**Cuadro 3.1**). Los cultivos utilizados fueron de 15 días de edad en medio de cultivo agar-papa-dextrosa (APD, 2%) de placas de Petri estériles de 88-mm de diámetro, fueron incubados a temperatura ambiente (22 °C) bajo un régimen de luz/noche (12h/12h) (**Figura 3.1**). A cada placa con crecimiento micelial y presencia de picnidios, se le agregó 3 mL de una mezcla de agua + Tween 80 (0,1%). Se raspó suavemente sobre la placa de Petri con un bisturí estéril en reiteradas veces liberando micelio. Después se agregó a una trituradora fina, obteniendo suspensiones de miceliales, las cuales fueron filtradas en gasa estéril, obteniendo suspensiones homogéneas. Estas suspensiones se ajustaron a una concentración de suspensión de fragmentos de micelio de 10^6 fragmentos/mL, utilizando un

hemacitometro. Las suspensiones se prepararon 12 horas previas y fueron mantenidas a 4°C, hasta su utilización en la inoculación de estacas o ramillas de nogal.

Cuadro 3.1. Especies de Botryosphaeriaceae, *Lasiodiplodia theobromae*, *Diplodia mutila*, *D. seriata*, *Neofusicoccum arbuti* y *N. parvum* obtenidos desde hospederos frutales con muerte regresiva en la Región del Maule.

Especie	Hospedero	Localidad
1. <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (LT-Mz)	Manzano	Los Niches
2. <i>Diplodia seriata</i> (DS-Mz)	Manzano	Molina
3. <i>Neofusicoccum arbuti</i> (NA-Mz)	Manzano	Parral
4. <i>Diplodia mutila</i> (DM-Mz)	Manzano	Talca
5. <i>Diplodia seriata</i> (DS-Vid)	Vid	San Clemente
6. <i>Neofusicoccum parvum</i> (NP-Vid)	Vid	Curicó
7. <i>Neofusicoccum parvum</i> (NP-Ara-1)	Arándano	Longaví
8. <i>Neofusicoccum parvum</i> (NP-Ara-2)	Arándano	Linares
9. <i>Diplodia mutila</i> (DM-Nog)	Nogal	Parral
10. <i>Neofusicoccum parvum</i> (NP-Nog)	Nogal	San Rafael

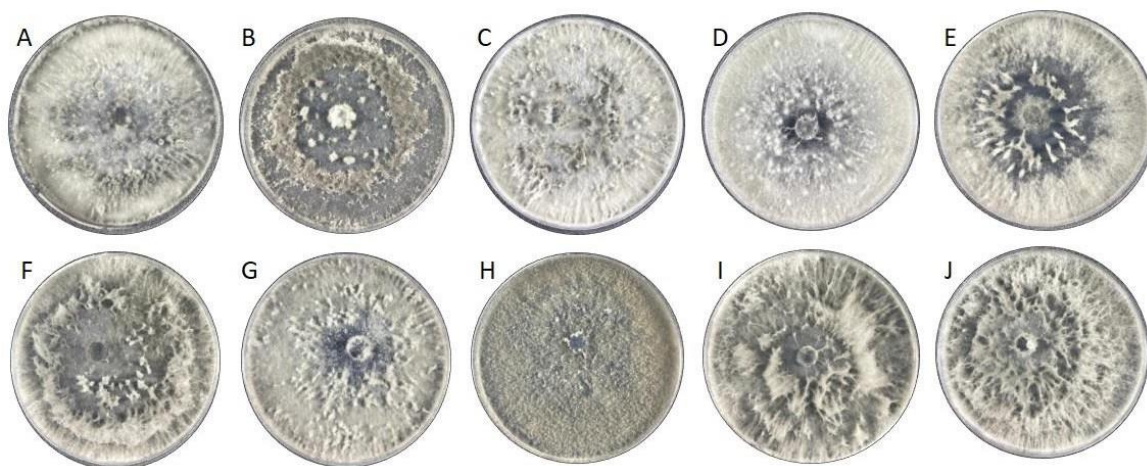


Figura 3.1. Aislados de especies de Botryosphaeriaceae utilizados en el estudio de 15 días de edad en medio APD incubados a 22°. *Lasiodiplodia theobromae* (LT-Mz) (A). *Diplodia seriata* (DS-Mz) (B), *Neofusicoccum arbuti* (NA-Mz) (C), *D. mutila* (DM-Mz) (D), *D. seriata* (DS-Vid) (E), *Neofusicoccum N. parvum* (NP-Vid) (F), *N. parvum* (NP-Ara-1) (G), *N. parvum* (NP-Ara-2) (H), *Diplodia mutila* (DM-Nog) (I), *Neofusicoccum parvum* (NP-nog) (J) C.

3.3 Inoculación de estacas de nogal en condiciones de laboratorio

En la inoculación de estacas se utilizaron los 10 aislados de Botryosphaeriaceae spp. (**Figura 3.1**). Para este ensayo se seleccionaron ramillas aparentemente sanas, las cuales se obtuvieron desde un huerto comercial de nogales cv. Chandler (10 años), en San Rafael, Región del Maule. Estas ramillas lignificadas y dormantes, se podaron manualmente con el uso de tijera Felco 5 (Flisch group, Suiza), desde su zona basal en junio (n= 520) con una longitud de 50 cm. Posteriormente se llevaron al laboratorio. 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 con perlita húmeda. Las estacas fueron sumergidas en la zona basal (3 cm) en un enraizante (Anasac, Chile). Una vez ordenadas las estacas, se mantuvieron a una temperatura constante de 18-22°C con régimen de luz (12h/12h) con una humedad de 85% en invernadero. Inmediatamente después, cada herida de poda se inoculó con 100 uL de una suspensión de fragmentos de micelio (10^6 fragmentos/mL) de cada aislado. En el caso del tratamiento testigo, se utilizó 100 uL de agua destilada estéril (tratamiento negativo) (**Cuadro 3.1**). Luego se procedió a proteger con film plástico (parafilm) cada herida. Después de 4 meses de incubación, se procedió 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, E.E.U.U). Se realizó un re-aislamiento de cada ramilla en medio APD para confirmar que el daño observado fue provocado por el hongo inoculado.

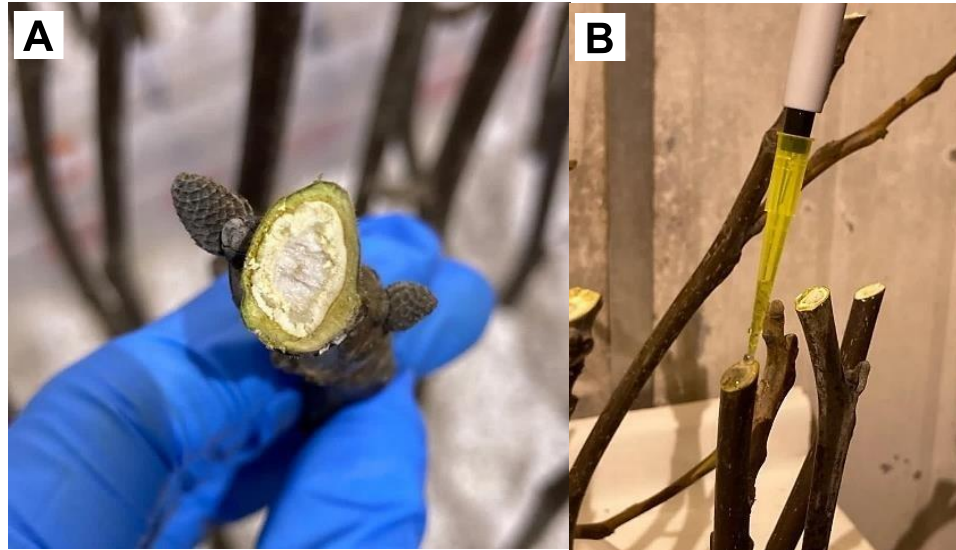


Figura 3.2. Inoculación de estacas de nogales cv. Chandler con suspensión de micelio de *Botryosphaeriaceae* spp. en condiciones de laboratorio. Ramilla con herida de poda fresca (A). Inoculación de la herida de poda en estacas de nogal (B)

