

UNIVERSIDAD DE TALCA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS ESCUELA DE AGRONOMÍA

Virulencia de Botryosphaeriaceae spp. obtenidas desde manzanos, kiwis, arándanos, vides y nogales causando lesiones en estacas y frutos de kiwis cv. Hayward

MEMORIA DE TITULO

GÉNESIS GENOVENA PUEBLA PINO

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 de Botryosphaeriaceae spp. obtenidas desde manzanos, kiwis, arándanos, vides y nogales causando lesiones en estacas y frutos de kiwis cv. Hayward

por

GÉNESIS GENOVEVA PUEBLA PINO

MEMORIA DE TITULO

Presentada a la universidad de Talca como parte de los requisitos para optar al título de

INGENIERO AGRONÓMO

Talca, 2022

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

Aprobación:

Gonzalo Díaz Ulloa

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

Profesor Asociado

Escuela de Agronomía

Facultad de Ciencias Agrarias

Mauricio Lolas Caneo

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

Profesor Titular

Escuela de Agronomía

Facultad de Ciencias Agrarias

Fecha de presentación de Memoria de Título, 15 de julio de 2022

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a mis padres Genoveva y Carlos por darme su apoyo y amor incondicional durante todos mis años de estudio, bridándome la confianza necesaria para lograr mis objetivos y a mi hermana Isidora por el simple hecho de existir.

A mis abuelos Hernán y Emilia por su preocupación y darme su cariño y apoyo en todo momento, por otra parte, agradecer a uno de mis mejores amigos francescole por siempre estar en mis malos momentos, viajar a verme si necesitaba algo y darme su amistad.

A mí amigo esteban por ayudarme en los ramos que más me complicaban, sin pedir nada a cambio dedicando su tiempo a enseñarme, teniendo la paciencia necesaria en cada situación y darme su compañía y amistad en todo mi proceso universitario, a mi amiga Gisela por brindarme su compañía logrando que no me sintiera sola en ningún momento y por su linda amistad.

A mi grupo de amigos Ivette, Camila, Mario, Riki, Lucas y nacha por ayudarme cada vez que lo necesitaba y por incluirme en su grupo.

A mí pololo Manuel por su amor incondicional, apoyo, paciencia, ayudándome en trabajos y en sin fin de situaciones, por nunca dejarme sola y queriendo siempre lo mejor para mí.

Agradecer también al encargado de laboratorio Mauricio Gutiérrez quien me ayudo en toda la actividad realizada en el laboratorio, por su paciencia, voluntad y entrega durante toda esta etapa.

Y finalmente a mí profesor guía, Gonzalo Díaz, por ayudarme, aclarando mis dudas cada vez que estas surgían, por estar presente y tomarse todo el tiempo posible ayudando en el desarrollo de mi tesis y por brindarme las herramientas necesarias para avanzar de optima forma durante todo el proceso.

RESUMEN

Dentro de los principales productores de kiwi (Actinidia deliciosa) a nivel mundial, Chile se encuentra en el sexto lugar con una producción de 159.000 toneladas aproximadamente hacia el año 2020. El kiwi cv. Hayward, es la variedad mayormente cultivada debido a sus altos niveles de producción y calidad de sus frutos. La producción de kiwi a nivel nacional se ha visto afectada por diversas enfermedades asociadas a hongos fitopatógenos, una de las principales es la muerte regresiva de la madera producida por la familia Botryosphaeriaceae. El objetivo del trabajo fue determinar la extensión de cancros en estacas y frutos de kiwis inoculados con 12 aislados de Botryosphaeriaceae spp. (Lasiodiplodia theobromae, Diplodia mutila, D. seriata, Neofusicoccum arbuti y N. parvum) colectadas desde manzanos, kiwis, arándanos, vides y nogales con muerte regresiva. Botryosphaeriaceae spp. se inocularon con suspensiones de fragmentos de micelio y trozo de agar con micelio en estacas y frutos de kiwi, respectivamente. Después de tres meses de incubación, las estacas inoculadas mostraron síntomas de muerte regresiva y lesiones necróticas significativas que variaron entre 9 y 50 mm en longitud. Las especies más virulentas fueron N. parvum (aislados walnut y blueberry 1), N. arbuti (aislado apple) y D. mutila (aislados apple y walnut). Los aislados D. mutila y N. parvum del kiwi mostraron virulencia intermedia. La especie Lasiodiplodia theobromae (aislado apple) fue la menos virulenta en estacas de kiwi. Todas las especies causaron pudrición de frutos de kiwis después de 10 días (20°C), pero L. theobromae fue la más virulenta. Este estudio indica que aislados provenientes de diferentes hospederos frutales serían más virulentos que aislados provenientes del mismo hospedero evaluado como el kiwi.

Palabras claves: Kiwi, Botryosphaeriaceae, muerte regresiva, patogenicidad, cancros, inoculación.

ABSTRACT

Among the main producers of kiwi (Actinidia deliciosa) worldwide, Chile is in sixth place with a production of approximately 159,000 tons during 2020. The kiwi cv. Hayward is the most cultivated variety due to its high levels of production and quality. Kiwifruit production at the national level has been affected by various diseases associated with phytopathogenic fungi, one of the main ones being the branch dieback produced by the Botryosphaeriaceae family. The objective of the work was to determine the extension of cankers in lignified cutting and fruits of kiwis inoculated with 12 isolates of Botryosphaeriaceae spp. (Lasiodiplodia theobromae, Diplodia mutila, D. seriata, Neofusicoccum arbuti and N. parvum) collected from apple, kiwi, blueberry, vines and walnut showing dieback symptoms. Botryosphaeriaceae spp. were inoculated using suspensions of fragments of mycelium and piece of agar with mycelium in cuttings and kiwifruits, respectively. After three months of incubation, inoculated cuttings showed dieback symptoms and significant necrotic lesions that varied from 9 to 50 mm in length. The most virulent species were N. parvum (walnut and blueberry isolates 1), N. arbuti (apple isolate), and D. mutila (apple and walnut isolates). Isolates of *D. mutila* and *N. parvum* isolated from kiwi showed intermediate virulence. Lasiodiplodia theobromae (apple isolate) was the least virulent. All species caused kiwifruit rot after 10 days (20°C), but L. theobromae was the most virulent. This study indicates that isolates from different fruit hosts would be more virulent than isolates collected from the same host evaluated, such as kiwi.

Keywords: Kiwi, Botryosphaeriaceae, dieback, pathogenicity, cankers, inoculation.