3.4 Inoculación de ramillas de nogal en condiciones de campo

Para la inoculación de ramillas en condiciones de campo, la poda se realizó de forma manual usando tijera de podar con un corte de bisel, dejando una ramilla de al menos 20-30 cm de longitud. De inmediato se inoculó cada ramilla con 100 uL de una suspensión de conidios/micelio de cada aislado. 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 (mm) de las ramillas utilizando un calibrador digital Vernier (serie 500 Absolute digimatic, Mitutoyo America Corporation). Se realizó un re-aislamiento de cada ramilla en medio APD para confirmar que el daño observado fue provocado por el hongo inoculado.

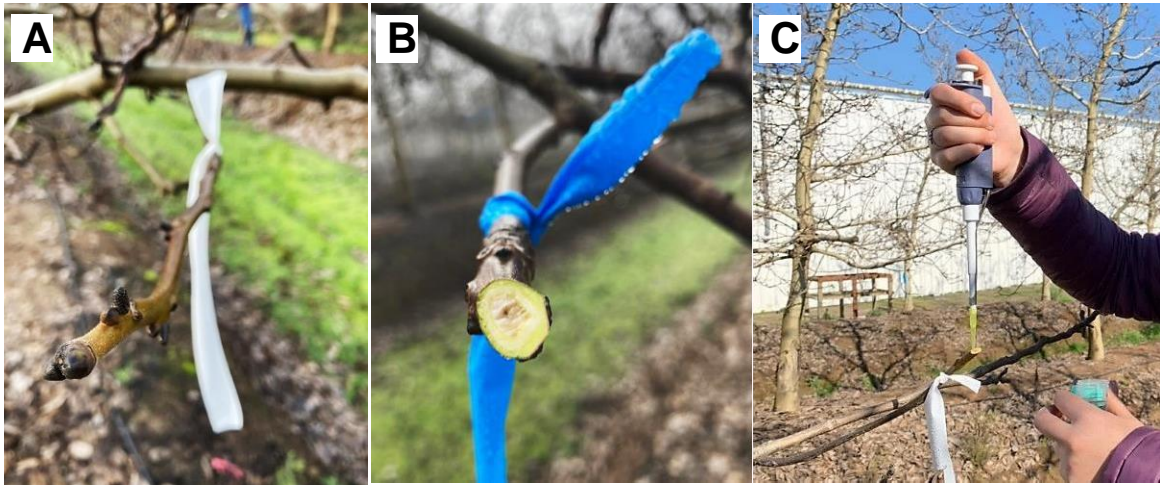


Figura 3.3. Inoculación de ramillas de nogal cv. Chandler con suspensión de fragmentos de micelio (10^6 fragmentos/mL) de *Botryosphaeriaceae* spp. en condiciones de campo, en San Rafael, Región del Maule. Ramillas en receso (A). Ramilla con herida de poda fresca (B). Inoculación de la herida de poda en ramillas de nogal (C).

3.4 Diseño experimental y análisis estadístico en condiciones de laboratorio y campo

Su utilizó un diseño completamente al azar (DCA) en condiciones de laboratorio. La unidad experimental correspondió a 10 ramillas, empleando 4 repeticiones. Los promedios de las lesiones necróticas de los 10 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 condiciones de campo se utilizó un diseño de bloques completamente al azar (DBA). La unidad experimental correspondió a 9 ramillas/árbol, empleando 5 repeticiones. Los promedios de las lesiones necróticas de los 10 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. 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

Después de 4 meses de incubación en condiciones de invernadero, las estacas de nogal cv. Chandler brotaron y formaron sistema radical, mostrando la viabilidad de las estacas formadas. Las estacas inoculadas con los 10 aislados de especies de la familia Botryosphaeriaceae, desarrollaron lesiones necróticas de color café oscuro desde la zona infectada hacia la base de las estacas (**Figura 4.1**).



Figura 4.1. Estacas de nogal cv. Chandler con lesiones necróticas provocadas por *Botryosphaeriaceae* spp. en condiciones de laboratorio. Estacas mostrando cancro y necrosis (**A**). Ramilla mostrando necrosis del tejido desde la zona de inoculación (**B**).

El promedio de la lesión en milímetros en las ramillas de nogal según los aislados fue el siguiente, en *Lasiodiplodia theobromae* (LT-Mz) 11,6 mm, *Diplodia mutila* (DM-Mz) 15,5mm, *Diplodia seriata* (DS-Vid) 16,5mm, *Diplodia seriata* (DS-Mz) 18,3mm, *Neofusicoccum parvum* (NP-Vid) 28,5mm, *Neofusicoccum parvum* (NP-Ara-2) 36,1mm, *Diplodia mutila* (DM-Nog) 37,8mm, *Neofusicoccum parvum* (NP-Ara-1) 37,9mm, *Neofusicoccum arbuti* (NA-Mz) 45,2mm y *Neofusicoccum parvum* (NP-nog) 55,5 mm (**Figuras 4.1 y 4.2**).

Basados en análisis estadístico, se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los promedios ($P=0,0001$) de largo de lesión (mm), donde las especies de Botryosphaeriaceae como *N. parvum* (aislados vid, arándano y nogal), *N. arbuti* (aislado manzano) y *D. mutila* (aislado nogal) fueron los más agresivos y diferentes estadísticamente

que el resto, incluyendo al testigo (**Cuadro 4.1 y Figura 4.2**). Las estacas inoculadas con tratamiento testigo (agua) fueron similares estadísticamente a las lesiones causadas por *D. seriata* (aislados vid y manzano) y *D. mutila* (aislado manzano).

Cuadro 4.1. Análisis de varianza para largo de lesión (mm) por especies de Botryosphaeriaceae cultivadas en laboratorio (algo así)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	9526,12	10	952,612	46,98	0,0001
Intra grupos	669,179	33	20,2781		
Total (Corr.)	10195,3	43			

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de largo de lesión (mm) entre un nivel de tratamiento y otro, con un nivel del 95,0% de confianza.

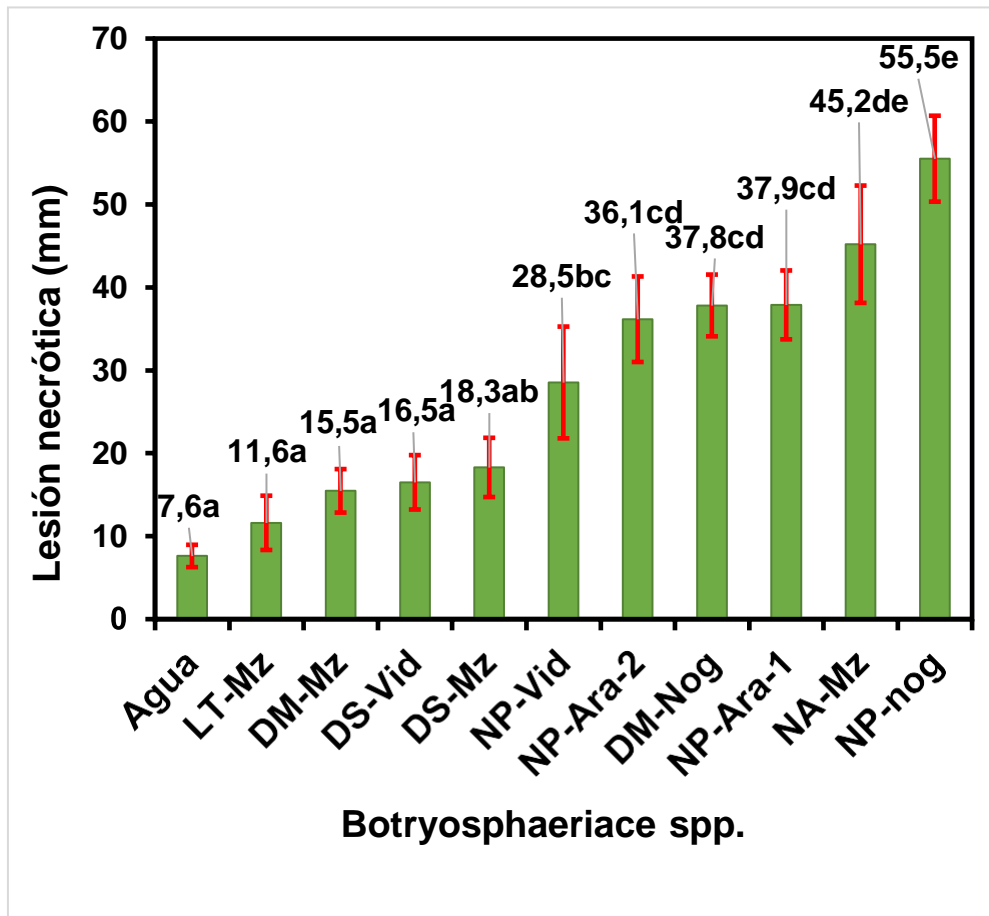


Figura 4.2. Promedio de lesiones necróticas en estacas de nogal cv. Chandler, en condición de invernadero después de 4 meses de inoculadas con cultivo de las diferentes especies de Botryosphaeriaceae.

Cuadro 4.1. Lesión necrótica en estacas de nogal cv. Chandler (diez años) de los 10 aislados de Botryosphaeriaceae, después de 4 meses de incubación en condiciones de invernadero

Tratamiento	Promedio de lesión necrótica (mm)	Prueba Tukey
Testigo (Agua)	7,6	a
<i>L. theobromae</i> (LT-Mz)	11,6	a
<i>D. mutila</i> (DM-Mz)	15,5	a
<i>D. seriata</i> (DS-Vid)	16,5	a
<i>D. seriata</i> (DS-Mz)	18,3	ab
<i>N. parvum</i> (NP-Vid)	28,5	bc
<i>N. parvum</i> (NP-Ara-2)	36,1	cd
<i>D. mutila</i> (DM-Nog)	37,8	cd
<i>N. parvum</i> (NP-Ara-1)	37,9	cd
<i>N. arbuti</i> (NA-Mz)	45,2	de
<i>N. parvum</i> (NP-nog)	55,5	e

*Promedios seguidos por la misma letra minúscula en columna no difirieren significativamente según la prueba de rango múltiple de Tukey ($P < 0,05$).

De acuerdo con los diferentes reaislamientos, todas las especies y aislados fueron exitosamente re-aislados desde las lesiones de ramillas. Esto confirma la presencia e identificación de cada especie y aislado, que fue inoculada inicialmente. En caso contrario, el tratamiento testigo fue negativo a los re-aislamientos.

4.2 Lesiones necróticas en ramillas inoculadas en condición de campo

En condiciones de huerto, después de 8 meses de incubación, todas las ramillas de nogal cv. Chandler rompieron la dormancia y brotaron en donde las ramillas inoculadas con los aislados de especies de Botryosphaeriaceae, desarrollaron lesiones necróticas visibles de color pardo oscuro en la madera desde la herida de poda hacia la base de la ramilla (**Figura 4.3**).



Figura 4.3. Ramillas de nogal cv. Chandler con lesiones necróticas visibles provocadas por *Neofusicoccum parvum* (NP-nog) (A) y *Neofusicoccum arbuti* (NA-Mz) (B) en condiciones decampo.

El promedio de la lesión en milímetros en las ramillas de nogal según los aislados fue, en *Lasiodiplodia theobromae* (LT-Mz) 18,2 mm, *Diplodia mutila* (DM-Mz) 26,9mm, *Diplodia seriata* (DS-Vid) 29,2mm, *Diplodia seriata* (DS-Mz) 39,8mm, *Diplodia mutila* (DM-Nog) 70,2 mm *Neofusicoccum parvum* (NP-Vid) 72,2mm, *N. parvum* (NP-Ara-1) 76,9mm, *N. parvum* (NP-Ara-2) 83,5mm, *N. arbuti* (NA-Mz)114,6 mm y *N. parvum* (NP-nog) 131,5 mm (**Figura 4.4**).

Basado en análisis estadístico, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los promedios ($P=0,00001$) de largo de lesión (mm), donde las especies de Botryosphaeriaceae como *Neofusicoccum parvum* (aislados vid, arándano y nogal), *N. arbuti* (aislado manzano) y *Diplodia mutila* (aislado nogal) fueron los más agresivos y diferentes estadísticamente que el resto, incluyendo al testigo (**Cuadro 4.2 y Figura 4.4**). Las ramillas inoculadas con *D. seriata* (aislados vid y manzano), *D. mutila* (aislado manzano) y *Lasiodiplodia theobromae* (aislado manzano), fueron los menos agresivos y diferentes estadísticamente, siendo *L. theobromae* (aislado manzano) el menos virulento.

Cuadro 4.2. Análisis de Varianza para SQRT Largo de lesión (mm) - Suma de Cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: tratamiento	345,347	10	34,5347	167,87	0,0001
B: bloque	0,484303	4	0,121076	0,59	0,6728
Residuos	8,22867	40	0,205717		
Total (corregido)	354,06	54			

*Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de largo de lesión (mm) entre un nivel de tratamiento y otro, con un nivel del 95,0% de confianza.