ÍNDICE

Página

1.	INT	RODUCCIÓN	. 11
	1.1.	Hipótesis	. 13
	1.2.	Objetivo general	. 13
	1.3.	Objetivo específico	. 13
2.	RE∖	/ISIÓN BIBLIOGRÁFICA	. 14
	2.1	Origen y distribución del kiwi	. 14
	2.2	Importancia nutricional del kiwi	. 15
	2.3	Importancia a nivel mundial y nacional del kiwi	. 15
	2.4	Superficie y producción a nivel mundial y nacional	. 16
	2.5	Cultivar Hayward	. 17
	2.6	Principales enfermedades del kiwi en Chile	. 17
	2.7	Cancros y muerte regresiva asociados a la Familia Botryosphaeriaceae en frutales	. 19
	2.8	Susceptibilidad de cargadores de kiwis variedad Hayward	. 24
3.	MAT	TERIALES Y MÉTODOS	. 25
	3.1	Ubicación del ensayo	. 25
	3.2	Material vegetal: Estacas y frutos de kiwis	. 25
	3.3	Inóculo de Botryosphaeriaceae	. 26
	3.4	Inoculación de cargadores lignificados de kiwi cv. Hayward	. 27
	3.5	Inoculación de frutos de kiwi	. 29
	3.6	Diseño experimental y análisis estadístico de estacas de kiwis cv. Hayward	. 30
	3.7	Diseño experimental y análisis estadístico de frutos de kiwis cv. Hayward	. 30
4	RES	SULTADOS	. 31
	4.1	Virulencia de Botryosphaeriaceae en estacas de Kiwi:	. 31
	4.2 Vir	ulencia de Botryosphaeriaceae en frutos de kiwi:	. 33
5	DIS	CUSIÓN	. 35
6	CON	NCLUSIONES Error! Bookmark not defin	ed.
7	CITA	AS BIBLIOGRÁFICAS	. 40

ÍNDICE DE CUADROS

Pá	igina
Cuadro 2.1. Catastro de la superficie frutícola regional año 2021 a partir del CIREN en colaboración con ODEPA (ODEPA, 2021)	17
Cuadro 3.1. Aislados fungosos obtenidos a partir de cargadores y ramillas lignificas desde 5 especies frutales con muerte regresiva en diferentes localidades de la Región del Maule	

ÍNDICE DE FIGURAS

a		

Figura 2.1. Principales países productores de kiwi a nivel mundial15
Figura 2.2. Síntomas de las principales enfermedades que afectan al kiwi cv. Hayward en chile, (A) corresponde a gomosis roja en la madera producida por PSA (SAG, 2021), (B) fruto de kiwi con pudrición blanda y maceración interna tomando tonalidad oscura en la pulpa (INIA, 2020) y (C) cortes transversales en madera de kiwi con muerte regresiva, se observa necrosis y cancros en distinta magnitud y tonalidad, ya que la agresividad depende del patógeno en cada caso (Lolas, 2021).
Figura 3.1. (A) Estacas de kiwi cv. Hayward con cortes en bisel dispuestos en caja de plástico con perlitas en su interior y (B) cajas con frutos de kiwi cv. Hayward en su interior provenientes de la empresa Garcés Fruit
Figura 3.2. Placas Petri con crecimiento micelial de cultivos puros de hongos de la familia Botryosphaeriaceae, en medio de cultivo APD (2%), luego de 7 días a 22°c
Figura 3.3. Inoculación de estacas de kiwi cv. Hayward con micelios de aislados fungosos a partir de frutales con muerte regresiva de la familia Botryosphaeriaceae.
Figura 3.4. Inoculación de frutos de kiwi cv. Hayward con aislado fungoso obtenido a partir de frutales con muerte regresiva de la familia Botryosphaeriaceae
Figura 4.1. Lesiones necróticas internas y externas en estacas de kiwi cv. Hayward inoculadas con micelios de la familia Botryosphaeriaceae, luego de 100 días de incubación en condiciones de invernadero a una temperatura entre los 18-24°C. (A) corresponde a estaca inoculada con micelio de la especie D. mutila-walnut, (B) estaca inoculada con micelio de la especie D.mutila-apple y (C) estaca inoculada con micelio de la especie D. seriata-grape
Figura 4.2. Lesión necrótica en estacas de kiwis cv. Hayward después de 3 meses de incubación en invernadero que fueron inoculadas en la zona distal con conidias de Botryosphaeriaceae spp. obtenidas desde hospederos frutales como manzano, vid, arándano, nogal y kiwi con muerte regresiva
Figura 4.3. Lesiones en frutos de kiwis cv. Hayward inoculados con micelios de hongos de la familia Botryosphaeriaceae, luego de 5 días de incubación a temperatura ambiente. (A) corresponde al tratamiento testigo, (B) corresponde a D. seriata-grape, (C) corresponde a N. arbuti-apple, y (D) corresponde a D. mutila-kiwifruit
Figura 4.4. Lesión necrótica en frutos de kiwis cv. Hayward después de 5 días de incubación en invernadero que fueron inoculadas en la zona central con conidias de Botryosphaeriaceae spp. obtenidas desde hospederos frutales como manzano, vid, arándano, nogal y kiwi con muerte regresiva

1. INTRODUCCIÓN

El kiwi (*Actinidia deliciosa* (A. Chev.) C. F. Liang et A. R. Ferguson, es una planta leñosa, caducifolia y trepadora proveniente de la familia de las Actinidiacea, originario de China (Ferguson, 1990). Es altamente consumido debido a su valor nutricional lo cual conlleva beneficios para la salud. Las zonas más idóneas para la producción de kiwi, a nivel mundial, se sitúan entre el paralelo 30° y 45°, tanto norte como sur, en las que se diferencian claramente dos áreas de producción, el hemisferio sur y el norte (García et al., 2015).

La superficie mundial plantada con kiwis alcanzó 270.457 hectáreas en el año 2020 según cifras de la FAO y registró una tasa de crecimiento del 4,2% con respecto al año 2019 (FAOSTAT, 2020). La producción mundial de kiwis está orientada mayormente a los mercados externos, ya que los principales países productores destinan más de 80% de su producción a las exportaciones (ODEPA, 2014).

En Chile las primeras plantaciones de kiwis aparecen en 1978 y la producción ha venido en aumento (FAO, 2017). Según el catastro frutícola nacional hasta el 2020 la superficie estimada de kiwi es de 7.500 ha. El Maule corresponde a la región que concentra la mayor superficie de kiwi con 3.690 ha, seguida por la Región de O'Higgins con una superficie de 3.013 ha (ODEPA, 2021).

Actinidia deliciosa cv. Hayward, es la variedad mayormente cultivada debido a sus altos niveles de producción y calidad de sus frutos. El cultivar Hayward, destaca por el tamaño, forma oval, delicioso sabor y, sobre todo, por su largo periodo de conservación, inédito hasta la fecha (García et al., 2015). Basado en información tomada de los catastros regionales, la variedad Hayward domina las plantaciones de kiwi en Chile, con 86,1% de la superficie nacional plantada, seguida por las variedades Matua, Tomuri y Summer (ODEPA, 2013).

El kiwi es uno de los tantos frutales afectados por enfermedades fitopatológicas, las cuales causan gran daño económico a agricultores a nivel mundial y nacional. Basados en Acuña (2010) y Latorre (2018), en Chile son consideradas importantes la bacteriosis denominada Cancro Bacteriano del Kiwi causado por *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* y las micosis como la Pudrición Peduncular del kiwi asociados a *Botrytis cinerea* y *B. prunorum* (Latorre, 2018) y la Muerte Regresiva de Ramillas y Brazos por *Diaporthe* spp. y Botryosphaeriaceae (Díaz et al., 2021), respectivamente.

Las enfermedades de la madera han aumentado significativamente durante los últimos años, transformándose en una de las principales amenazas sanitarias para los cultivos frutales en Chile y el mundo (Úrbez-Torres et al., 2006; Gramaje et al., 2018; Díaz et al., 2013; Díaz et al 2021).

Entre los hongos implicados en la muerte regresiva de brazos en frutales, se encuentra la familia de las Botryosphaeriaceae, estas abarcan una gama de hongos morfológicamente diversos que son patógenos, endófitos o saprófitos, principalmente en hospederos leñosos. Se encuentran en todas las zonas geográficas y climáticas del mundo, a excepción de las regiones polares (Phillips et al., 2013; Yang et al., 2017).

Miembros de la familia Botryosphaeriaceae son reconocidos patógenos de plantas en diferentes tipos de hospederos incluyendo especies como ornamentales, forestales y frutales (Phillips et al., 2013; Yang et al., 2017). Su amplia distribución, su capacidad de persistir endofíticamente; su capacidad de convertirse en patógenos sólo cuando sus hospederos están bajo estrés, causando enfermedades que eventualmente pueden llevar a la muerte del hospedero y la capacidad de adaptarse y colonizar nuevos hospedadores convierten a estos organismos en un gran reto para la fitopatología (Batista et al., 2021).

A nivel internacional, la muerte regresiva de frutales asociada a especies de Botryosphaeriaceae han sido reiteradas veces descritas en varias partes del mundo incluyendo a especies como *Diplodia (D.) seriata, D. mutila, Lasiodiplodia (L.) theobromae, Neofusicoccum (N) parvum, N. australe, Dothiorella iberica* entras otras han sido descritas causando muerte de ramillas, cargadores y brazos en huertos y viñedos comerciales 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), y Sudáfrica (Slippers et al., 2013).

En nuestro país, la alta incidencia de muerte regresiva determinada en huertos comerciales de nogales (Díaz et al., 2018), manzanos (Díaz et al., 2019), vides (Díaz et al., 2013), arándanos (Espinoza et al., 2009) y kiwis (Díaz et al., 2021), junto con la cercanía en que se cultiven, es posible que ocurran infecciones cruzadas por especies de Botryosphaeriaceae entre estos hospederos frutales (fuentes de inóculo). Por lo tanto, a continuación, se plantea la hipótesis y objetivos del presente estudio:

1.1. Hipótesis.

Las heridas de poda de estacas y frutos de kiwis son infectadas por Botryosphaeriaceae, desarrollando cancros necróticos en los tejidos y pudrición en frutos, pero la extensión de la lesión varía en virtud de la especie de Botryosphaeriaceae inoculada, en donde los aislados del kiwi serían más virulentos que el resto de las especies obtenidas desde otros hospederos frutales.

1.2. Objetivo general.

Evaluar el desarrollo de infecciones en kiwis inoculados con Botryosphaeriaceae spp. colectadas desde manzanos, kiwis, arándanos, vides y nogales con muerte regresiva.

1.3. Objetivo específico.

- 1. Determinar la extensión de la lesión necrótica causada por especies de Botryosphaeriaceae inoculadas sobre heridas de poda de estacas dormantes de kiwi cv. Hayward en condiciones de invernadero.
- 2. Determinar la extensión de lesión necrótica causada por especies de Botryosphaeriaceae inoculadas sobre frutos de kiwi cv. Hayward.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Origen y distribución del kiwi

El kiwi es una planta perenne, caducifolia y trepadora, que producen frutos conocidos como kiwis que botánicamente corresponden a una baya (Ferguson, 1990). El centro geográfico del origen y evolución del género *Actinidia*, se sitúa en las montañas y colinas del suroeste de China, donde crece de forma silvestre, produciendo frutos de pequeño tamaño, de muy inferior calidad a los cultivares comerciales de hoy en día. La diversidad de las especies comprendidas en el género abarca un amplio rango natural que se extiende desde los trópicos hasta regiones templado-frías (Ferguson, 1990). Todas las especies del género son originarias de China, a excepción de 4 especies nativas de países vecinos; Vietnam, Nepal y Japón (García et al., 2015).

En 1904 fue cuando se iniciaron los primeros trabajos para su domesticación. Isabel Fraser, maestra de Wanganui (Nueva Zelanda), regreso de China con varias semillas de *Actinidia deliciosa*. Se las paso al horticultor Alexander Allison, que consiguió germinar varias plantas en su huerto y que en 1910 obtuvo los primeros frutos (García et al., 2015). Los primeros huertos comerciales se establecieron en Nueva Zelanda hacia 1930, pero no fue hasta el éxito de las exportaciones de fruta desde allí en los años 70 y 80, que se intentó seriamente de los años 70 y 80 que se hicieron intentos serios de cultivar kiwis comercialmente en otros países (Ferguson y Seal, 2008)

El kiwi comercial es una de las plantas frutales de más reciente domesticación, ya que se introdujo en el cultivo a principios de este siglo. Lo más sorprendente es que toda la industria del kiwi, fuera de China, depende de un único cultivar pistilado, "Hayward" (Ferguson, 1991). El kiwi, junto con el aguacate americano, el arándano estadounidense y la nuez de Queensland australiana, ha sido considerado como el árbol frutal silvestre más domesticado en el siglo XX. Los kiwis del comercio internacional son selecciones de dos especies estrechamente relacionadas *Actinidia chinensis* Planch. y *A. deliciosa* (A. Chev.) C.F.Liang et A.R.Ferguson (Ferguson y Seal, 2008).

La mayoría de los cultivares de kiwi de importancia comercial son selecciones de la naturaleza, no el resultado de programas de cría planificados. Existe una gran variabilidad dentro del género, por lo que es importante a la hora de considerar las posibles aportaciones de los kiwis a la dieta humana (Ferguson, 2013).

2.2 Importancia nutricional del kiwi

Los frutos de kiwi (conocido como "el rey de las frutas" por su por su notable concentración de vitaminas, minerales y otros nutrientes), son producidos por varias especies del género *Actinidia* (Actinidiaceae). Se calcula que las ventas anuales totales superan los 10.000 millones de dólares en todo el mundo. Se han descrito más de 50 especies del género, y se cultivan más de 60 variedades en todo el mundo (Wu et al., 2019). Los frutos de kiwi son una rica fuente de nutrientes, que producen múltiples beneficios para la salud, al consumirlos regularmente mejoras no sólo en el ámbito nutricional, sino también colabora en la salud digestiva, inmunitaria y metabólica (Richardson et al., 2018).

2.3 Importancia a nivel mundial y nacional del kiwi

La industria actual del kiwi mundialmente es de más de 196.000 hectáreas de huertos plantados y con una producción anual que excede los 3 millones de toneladas de fruta fresca (FAO, 2017). Actualmente la producción mundial es liderada por China con el 54%, seguido por Nueva Zelanda, Italia, Grecia, Irán y Chile (**Figura 2.1**) (FAOSTAT, 2020).

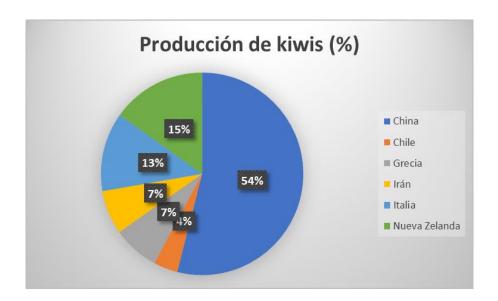


Figura 2.1. Principales países productores de frutos de kiwi a nivel mundial según FAOSTAST (2020).