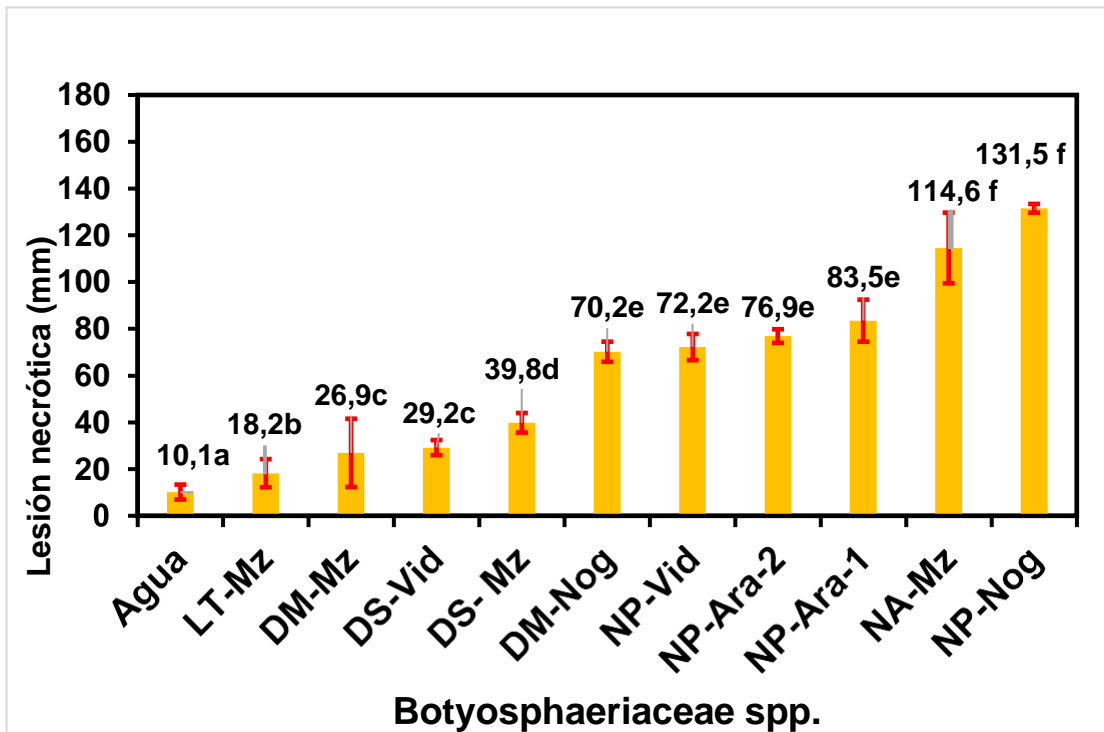


Figura 4.4. Promedio de lesiones necróticas en ramillas de nogal cv. Chandler inoculadas con especies de Botryosphaeriaceae, después de 8 meses en condición de campo en San Rafael, Región del Maule.

Cuadro 4.2.2 Lesión necrótica en ramillas de nogal cv. Chandler (diez años) de los 10 aislados de Botryosphaeriaceae, después de 8 meses de incubación en condiciones de campo.

Tratamiento	Promedio de lesión	
	necrótica (mm)	Prueba Tukey
Testigo (Agua)	10,1,	a
<i>L. theobromae</i> (LT-Mz)	18,2	b
<i>D. mutila</i> (DM-Mz)	26,9	c
<i>D. seriata</i> (DS-Vid)	29,2	c
<i>D. seriata</i> (DS-Mz)	39,8	d
<i>D. mutila</i> (DM-Nog)	70,2	e
<i>N. parvum</i> (NP-Vid)	72,2	e
<i>N. parvum</i> (NP-Ara-2)	76,9	e
<i>N. parvum</i> (NP-Ara-1)	83,5	e
<i>N. arbuti</i> (NA-Mz)	114,6	f
<i>N. parvum</i> (NP-nog)	131,5	f

*Promedios seguidos por la misma letra minúscula en columna no difirieren significativamente según la prueba de rango múltiple de Tukey ($P < 0,05$).

De acuerdo con los diferentes re-aislamientos, todas las especies y aislados fueron exitosamente re-aislados (100%) desde las lesiones de ramillas (**Figura 4.4.**). Esto confirma la presencia e identificación de cada especie y aislado, que fue inoculada inicialmente, basados es aspectos de la colonia y morfológicos (**Figura4.5.**).

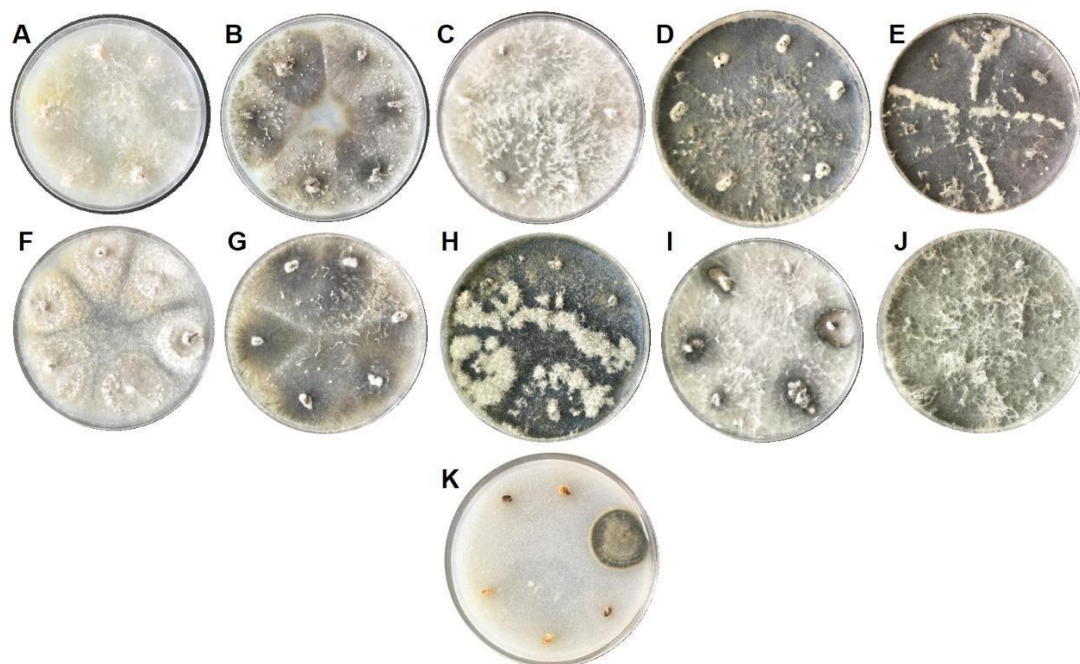


Figura 4.5. Reaislamiento de ramillas inoculadas con Botryosphaeriaceae spp. en medio de cultivo APD (2%) después de 7 días de incubación a 20°C. *Lasiodiplodia theobromae* (LT-Mz) (A), *Diplodia seriata* (DS-Mz) (B), *Neofusicoccum arbuti* (NA-Mz) (C), *D. mutila* (DM-Mz) (D), *D. seriata* (DS-Vid) (E), *Neofusicoccum N. parvum* (NP-Vid) (F), *N. parvum* (NP-Ara-1) (G), *N. parvum* (NP-Ara-2) (H), *Diplodia mutila* (DM-Nog) (I), *Neofusicoccum parvum* (NP-nog) (J), Testigo (K).

5. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se estudió y demostró la capacidad de diferentes aislados de especies de Botryosphaeriaceae obtenidos desde distintos hospederos frutales, de infectar y causar lesiones necróticas en estacas y ramillas de nogales cv. Chandler. Este trabajo constituye el primer estudio sobre virulencia de Botryosphaeriaceae de diferentes hospederos en Chile.