Las primeras plantaciones aparecen en 1978 y la producción ha venido en aumento, siendo para el 2015 una superficie plantada de 9.717 ha de las cuales se exportan más de 185 mil toneladas por un valor cercano a los USD 204 millones de dólares (aproximadamente 0,1% del

PIB nacional), convirtiéndolo en uno de los tres productos en fruto fresco de mayor exportación en volumen y el cuarto en generador de recursos económicos por valor de exportación para ese año (FAO, 2017).

La producción de kiwi en Chile a lo largo del tiempo ha ido en aumento de forma exponencial hasta el año 2012, llegando a una producción de 281.389 toneladas, luego de ese año se ha evidenciado un declive, llegando a producir 177.206 toneladas en el año 2019 (FAOSTAT, 2019).

2.4 Superficie y producción a nivel mundial y nacional

La superficie de kiwis a nivel mundial alcanza una cifra de 270.457 ha, siendo china el país que lidera en esta área y en cuanto a la producción a nivel mundial es de 4.407.407 toneladas (FAOSTAT, 2020).

Entre los años 1981 y 1987, el área de plantaciones del kiwi se expandió fuertemente, como respuesta de parte de los productores de fruta ante la elevada rentabilidad que alcanzaba esta especie en relación con las opciones existentes en el mercado. Sin duda la producción exportable de kiwi fue una de las alternativas de mayor rentabilidad que surgió en aquellos años en nuestro país al interior de sector agrícola (Ortíz y González, 1988).

En la actualidad se ha producido una baja considerable en la superficie de kiwis plantados, a causa del envejecimiento de huertos y principalmente por el reemplazo hacia un cultivo frutal más atractivo en el ámbito económico como lo es la cereza.

La superficie a nivel nacional de kiwi es 6.973 ha hasta el año 2020, según el catastro frutícola nacional (CIREN, 2021). La producción de kiwi en Chile a lo largo del tiempo ha ido en aumento de forma exponencial hasta el año 2012, llegando a una producción de 281.389 toneladas, luego de ese año se ha evidenciado un declive, llegando a producir 177.206 toneladas en el año 2019 (FAOSTAT, 2019).

En cuanto a las zonas con mayor superficie plantadas se encuentra la Región Metropolitana, O' Higgins y la del Maule siendo esta ultima la que lidera las cifras con una superficie de 3.690 hectáreas aproximadamente (**Cuadro 2.1**.).

Cuadro 2.1. Catastro de la superficie frutícola regional del CIREN en colaboración con ODEPA (ODEPA, 2021).

Región	Superficie (ha)
Metropolitana	318,2
O'Higgins	2.487,1
Maule	3.690,8

2.5 Cultivar Hayward

Fue obtenida por Mr. Hayward R. Wright, viverista de Auckland en 1920 (De la Iglesia y Sotes, 1990), (García, 2017). Son los cultivares que primero se domesticaron para su cultivo comercial y los que hoy en día están más ampliamente distribuidos a nivel mundial. Las selecciones que existen se han obtenido a partir de la especie *Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang y Ferguson, y si bien son muchas, la más importante de todas para producción comercial es 'Hayward' (García et al., 2015).

La planta es medianamente vigorosa y muy productiva, las flores son generalmente solitarias, una por pedúnculo, grandes, 5-7 cm de diámetro y muy atractivas, con pétalos de color blanco. El fruto es grande, con peso medio superior a los 100 g, de forma elipsoidal, y posee una alta densidad, lo que le hace ser uno de los mejores en la relación volumen/peso de todas las especies de *Actinidia* cultivadas (Ferguson, 1990). La piel es de color marrón, con fondo más o menos verde, y está recubierta de una vellosidad fina y rala. La pulpa es muy jugosa en la madurez y con muy buen sabor, de color verde brillante, volviéndose amarillento en la madurez de consumo. También posee la mejor conservación frigorífica de todas las variedades, hasta más de 6 meses en atmosfera controlada. Se cosecha sobre la primera quincena de noviembre (García et al., 2015).

2.6 Principales enfermedades del kiwi en Chile

Mundialmente la principal enfermedad del kiwi es la pudrición gris asociada a *Botrytis cinerea* (Michailides y Elmer, 2000), y Chile no es la excepción. La pudrición gris es también denominada como pudrición pedúncular o stem-end rot y es una de las principales enfermedades que afectan a los frutos de kiwi en nuestro país (Latorre, 2018). La pudrición gris del fruto causado por *B. cinerea* fue detectada por primera vez en Chile provocando la pudrición de frutos en la zona de pedúncular (Montealegre et al.,1994). Actualmente, varios trabajos han determinado que la

principal zona afectada es la zona pedúncular de los frutos (Latorre, 2018; Riquelme et al., 2021). Durante el almacenamiento se producen pérdidas por ablandamiento excesivo del fruto y por pudrición de los frutos (Latorre, 2018). Los últimos trabajos han descrito a *B. cinerea* y *B. prunorum* como los agentes causales, causando los mayores problemas durante el almacenaje en frío de la variedad Hayward en Chile *B. prunorum* (Elfar et al., 2017; Riquelme et al., 2021).

Otros patógenos fúngicos que se han descrito en frutos causando pudriciones, se encuentra *Sclerotinia sclerotiorum* (Latorre, 2018) y especies de *Diaporthe* (Díaz et al., 2017) en cosecha y postcosecha de la fruta.

El cancro bacteriano del kiwi causado por la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae* también llamada PSA es otra enfermedad relevante que afecta al kiwi (Lolas, 2021). La PSA se detectó en el país en 2010 y han aumentado progresivamente, demostrando la presencia y capacidad de expansión. Es una de las enfermedades más relevantes a nivel mundial, y uno de los principales síntomas es el desarrollo de goma color anaranjado hacia rojizo oscuro en la madera afectada, además de cancros en troncos (**Figura 2.2**), brazos o sarmientos además de pardeamiento en la corteza que producen la muerte de las plantas (SAG, 2011).

Otro de los principales problemas fitopatológicos que afectan al kiwi a nivel mundial es "Muerte de Brazos" asociados a hongos, que ha sido reportada en Chile (Díaz et al., 2016; Díaz and Latorre, 2018), Italia (Di Marco et al., 2000), Francia (Hennion et al., 2003), Grecia (Elena and Paplomatas, 2002), y España (Pinto Varela et al., 2000).

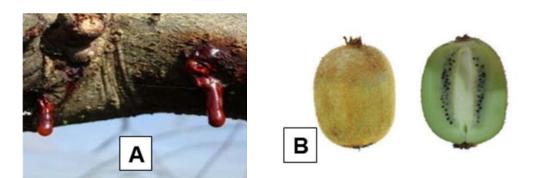


Figura 2.2. Síntomas de las principales enfermedades que afectan al kiwi cv. Hayward en Chile, (**A**) corresponde a gomosis roja en la madera producida por *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (SAG, 2021), (**B**) fruto de kiwi con pudrición pedúncular con desarrollo de una pudrición blanda y maceración interna tomando tonalidad oscura en la pulpa asociados a *Botrytis cinerea* (INIA, 2020).