Los hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae se han descrito como organismos endófitos o patógenos oportunistas asociados con condiciones de estrés (Denman et al. 2000; Zapatillas y Wingfield 2007). Las especies de Botryosphaeriaceae constituyen un grupo grande y diverso de hongos que se sabe que infectan a hospederos leñosos en todo el mundo. Varios son los estudios que se han realizado en diversos países que han descrito a la familia Botryosphaeriaceae ocasionando canchros, muerte de brazos y muerte de plantas en diferentes cultivos (Cunnington et al., 2007; Moreira et al., 2021), frutales como vides (Carlucci et al., 2015; Gramaje et al., 2016), arándanos (Hilario et al., 2020), manzanos (Delgado-Cerrone et al., 2016; Sessa et al., 2017), paltos (Guarnaccia et al., 2016), y en frutales de frutos secos como almendro (Olmo et al., 2016) y pistachos (Chen et al., 2014b; Nouri et al., 2019).

En cuanto a la etiología de la muerte regresiva en nogales, en diferentes trabajos realizados en Irán, España, Corea del Sur, República Checa, Italia y California (E.E.U.U.), se han identificado a varias especies de la familia Botryosphaeriaceae incluyendo a *B.dothidea*, *Diplodia* (*D. mutila*, *D. seriata*, *Do. viticola*, *Do. sarmentorum*, *Do. iberica*, *Do. omnivora*, *N. parvum*, *N. mediterraneum*, *N. nonquaesitum*, *N. vitifusiforme*) (Trouillas et al., 2010; Cheon et al., 2013; Chen et al., 2014; Moral et al., 2019; Lopez-Moral et al., 2020; Sohrabi et al., 2020; Gusella et al., 2020). En este sentido, en Chile se ha descrito la especie *Diplodia mutila* causando muerte regresiva en la Región del Maule (Díaz et al., 2018), pero recientemente se describieron adicionalmente a *D. seriata* y *N. parvum* (Luna et al., 2022). Sin embargo, en este último trabajo, se encontraron otros agentes causales, como especies de *Diaporthe*, asociados a la muerte de ramillas y brazos de nogales, coincidiendo con estudios previos donde han descrito a Diaporthaceae causando muerte en nogales en California y España (Chen et al., 2014; López-Moral et al., 2020), como también en otros hospederos frutales como kiwi (Díaz et al., 2021) y arándano (Elfar et al., 2013).

Basado en los resultados obtenidos en el presente estudio tanto en condición de campo como en invernadero, se determinó que las especies de Botryosphaeriaceae, *Neofusicoccum arbuti* (NA-Mz) provenientes de manzano y tres aislados de *N. parvum* (NP-Nog) provenientes de nogal, (NP-Vid) vid y (NP-Ara) arándano, son especies muy virulentas causando necrosis y muerte regresiva en estacas y ramillas de nogal cv. Chandler. Por lo tanto, este estudio demuestra que las especies de *Neofusicoccum* son las más agresivas, coincidiendo con lo descrito en California y Corea por Trouillas et al. (2010) y Cheon et al., (2013) respectivamente, quienes determinaron a *N. parvum* como una de las especies más virulentas en nogales. Recientemente, Jiménez-Luna et al. (2022) declararon a la especie *N. parvum* como la más agresiva cuando la comparan con *D. mutila* y *D. seriata* causando canchros en nogales, pero todos los aislados fueron obtenidos desde nogal, concordando con los resultados obtenidos en el actual trabajo, donde *N. parvum* es muy agresiva. En este sentido, varios estudios han obtenido a la especie *N. parvum* como uno de los patógenos de la madera más agresivos para muchos cultivos (Inderbitzin et al., 2010; Chen et al., 2014; López-Moral et al., 2020), pistachos (Holland et al., 2021), palto (McDonald et al., 2009) y cítricos (Adesemoye y Eskalen, 2011) y vides (Díaz et al., 2013).

Los resultados mostraron a *D. mutila* del nogal como un patógeno virulento y a *D. seriata* como moderadamente virulento, similar a lo obtenido en España (López Moral et al., 2020). Precisamente este trabajo también reporta que *Diplodia seriata* y *D. mutila* presentó menor tamaño de lesiones necróticas en estacas y ramillas estudiadas en comparación con *N. parvum* que fue altamente virulento. Sin embargo, en el presente trabajo la especie que presentó una baja virulencia en condiciones de campo y laboratorio fue *Lasiodiplodia theobromae*. Es importante mencionar que *L. theobromae* es una especie de un ambiente subtropical a tropical, donde la temperatura juega un rol importante en su fisiología y su agresividad, siendo una especie agresiva en vides de México y EE.UU. (Gramaje et al., 2018) y arándanos en Perú (Rodríguez-Gálvez et al., 2020).

En Chile también se han aislado e identificado a Botryosphaeriaceae causando muerte regresiva en arándano (Espinoza et al., 2009), kiwi (Díaz et al., 2020), nogal (Díaz et al., 2013), limonero (Guajardo et al., 2018) y palto (Valencia et al., 2019), convirtiendo a estos frutales en posibles fuentes de inóculo para huertos de nogal que se pueden encontrar en las cercanías. Por ende, se debe considerar este aspecto para el manejo de enfermedades de canchros y muerte de frutales.

La infección de los huertos por Botryosphaeriaceae podrían atribuirse a las diferentes rutas de infección de estos hongos. Las infecciones pueden provenir inicialmente de materiales de vivero, como se ha informado en diferentes tipos de cultivos (Smit et al., 1996; Espinosa et al., 2013; Tennakoon et al., 2017), incluido el nogal (Chen et al., 2013b). Sin embargo, en infecciones de campo en un huerto nuevo (aparentemente limpio) lo más probable es que el inóculo se haya originado a partir de fuentes provenientes desde hospederos alternativos cultivados en las proximidades de los huertos de nogales. Por lo tanto, el presente trabajo es pionero en demostrar a especies de la familia Botryosphaeriaceae obtenidas desde otros hospederos frutales causando muerte regresiva, y provocar canchros y muerte regresiva en estacas y ramillas de nogales, donde las especies de *Neofusicoccum* fueron las más agresivas, sin importar su origen. Basados en el trabajo de Van Dyk et al., 2021, especies de la familia Botryosphaeriaceae asociadas a muerte en olivos europeos y silvestres, indicaron que los aislados obtenidos desde olivos europeos fueron más virulentos que los aislados obtenidos desde olivos silvestres, es decir desde los otros hospederos, coincidiendo con el presente estudio. Sin embargo, para el caso del hongo de la madera *Eutypa lata* fue lo contrario, siendo más agresivo el aislado obtenido desde olivos silvestres (Van Dyk et al., 2021). De este modo, los datos obtenidos en el presente trabajo de Van Dyk et al., 2021 nos evidencian que las especies más agresivas fueron los aislados obtenidos en el mismo hospedero como de otros hospederos.

El presente estudio constituye el primero a nivel nacional y mundial que demuestra infección en nogales por cultivos de especies de la familia Botryosphaeriaceae obtenidos desde diferentes hospederos frutales. Esto demuestra parcialmente la ocurrencia de infecciones cruzadas por Botryosphaeriaceae en huertos frutales que se encuentren en las cercanías y ser fuentes de inóculo. Esto concuerda con el trabajo de realizado en Sudáfrica por Mojeremane et al. (2020), quienes determinaron que los aislados de *N. australe* y *N. stellenboschiana* obtenidos desde diferentes hospederos como vides, ciruelos, manzanos, olivos y pimienta boliviana fueron capaces de causar lesiones en las mismas especies, variando la virulencia entre los aislados, y demuestran la capacidad de infección cruzada de Botryosphaeriaceae en diferentes especies frutales y ornamentales. Sin embargo, este último trabajo fue realizado en brotes de los hospederos, siendo que el problema ocurre en material lignificado (madera) de las especies frutales (Mojeremane et al., 2020).