2.7 Cancros y muerte regresiva asociados a la Familia Botryosphaeriaceae en frutales

Durante los últimos años a nivel mundial se ha evidenciado un aumento de las enfermedades de muerte regresiva en frutales, asociado etiológicamente a especies fungosas de las familias Botryosphaeriaceae y Diaporthaceae (Chen et al., 2014; López-Moral et al., 2020; Díaz et al., 2021). Las infecciones de estos hongos en plantas frutales provocan síntomas de muerte de ramillas, brazos y plantas, disminuyendo la productividad de los huertos comerciales (Úrbez-Torres et al., 2006).

Las especies de Botryosphaeriaceae (Botryosphaeriales, Ascomycetes) están distribuidas por todo el mundo y donde tienen diferentes funciones ecológicas (Phillips et al., 2013; Batista et al., 2021). Estos hongos pueden actuar como saprobios endofíticos o patógenos latentes. Algunos miembros de esta familia son reconocidos como agresivos patógenos de plantas en diferentes tipos de hospederos, especialmente en cultivos agrícolas y forestales (Slippers y Wingfield, 2007). Su amplia distribución, su capacidad de persistir endofíticamente, causando enfermedades que eventualmente pueden llevar a la muerte del hospedero; y la capacidad de adaptarse y colonizar nuevos hospedadores hace que estos organismos sean un gran reto para la fitopatología en un mundo cambiante (Batista, 2021).

Internacionalmente, las especies de Botryosphaeriaceae han sido descritas mundialmente provocando cancros y muerte de cargadores y brazos en paltos (McDonald y Eskalen, 2011), nogales (Moral et al., 2019; López-Moral et al., 2020), vides (Úrbez-Torres et al., 2006; Carlucci et al., 2015), kiwis (Di Marco et al., 2000), arándanos (Hilario et al., 2020) y manzanos (Slippers et al., 2007) entre otros.

Muerte regresiva en vides. Varias Botryosphaeriaceae spp. han sido identificadas como causantes de cancros y muerte de vides (*Vitis vinifera*) en diferentes regiones productoras de uva en el mundo (Gramaje et al., 2018), como California (Úrbez Torres et al., 2006), México (Úrbez Torres et al., 2008) Canadá (Úrbez Torres et al., 2014) y Chile (Morales et al., 2012; Díaz et al., 2013). Los síntomas característicos que incluyen a las vides afectadas se encuentran la muerte parcial o total de los cordones o pitones, y brazos, junto en ocasiones hay presencia de hojas distorsionadas (**Figura 2.3**). Los brazos o cargadores infectado presentan cancros marrones y manchas negras en los cortes transversales y de estrías vasculares marrones en las secciones longitudinales de cordones y troncos (**Figura 2.3**) (Úrbez Torres et al., 2006; Morales et al., 2012; Díaz et al., 2013). Entre las especies descritas a nivel nacional se encuentran *D. seriata, D. mutila* y *Spencermartinsia viticola* (Morales et al., 2012). *D. seriata* fue la especie de Botryosphaeriaceae

más común (83,3%). En los viñedos de 11 a 20 años, la incidencia de la enfermedad varió entre el 22 % y el 69% (Morales et al., 2012).

Muerte regresiva en arándanos. Las plantaciones de arándanos (*Vaccinium* spp.) han aumentado considerablemente en Chile durante la última década y, actualmente, se cultivan más de 10.700 ha en todo el país. Entre otras enfermedades, la cancrosis y muerte regresiva de ramilla en arándanos, se han observado con frecuencia en las plantaciones comerciales, con incidencias entre el 15 y el 45% (Espinoza et al., 2009). Las especies de Botryosphaeriaceae que se identificaron en huertos comerciales de arándanos con cancrosis y muerte regresiva son *Neofusicoccum arbuti, N. australe y N. parvum*, obtenidos desde cultivares incluidos como Brigitta, Bluecrop, Brightwell, Duke, Elliott, Misty y O'Neal, fueron susceptibles a la infección por *Neofusicoccum spp.* Las pruebas de patogenicidad mostraron que *N. parvum* es la especie más virulenta y que Elliott es el cultivar más susceptible (Espinoza et al., 2009). Basados en esta información es un problema que está presente en la producción en Chile que va aumentando con los años. Unos de los síntomas producidos por infección de Botryosphaeriaceae en arándanos y hace evidente su observación es la coloración rojiza anticipada de sus ramillas y brotes que posteriormente conducen a la muerte de brotes y ramillas (**Figura 2.4**) que contrastan con las ramillas verdes aparentemente sanas (Latorre, 2018).

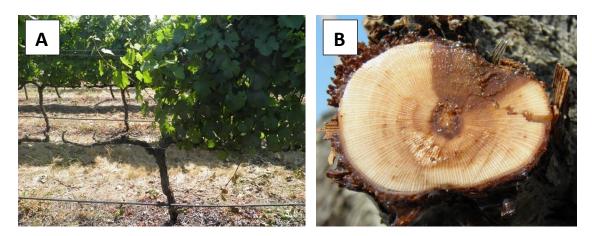


Figura 2.3. Planta de vid cv. Cabernet Sauvignon con síntomas de muerte de brazos. Brazo con cargadores muertos (A). Corte transversal de brazos de planta con muerte regresiva que muestra cancro pardo de forma de V (B).

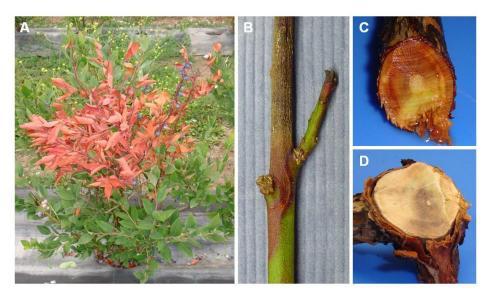


Figura 2.4. Planta de arándano con síntomas de muerte regresiva de ramillas. Ramillas con muerte regresiva, con brotes rojizos (A). Ramillas mostrando tejido necrótico y cancro externo (B). Corte transversal de ramilla con cancro pardo (C). Corte transversal corona de una planta con necrosis que presenta muerte regresiva de ramillas (D). (Espinosa et al., 2006; Latorre, 2018).

<u>Muerte regresiva en nogales.</u> En relación al nogal un estudio realizado por Bravo (2018), en Chile se determina e identificó a aislados del hongo *Diplodia mutila* pertenecientes a la familia de las Botryosphaeriaceae, causando la muerte regresiva de brazos en plantas de nogal cv. Chandler en la Región del Maule (Díaz et al., 2018). Recientemente, basados en el trabajo de Luna et al. (2022) se caracterizaron a *D. seriata, D. mutila* y *Neofusicoccum parvum* asociados a muerte regresiva en nogales entre las regiones de Valparaíso y el Maule.

Muerte regresiva en manzanos. En Chile, se informó que Botryosphaeria dothidea causaba el cancro de Botryosphaeria en los manzanos (Latorre y Toledo, 1984). Durante 2017 y 2018, se realizó un estudio de manzanos (Malus x domestica) enfermos en siete huertos comerciales de los cvs. Cripps Pink, Fuji, Granny Smith y Royal Gala ubicados en la zona central de Chile (34°09' a 35°26' S). Los síntomas en las ramas y ramitas se observaron de octubre a abril en manzanos de más de siete años y se caracterizaron por entrenudos cortos, ramillas, ramas y brazos con muerte regresiva muertas, acompañado de cancros en la madera. Luego de una serie de estudios realizados se identificó a D. seriata como la causante de estos síntomas (Díaz et al., 2018). Recientemente se ha descrito una prevalencia de muerte regresiva por Botryosphaeria en la zona central de Chile, donde se estudió de campo en 34 huertos comerciales de manzanos, identificando a las especies N. arbuti, D. seriata, D. mutila y L. theobromae (Díaz et al., 2022).

Muerte regresiva en kiwi. Las enfermedades fúngicas del tronco se han convertido en una amenaza creciente para los huertos comerciales de kiwis en la zona central de Chile. La muerte en cordón de las plantas de kiwi ha aumentado considerablemente durante la última década en nuestro país (Díaz et al., 2016). De acuerdo a un estudio de campo a lo largo de las principales regiones productoras de kiwis en la zona central de Chile, se determinó una incidencia entre 5 y 85% de muerte del cordón y brazos del kiwi cultivar Hayward (Díaz et al., 2021), los principales agentes causales identificados corresponden a hongos de la familia Botryosphaeriaceae como *D. seriata y N. parvum*. Además, especies de Diaporthaceae *Dia. ambigua* y *Dia. australafricana* fueron encontradas con la muerte de cordones.

Los síntomas externos asociados a la muerte regresiva en kiwis incluyen una declinación general de las plantas, 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 (**Figura 2.5**, A-B y C-D). 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 (**Figura 2.5**, F-I). 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 (Díaz et al., 2021).

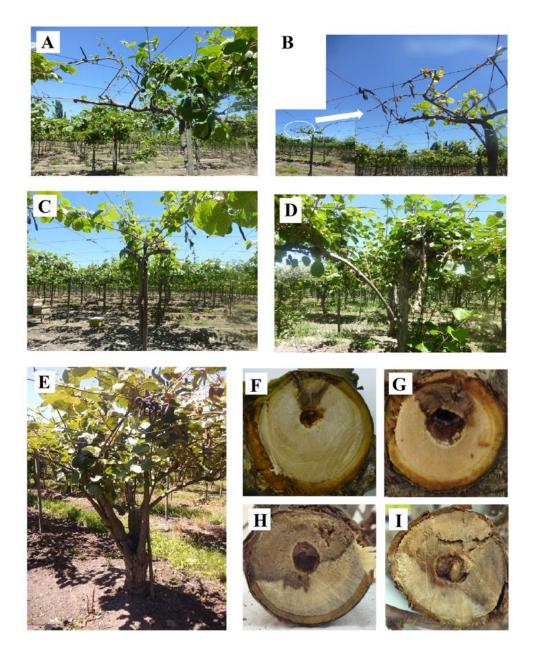


Figura 2.5. Síntomas externos e internos de muerte regresiva en kiwi cv. Hayward. A-B, Muerte parcial de brazos con entrenudos cortos, deformación y clorosis de hojas y muerte de cargadores. C-D, kiwis que muestran la formación de nuevos brazos y sus consecuencias. F-I, Corte transversal de brazos mostrando cancros de pudrición dura de la madera (permiso desde Díaz et al., 2020. Revista Frutícola).

2.8 Susceptibilidad de cargadores de kiwis variedad Hayward

En un estudio realizado para determinar la efectividad de fungicidas en la protección de heridas de poda contra *Dia. australafricana* y *N. parvum* en plantas cv. Hayward, se demostró que a pesar de la aplicación de productos fungicidas ninguno logro evitar el ingreso de *Dia. australafricana* y *N. parvum* en los haces vasculares de los cargadores en una condición de alta presión de inóculo en kiwi cv. Hayward (Muñoz, 2017).

Según estudio realizado en kiwis cv. Hayward por Díaz et al. (2021), quienes encontraron que las especies de Botryosphaeriaceae como *D. seriata* y *N. parvum* fueron las más agresivas en causar lesiones en brotes, cargadores lignificados y plantas jóvenes de kiwis, seguidas por *Diaporthe* spp. y *Cadophora* spp. (**Figura 2.6**). Sin embargo, la especies más agresiva significativamente causando lesiones necróticas en tejido lignificado fueron los aislados de *N. parvum* (Díaz et al., 2021).

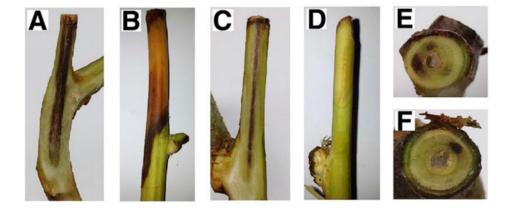


Figura 2.6. Lesiones necróticas en cargadores de kiwi cv. Hayward inoculados con *Neofusicoccum parvum* (A), *Diaporthe ambigua* (B), *Cadophora malorum* y control negativo (D). Corte transversal de cargador (E y F), mostrando tejido necrótico después de 9 meses de inoculación en el campo con *N. parvum* (E) y *Dia. ambigua* (F) (Díaz et al., 2021)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del ensayo

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Patología Frutal, ubicado junto a la Facultad de Ciencias Agrarias, en el campus Talca en la Universidad de Talca, Avenida Lircay s/n, Talca, Chile.

3.2 Material vegetal: Estacas y frutos de kiwis.

Se seleccionaron y podaron cargadores lignificados (N= 520; 1 año de edad) aparentemente sanos en receso de plantas adultas de kiwi (25 años de edad) cv. Hayward durante el mes de junio desde un huerto comercial localizado en la Comuna de San Clemente, Región del Maule. Después, los cargadores fueron transportados al laboratorio para ser almacenados por 7 días a 5°C.

Los frutos maduros aparentemente sanos de kiwi cv. Hayward de calidad de exportación, fueron seleccionados (n= 200) desde un packing comercial en la empresa Garcés Fruit (marzo) localizado en San Francisco de Mostazal, Región de O'Higgins. Una vez colectados los frutos, estos fueron transportados al laboratorio y almacenados a 0°C por 7 días (**Figura 3.1**.)



Figura 3.1. Frutos de kiwi colectados y transportados en cajas comerciales de kiwi cv. Hayward provenientes de la empresa Garcés Fruit.

3.3 <u>Inóculo de Botryosphaeriaceae</u>

Para la preparación del inóculo, se utilizaron cultivos puros de 12 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 21 días de edad en medio de cultivo agar-papa-dextrosa (APD, 2%) de placas de Petri estériles de 88-mm de diámetro, fueron incubadas a temperatura ambiente (22 °C) bajo un régimen de luz/noche (12h/12h) (**Figura 3.2**.). A cada placa con crecimiento micelial y presencia de picnidios, se les agregó 3 mL de una mezcla de agua +Tween 80 (0,1%).