El manejo integrado de enfermedades sigue siendo efectivo para prevenir y controlar los hongos causantes de enfermedades de la madera. La poda en tiempo seco, el manejo del tamaño del dosel permitiendo la ventilación y la exposición a la luz solar, y el mantenimiento

de bajas densidades de plantación de árboles son prácticas recomendadas para minimizar los riesgos y la gravedad de las infecciones (Moral et al., 2019a, 2019b). Además, se recomienda encarecidamente en la poda, la eliminación de los tejidos muertos e infectados que generalmente desarrollan picnidios), así como evitar el mojado excesivo de los troncos o las copas de los árboles hospederos para limitar la acumulación y dispersión del inóculo de Botryosphaeriaceae y prolongar la longevidad y productividad del cultivo, como se ha demostrado en los huertos de pistacho u viñedos (Michailides y Morgan 1993; Gispert et al., 2020).

La infección se inicia en las heridas de poda, primordialmente asociada a eventos de lluvias o riego por aspersión que ayudan a la dispersión del inóculo (conidias formadas en los picnidios de los tejidos enfermos), junto con el viento (Valencia et al., 2019; Michailides y Morgan 1993; Luo et al., 2020). Así, las conidias de Botryosphaeriaceae, una vez que llegan a las heridas de poda, pueden germinar e iniciar la colonización y posterior infección, desarrollando con los meses y años la necrosis y canchales que provocan los síntomas de muerte regresiva de ramillas y brazos en nogales (Moral et al., 2019a). Por lo tanto, proteger las heridas del hospedero con aplicaciones de fungicidas es la mejor estrategia disponible para prevenir las infecciones fúngicas, como se ha demostrado en otros patosistemas (Rolshausen et al., 2010; Díaz and Latorre, 2013). Actualmente en Chile se aplica azufre calcáreo en nogal para controlar el desarrollo de Botryosphaeriaceae.

En el manejo de enfermedades de la madera como la muerte regresiva de especies frutales que incluyen entre sus hospederos a vides, arándanos, manzanos y nogales, asociadas a hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae requieren de conocer aspectos epidemiológicos de la enfermedad para poder planificar la mejor estrategia en el manejo y control, como el conocimiento de las fuentes de inóculo y las vías de infección en las plantas frutales.

6 CONCLUSIONES

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

Tanto en estacas como en ramillas de nogal cv. Chandler, las especies *Neofusicoccum parvum* (aislados vid, arándano y nogal), *N. arbuti* (aislado manzano) y *D. mutila* (aislado nogal) fueron los más agresivos.

Finalmente, se rechaza la hipótesis, porque las especies más agresivas incluyen Botryosphaeriaceae de origen distinto al nogal.

7 CITAS BIBLIOGRAFICAS

Acuña, R. (2010). Compendio de bacterias y hongos de frutales y vides de Chile. Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). [En línea] Recuperado en: <https://biblioteca.sag.gob.cl/DataFiles/60-2.pdf> Consultado el 9 de Junio de 2021.

Adesemoye A.O., Eskalen A., 2011. First report of *Spencermartinsia viticola*, *Neofusicoccum australe*, and *N. parvum* causing branch canker of citrus in California. Plant Disease 95: 770.

Aletà, N. 2002. Frutales de nuez: mercado y tecnología. [En línea] Recuperado en: <http://bibliotecadigital.ciren.cl/handle/123456789/28641> Consultado el 8 de Junio de 2021.

Auger J., Esterio M., Ricke G., Pérez I., 2004. Black dead arm and basal canker of *Vitis vinifera* cv. Red Globe caused by *Botryosphaeria obtusa* in Chile. Plant Disease 88: 1286.

Barriga, C. 1991. Nueces y Almendras situación actual y perspectivas Corporación de Fomento de la Producción (CORFO). Santiago, Chile. 112p.

Besoain, X., Guajardo, J., Larach, A 2019. Manual Técnico. Manejo integrado para el control de especies de *Phytophthora* que afectan al nogal en Chile. FIA (Fundación para la Innovación Agraria) [En línea] Recuperado en: <http://bibliotecadigital.fia.cl/handle/20.500.11944/147833> . Consultado el 24 de abril de 2021.

Bravo, J 2012. Industria de frutos secos, evolución destacada y amplio potencial. ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). [En línea] Recuperado en: <https://www.odepa.gob.cl/odepaweb/publicaciones/doc/6788.pdf>. Consultado el 23 de abril de 2021.

Carlucci, A., Cibelli, F., Los, F., and Raimondo, M. 2015. Characterization of Botryosphaeriaceae Species as Causal Agents of Trunk Diseases on Grapevines. *Plant Disease*, 99:1678-1688.

Chen, S. F., Morgan, D. P., Hasey, J. K., Anderson, K., and Michailides, T. J. 2014. Phylogeny, morphology, distribution, and pathogenicity of Botryosphaeriaceae and Diaporthaceae from English walnut in California. *Plant Disease* 98:636-652.

Cheon, W., Kim, Y., Lee, S., Jeon, Y., and Chun, I. 2013. First Report of Branch Dieback of Walnut Caused by *Neofusicoccum parvum* in Korea. *Plant Disease* 97(8):1114-1114.

Chilenut. 2017. Nuez de nogal. [En línea] Recuperado en: <http://www.chilenut.cl/index.php?seccion=nuez-de-nogal>. Consultado el 8 de junio de 2021.

Chilenut. 2020. Manual de manejos productivos del nogal en Chile. [En línea] Recuperado en: <http://www.chilenut.cl/wp-content/uploads/2020/12/manual-final.pdf> . Consultado el 9 de junio de 2021.

Chou, C.K.S. 1987. Crown wilt of *Pinus radiata* associated with *Diplodia pinea* infection of woody stems. *European Journal of Forest Pathology* 17 (7): 398-411.

CIREN. (2019). Catastro frutícola Region Del Maule. [En línea] Recuperado en: <https://www.odepa.gob.cl/estadisticas-del-sector/catastros-fruticolas/catastro-fruticola-cirenodepa> Consultado el 06 de junio de 2021.

CIREN. (2020). Distribución de la superficie frutal detallado por variedad. [En línea] Recuperado en: <https://reportes.odepa.gob.cl/#/catastro-superficie-fruticola-regional> Consultado el 06 de junio de 2021.

CIREN (2020). Principales cultivos frutícolas del país, (Centro de información de Recursos Naturales). [En línea] Recuperado en:

http://bibliotecadigital.ciren.cl/bitstream/handle/123456789/31655/CIREN_Boletin_CEDOC_Septiembre2020.pdf?sequence=17&isAllowed=y . Consultado el 07 de junio de 2021.

Chilenut 2020 Manual de manejos productivos del nogal en Chile Chilenut [En línea] Recuperado en: <http://www.chilenut.cl/wp-content/uploads/2020/12/manual-final.pdf> Consultado el 9 de junio de 2021.

Cunnington, J. H., Priest, M. J., Powney, R. A., and Cother, N. J. 2007. Diversity of Botryosphaeria species on horticultural plants in Victoria and New South Wales. Australasian Plant Pathology 36: 157.

Denman, S., Crous, PW, Taylor, JE, Kang, JC, Pascoe, I. y Wingfield, M. J. 2000. Una descripción general de la historia taxonómica de Botryosphaeria, y una reevaluación de su anamorfo basada en la morfología y la filogenia del rDNA de ITS. Estudios en Micología, 45, 129-140.

Delgado-Cerrone, L., Mondino-Hintz, P., and Alaniz-Ferro, S. 2016. Botryosphaeriaceae species associated with stem canker, die-back and fruit rot on apple 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., Latorre, B.A., Ferrada, E.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 102:1451-1452.

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

Díaz, G. A., y Latorre, B. A. 2020. Cancrosis y muerte regresiva en manzanos: Etiología y aspectos epidemiológicos en Chile. *Revista frutícola* 43(3): 30-36.

Díaz, G.A., Zoffoli, J.P., Ferrada, E.E., and Lolas, M. 2021. Identification and Pathogenicity of *Diplodia*, *Neofusicoccum*, *Cadophora* and *Diaporthe* species associated with cordon dieback in kiwifruit cv. Hayward in central Chile. *Plant Disease* 105: 1308-1319.

Díaz G., Latorre B., Ferrada E., Lolas-Caneo M., 2019b. 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. doi: 10.1007/s10658- 018-01640-8.

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(8), 1042–1050.

Eichmeier A., Pecenka J., Spetik M., Necas T., Ondrasek I., Armengol J., León M., Berlanas C., and Gramaje D. 2020. Fungal trunk pathogens associated with *Juglans regia* in the Czech Republic. *Plant Disease* 104: 761-771.

Espinoza J., Briceño E., Chavez E., Úrbez-Torres J.R., Latorre B., 2009. *Neofusicoccum* spp. associated with stem canker and dieback of blueberry in Chile. *Plant Disease* 93: 1187–1194. doi: 10.1094/PDIS-93-11- 1187.

FIA (2017) Frutales de nuez. (Fundación para la Innovación Agraria), Ministerio de Agricultura. En línea] Recuperado en: <http://bibliotecadigital.fia.cl/bitstream/handle/20.500.11944/145878/Agenda%20frutales%20de%20nuez.pdf?sequence=1> Consultado el 7 de junio de 2021.

Gamaliel L.S., Valeria O.N., 2019. Redagrícola. Available at: <https://www.redagricola.com/cl/los-desafios-para-el-nogal-en-chile/>.

García, F. 2017 Nogales. [En línea] Recuperado en: <https://www.redagricola.com/cl/asesor-nogales-francisco-garcia-huidobro-clientes-producen-10-tonha-chandler/> Consultado el 7 de junio de 2021.

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.

Gispert C., Kaplan J.D., Deyett E., Rolshausen P.E., 2020. Long-term benefits of protecting table grape vineyards against trunk diseases in the California desert. *Agronomy* 10(12): 1895. doi: 10.3390/agronomy10121895

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

Guajardo, J., Riquelme, N., Tapia, L., Larach, A., Torres, C., Camps, R., and Besoain, X. 2018. First Report of *Lasiodiplodia theobromae* Causing Bot Gummosis in *Citrus limon* in Chile. *Plant Disease* 102(4), 818.

Guajardo, J., Saa, S., Riquelme, N., Browne, G., Youlton, C., Castro M., Besoain, X., 2019. Characterization of Oomycete species Associated with root and crown rot of English walnut in Chile. *Plant Disease* 103:691-696.

Guarnaccia, V., Martino, I., Tabone, G., Brondino, B., and Gullino, L. 2020. Fungal pathogens associated with stem blight and dieback of blueberry in northern Italy. *Phytopathologia Mediterranea* 59 (2), 229-245.

Gusella, G., Giambra, S., Conigliaro, G., Burrzano S., and Polizzi G., 2020. Botryosphaeriaceae species causing canker and dieback of English walnut (*Juglans regia*) in Italy. *Forest Pathology* 51. doi: 10.1111/efp.12661.

Hilário, S., Lopes, A., Santos, L., and Alves, A. 2020. Botryosphaeriaceae species associated with blueberry stem blight and dieback in the Centre Region of Portugal. *European Journal of Plant Pathology* 156: 31–44.

Holland L.A., Trouillas F.P., Nouri M.T., Lawrence D.P., Crespo M., ... Fichtner E.J., 2021. Fungal pathogens associated with canker diseases of almond in California. *Plant Disease* 105(2): 346–360. doi: 10.1094/ PDIS-10-19-2128-RE.

Ibacache G, Antonio y Rojas P, Nelson. 2002 Variedades de nogal [En línea]. Recuperado en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/4073> Consultado: 9 junio 2021.

Inderbitzin P., Bostock R.M., Trouillas F.P., Michailides T.J., 2010. A six-locus phylogeny reveals high species diversity in Botryosphaeriaceae from California almond. *Mycologia* 102: 1350–1368.

Jimenez Luna, I., Besoain, X., Saa, S., Peach-Fine, E., Cadiz Morales, F., Riquelme, N., Larach, A., Morales, J., Ezcurra, E., Ashworth, V.E. and Rolshausen, P.E. 2022. Identity and pathogenicity of Botryosphaeriaceae and Diaporthaceae from *Juglans regia* in Chile. *Phytopathologia Mediterranea*. 61: 79-94.

Larach A., Torres C., Riquelme N., Valenzuela M., Salgado E., Seeger M., Besoain X., 2020. Yield loss estimation and pathogen identification from Botryosphaeria dieback in vineyards of Central Chile over two growing seasons. *Phytopathologia Mediterranea* 59(3): 537–548. doi: 10.14601/Phyto-11235.

Latorre, B. 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.

Latorre, B. A., Díaz, G.A and y Reed, M.P. 2012. Effect water activity on in vitro micelial growth of *Neofusicoccum* spp. infecting blueberry. *Ciencia e Investigación Agraria* 39(1): 221-228.

Leiva, C., Schmidt, C., Gajardo, G., Rodríguez, A, (2017) Manual técnico productivo y económico bajo condición actual y clima proyectado al 2030. [En línea] Recuperado en: <http://bibliotecadigital.ciren.cl/handle/123456789/26663> Consultado el 8 de junio de 2021.

Lemus, G., Osorio, V. 2019, INIA Los desafíos para el nogal en Chile [En línea] Recuperado en: <https://www.redagricola.com/cl/los-desafios-para-el-nogal-en-chile/>. Consultado el 7 de junio de 2021.

Lemus, G. 2001. El nogal en Chile. Primera Edición. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA. Santiago, Chile. 224p. [En línea] Recuperado en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/3661> Consultado el 8 de junio de 2021.

Lemus, G., Ibacache, A., Pinilla, B. 2010. Producción de nueces de nogal FIA (Fundación para la Innovación Agraria) Chile [En línea] Recuperado en: <http://bibliotecadigital.fia.cl/handle/20.500.11944/2043> . Consultado el 7 de junio de 2021.