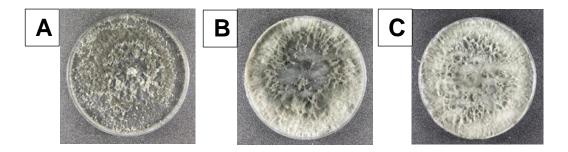


Figura 3.2. Placas Petri con crecimiento micelial de cultivos puros de hongos de la familia Botryosphaeriaceae, (A) corresponde a *D. seriata* (aislado apple), (B) corresponde a *N. parvum* (aislado grape) y (**C**) corresponde a *N. arbuti* (aislado apple) en medio de cultivo APD (2%), luego de 7 días a 22°C.

Cuadro 3.1. Aislados de Botryosphaeriaceae spp. obtenidos a partir de cargadores y ramillas lignificas desde cinco especies frutales con muerte regresiva en diferentes localidades de la Región del Maule.

#	Especie	Aislado	Hospedero	Origen de
				muestra
1	Lasiodiplodia theobromae	Ls-apple	Manzano	Los Niches
2	Diplodia seriata	Ds-apple	Manzano	Molina
3	Neofusicoccum arbuti	Na-apple	Manzano	Parral
4	Diplodia mutila	Dm-apple	Manzano	Talca
5	Diplodia seriata	Ds-grape	Vid	San Clemente
6	Neofusicoccum parvum	Np-grape	Vid	Curicó
7	Neofusicoccum parvum	Np-blueberry-1	Arándano	Longaví
8	Neofusicoccum parvum	Np-blueberry-2	Arándano	Linares
9	Diplodia mutila	Dm-walnut	Nogal	Parral
10	Neofusicoccum parvum	Np-walnut	Nogal	San Rafael
11	Neofusicoccum parvum	Np-kiwifruit	Kiwi	San Rafael
12	Diplodia mutila	Dm-kiwifruit	Kiwi	Camarico

3.4 Inoculación de cargadores lignificados de kiwi cv. Hayward

Se utilizaron 520 cargadores de kiwi cv. Hayward libres de agentes patógenos. Primero los cargadores se desinfectaron superficialmente con una solución de cloro al 0,5% por un minuto, seguido de un lavado con agua estéril durante 3 minutos, después se dejaron sobre papel absorbente durante 30 min para su secado. Todos los cargadores se montaron en cajas plásticas de 60 x 30 cm de largo y ancho respectivamente, las cuales se desinfectaron para evitar infecciones; las cajas poseen en su interior 10 litros de perlitas las cuales se humedecieron. Cada estaca fue cortada en corte bisel dejándolos con un largo de 40 cm y se enterraron 5 cm en profundidad bajo las perlitas, en cada caja se colocaron 25 estacas estas fueron inoculadas con especies de Botryosphaeriaceae con 100 uL de una suspensión de fragmentos de micelio de cada aislado de (10⁵ fragmentos de micelio/mL). En el caso del tratamiento testigo, se colocaron 100 uL de agua destilada estéril (tratamiento negativo) (**Figura 3.3**). Luego de la inoculación de los cargadores, las estacas se mantuvieron por 100 días en condiciones de invernadero (18-24°C), para la evaluación de síntomas y lesiones (necrosis, mm). Luego se llevó a cabo un reaislamiento de cada estaca inoculada en medio APD al 2%, con el fin de comprobar la correcta inoculación, en el cual resultaron ser todos positivos, confirmando así los postulados de Koch.

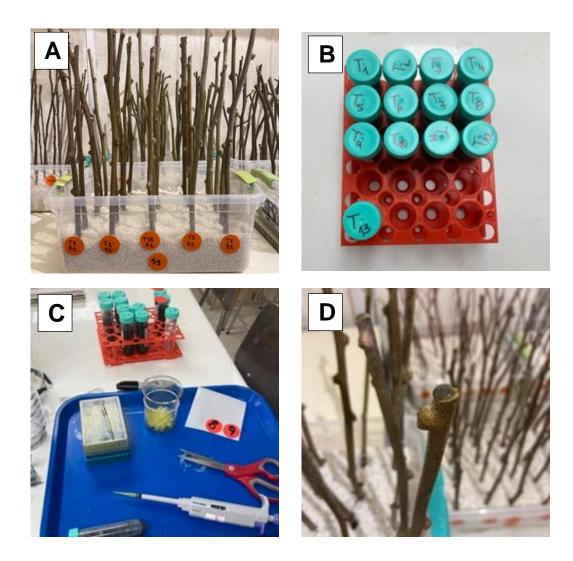


Figura 3.3. Inoculación de estacas de kiwi cv. Hayward con fragmentos de micelio de aislados fungosos de la familia Botryosphaeriaceae. A) Estacas lignificadas de kiwi cv. Hayward (1 año de edad) puestas en cajas de plásticos con perlitas en su interior, (B) tubos de ensayo con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae con sus respectivos tratamientos, (C) materiales utilizados para la rotulación e inoculación de estacas (vaso precipitado, tijeras, pipeta, rótulos, tubos de ensayo) y (D) Estacas de kiwi cv. Hayward inoculadas con suspensión de micelio de Botryosphaeriaceae en la herida de poda.

3.5 Inoculación de frutos de kiwi

Se utilizaron 200 frutos cv. Hayward aparentemente sanos, los cuales fueron sumergidos en una solución de agua con 25 mL de cloro (0,1%), y enjuagados en agua en dos oportunidades. Una vez secos los frutos, se le realizó una herida al centro de la zona ecuatorial de cada fruto utilizando un sacabocado estéril de acero inoxidable de 0,5 cm de diámetro (Figura 3.4). Sobre la herida se colocó un trozo de agar (5-mm de diámetro) con crecimiento activo de cada aislado fungoso de Botryosphaeriaceae de 7 días de edad (Cuadro 3.1 y Figura 3.4), y se selló la herida inoculada con parafilm. Después de la inoculación de los frutos, estos se colocaron en bandejas y dentro de cajas comerciales de kiwis para incubarlos hasta 10 días a 20°C. Las lesiones producidas por las distintos aislados fungosos de Botryosphaeriaceae, se midieron al décimo día por el ancho y largo (mm) de las lesiones del centro de los frutos utilizando un pie de metro electrónico. Finalmente se realizó un re-aislamiento del agente causal desde la zona de avance de cada lesión necrótica en medio de cultivo APD (2%) para confirmar que el daño observado fue provocado por el hongo inoculado, en el cual fueron todos positivos, confirmando así los postulados de Koch.

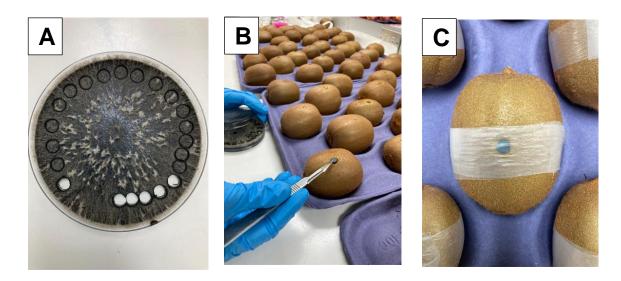


Figura 3.4. Inoculación de frutos de kiwi cv. Hayward con trozo de agar con micelio de aislados fungosos de la familia Botryosphaeriaceae obtenidos desde frutales con muerte regresiva. (A) placa Petri con crecimiento micelial de *Diplodia mutila* (aislado DM-apple) de 7 días de incubación a 20°C, (B) inoculación de frutos de kiwi con aislado DM-apple de *D. mutila*, (C) fruto de kiwi inoculado y sellado con papel film.