Loewe, V., Gozáles, M. 2001 Nogal común CIREN (Centro de información de Recursos Naturales) [En línea] Recuperado en: <http://bibliotecadigital.ciren.cl/bitstream/handle/123456789/26344/INFOR0022.pdf?sequence=2&isAllowed=y>. Consultado el 7 de junio de 2021.

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

Mendoza, G. 2020 Manual de manejos productivos del nogal en Chile Chilenut [En línea] Recuperado en: <http://www.chilenut.cl/wp-content/uploads/2020/12/manual-final.pdf> Consultado el 9 de junio de 2021.

Michailides T.J., and Morgan D.P. 1993. Spore release by *Botryosphaeria dothidea* in pistachio orchards and disease control by altering the trajectory angle of sprinklers. *Phytopathology* 83: 145–152.

Millar, J., y Lemus, G. 2020. Manual de manejos productivos del nogal en Chile Chilenut. [En línea] Recuperado en: <http://www.chilenut.cl/wp-content/uploads/2020/12/manual-final.pdf> . Consultado el 9 de junio 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., 2019a. Ecology and epidemiology of diseases of nut crops and olives diseases caused by Botryosphaeriaceae fungi in California and Spain. *Plant Disease* 103: 1809–1827.

Moral J., Morgan D., Michailides T.J., 2019b. Management of Botryosphaeria canker and blight diseases of temperate zone nut crops. *Crop Protection* 126: 104927. doi: 10.1016/j.cropro.2019.104927.

Morales, J., Muñoz, R., Súa, S. 2019. Manual Técnico. Manejo integrado para el control de especies de *Phytophthora* que afectan al nogal en Chile. FIA.(Fundación para la Innovación Agraria) [En línea] Recuperado en: <http://bibliotecadigital.fia.cl/handle/20.500.11944/147833> . Consultado el 25 de abril de 2021.

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

Moreira, A., Cedeño, V., Canchignia, F., and Garcés, R. 2021. *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon and Maubl [(syn.) *Botryodiplodia theobromae* Pat] in the cocoa crop: symptoms, biological cycle, and strategies management. *Scientia Agropecuaria* 12(4), 653–662.

Nouri M.T, Lawrence D.P., Holland L.A., Doll D.A., Kallsen C.E., Culumber C.M., and Trouillas F.P. 2019. Identification and pathogenicity of fungal species associated with canker diseases of pistachio in California. *Plant Disease* 103:2397-2411.

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). 2022. Estadísticas Productivas, Estadísticas de frutales. Superficie plantada nacional. [En línea] Recuperado en: <https://www.odepa.gob.cl/wpcontent/uploads/2022/03/CultivosAnualesHistorico10112117.03.2022.xls>. Consultado el 12 de junio de 2022.

Olmo D., Armengol J., León M., and Gramaje D. 2016. Characterization and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species isolated from almond trees on the Island of Mallorca (Spain). *Plant Disease* 100:2483-2491.

Pefaur, J. 2021. Boletín de fruta, abril 2021. ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). [En línea] Recuperado en: <https://www.odepa.gob.cl/publicaciones/boletines/boletin-de-fruta-abril-2021>. Consultado el 25 de abril de 2021.

Pefaur, J. 2021. Boletín de fruta, diciembre 2020. ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). [En línea] Recuperado en: <https://www.odepa.gob.cl/publicaciones/boletines/boletin-de-fruta-diciembre-2020> Consultado el 8 de junio de 2021.

Pefaur, J. 2022. Boletín de fruta, mayo 2022. ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). [En línea] Recuperado en: <https://www.odepa.gob.cl/publicaciones/boletines/boletin-de-fruta-mayo-2022> Consultado el 16 de Mayo de 2022.

Pinilla, B. 2013. Principales enfermedades de las Pomáceas. Boletín técnico 13 (5). Centro de Pomáceas. Universidad de Talca. Talca, Chile. Recuperado en: http://pomáceas.otalca.cl/wp-content/uploads/2016/06/Boletín_Tecnico_Mayo_2017.pdf. Consultado el 10 de junio de 2021.

Rodríguez y Galvez, E. 2003. Muerte regresiva del mango. Ed. Filmart Pueblo Libre-Lima. 28 pp.

Rondón, A. y Guevara, Y. 1984. Algunos aspectos relacionados con la muerte regresiva del aguacate (*Persea americana* Mill) Agronomía Tropical. 34(1-3): 119-129.

Sakalidis M., Slippers B., Wingfield B., Hardy G., Burgess T. 2013. The challenge of understanding the origin, pathways and extent of fungal invasions: global populations of the *Neofusicoccum parvum*-*N. ribis* species complex. Diversity and Distributions 19: 873– 883. doi: 10.1111/ddi.12030.

Sessa L., Abreo E., Bettucci L., 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.

Sohrabi, M., Mohammadi, H., Leon, 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.

Smith H., Wingfield M.J., Crous P.W., and Coutinho T.A. 1996. *Sphaeropsis sapinea* and *Botryosphaeria dothidea* endophytic in *Pinus* spp. and *Eucalyptus* spp. in South Africa. *South African Journal of Botany* 62: 86–88.

Tennakoon K.M.S., Ridgway H.J., Jaspers M.V., and Jones E.E. 2018. *Botryosphaeriaceae* species associated with blueberry dieback and sources of primary inoculum in propagation nurseries in New Zealand. *European Journal of Plant Pathology* 150: 363–374.

Trouillas, F., Úrbez-Torres, J. R., Peduto, F., and Gubler, W. 2010. First report of twig and branch dieback of English walnut (*Juglans regia*) caused by *Neofusicoccum mediterraneum* in California. *Plant Dis.* 94(10):1267-1267.

Úrbez-Torres J.R., and Gubler W.D., 2009. Pathogenicity of Botryosphaeriaceae species isolated from grapevine cankers in California. *Plant Disease* 93: 584–592.

Valenzuela, J.; Lobato, A. y Lemus, G. 2001. Cultivares. Pp: 41-51. In: Lemus, G. (Ed.). *El Nogal en Chile*. INIA. Santiago, Chile. 224 p.

Valencia, A. L., Gil, P. M., Latorre, B. A., and Rosales, I. 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.

Van Dyk, M., Spies, C.F., Mostert, L., van der Rijst, M., du Plessis, I. L., Moyo, P., and Halleen, F. 2021. Pathogenicity testing of fungal isolates associated with olive trunk diseases in South Africa. *Plant Disease*, 105:4060-4073.

Villaseca, S. 2004. Requerimientos de suelo y clima del nogal. *Revista Tierra Adentro* N° 59.

Xu, C., Zhang, H., Zhou, Z., Hu, T., Wang, S., Wang, Y., and Cao, K. 2015. Identification and distribution of Botryosphaeriaceae species associated with blueberry stem blight in China. *European Journal of Plant Pathology* 143: 737–752.

Zapatillas, B., Smit, WA, Crous, PW, Coutinho, TA, Wingfield, BD y Wingfield, MJ (2007). Taxonomía, filogenia e identificación de Botryosphaeriaceae asociadas con árboles frutales de pepita y hueso en Sudáfrica y otras regiones del mundo. *Fitopatología*, 56, 128-139.

Zhang, M., Zhang, Y. K., Geng, Y. H., Zang, R., and Wu, H. Y. 2017. First report of *Diplodia seriata* causing twig dieback of English walnut in China. Plant Disease 101: 1036.