3.6 Diseño experimental y análisis estadístico de estacas de kiwis cv. Hayward

El diseño experimental que se utilizó para el estudio de la susceptibilidad de cargadores de kiwis cv. Hayward fue un diseño completamente al azar. La unidad experimental correspondió a 25 cargadores de kiwi cv. Hayward, empleando 3 repeticiones por cada tratamiento. Los promedios de las lesiones necróticas de los 12 aislados de Botryosphaeriaceae (Cuadro 3.1) 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.

3.7 <u>Diseño experimental y análisis estadístico de frutos de kiwis cv. Hayward</u>

El diseño experimental que se utilizó para el estudio de la susceptibilidad de frutos de kiwis cv. Hayward fue un diseño completamente al azar. La unidad experimental correspondió a un fruto de kiwi cv. Hayward, empleando 8 repeticiones por cada tratamiento. Los promedios de las lesiones necróticas de los 12 aislados de Botryosphaeriaceae (Cuadro 3.1) 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.

4 RESULTADOS

4.1 Virulencia de Botryosphaeriaceae en estacas de Kiwi

En todas las estacas de kiwi cv. Hayward inoculadas con micelio de especies de Botryosphaeriaceae desarrollaron lesiones necróticas en la madera, generando diferentes grados de muerte regresiva (**Figura 4.1.**). Los síntomas incluyen una necrosis de los tejidos que avanzó desde la herida de poda hacia la base, seguido de una muerte de la yema más cercana a la herida de poda y causar la muerte regresiva de la estaca de kiwis (**Figura 4.1**.).

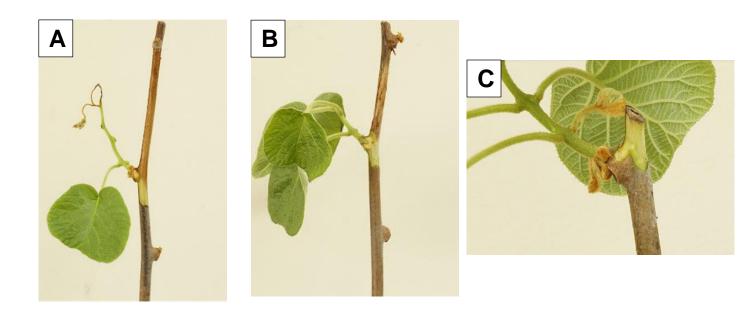


Figura 4.1. Lesiones necróticas internas y externas en estacas de kiwi cv. Hayward inoculadas con fragmentos de micelios de aislados de Botryosphaeriaceae, luego de 3 meses días de incubación en condiciones de invernadero a una temperatura entre los 18-24°C. Estaca inoculada con micelio *D. mutila* (aislado walnut) (A). Estaca inoculada con micelio de la especie *D. mutila* (aislado apple) (B). Estaca inoculada con suspensión de fragmentos de micelio de la especie *D. seriata* (aislado grape) (C).

En relación a las dimensiones de las lesiones, el promedio de la lesión en estacas inoculadas con *N. parvum* (aislado walnut) fue de 56.4 mm y con *N. arbuti* (aislado apple) fue de 49.7 mm, seguidos por *D. mutila* de aislado walnut y aislado apple con 42 y 31 mm de longitud, respectivamente. Todas estas especies fueron significativamente las más virulentos en estacas de kiwis cv. Hayward (**Figura 4.2**.). En una condición intermedia de agresividad se encuentran las especies *N. parvum* con los aislados blueberry 1, blueberry 2 y grape (**Figura 4.2**). La especie *L. theobromae* (aislado apple) alcanzó un promedio de 9.4 mm siendo significativamente el menos virulento y similar estadísticamente al testigo (**Figura 4.2**.).

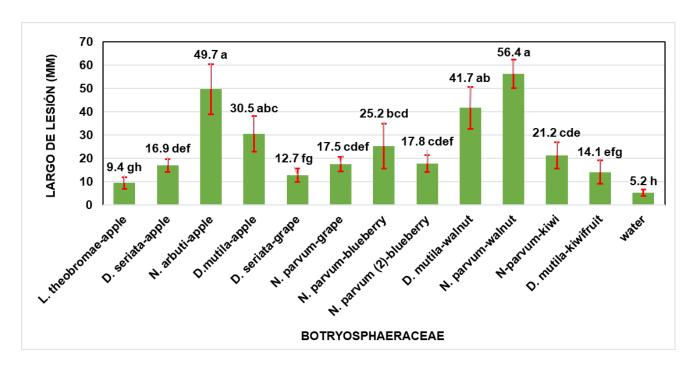


Figura 4.2. Lesión necrótica en estacas de kiwis cv. Hayward después de 3 meses de incubación en invernadero que fueron inoculadas en la zona distal con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp. obtenidas desde hospederos frutales como manzano, vid, arándano, nogal y kiwi con muerte regresiva.

Desde estacas inoculadas (5 por aislado) se logró re-aislar desde un 80 a 100%, identificando a cada aislado bajo los caracteres culturales y morfológicos a los mismos aislados inoculados. En las estacas testigos, el re-aislamiento fue negativo para Botryosphaeriaceae spp.

4.2 Virulencia de Botryosphaeriaceae en frutos de kiwi:

Todos los frutos de kiwi cv. Hayward inoculados con especies de la familia Botryosphaeriaceae desarrollaron lesiones necróticas con forma oval de colores morado y café claro de la pulpa de los frutos de kiwi, siendo todos diferentes significativamente al testigo (agar) según las pruebas de rangos múltiples de Tukey (**Figura 4.3**.). Los síntomas de pudrición blanda, incluyendo tejido necrótico, maceración y ablandamiento de pulpa, que, en casos de más 15 días de incubación, los aislados producen picnidios. El grado de la lesión obedece a la especie involucrada en cada caso, esto se demuestra estadísticamente en donde se observa una diferencia estadísticamente significativa entre la media de los tratamientos, ya que el valor-p es inferior a 0.05.



Figura 4.3. Lesiones en frutos de kiwis cv. Hayward inoculados con micelio de Botryosphaeriaceae spp., después de 10 días de incubación a temperatura ambiente (20°C). (**A**) corresponde al tratamiento testigo, (**B**) Lesión causada por *D. seriata* (Ds-grape), (**C**) lesión causada por *N. arbuti* (Na-apple), y (**D**) lesión causada por *D. mutila* (Dm-kiwifruit).

El promedio de la lesión en frutos inoculados con *L. theobromae*-apple fue de 54.51 mm siendo esta especie significativamente las mas virulenta (**Figura 4.4.**). *D. mutila*-kiwifruit con un promedio de 38.9 mm, y *N. parvum*-walnut con 38.6 mm causando un grado de lesion intermedia y *D. seriata*-grape alcanzó un promedio de 25.33 mm siendo la que otorgó el menor grado de virulencia (Figura 4.4.). Los frutos inoculados como controles presentaron una lesión de 5,5 mm, la cual fue 100% negativa a hongos durante el re-aislamiento.

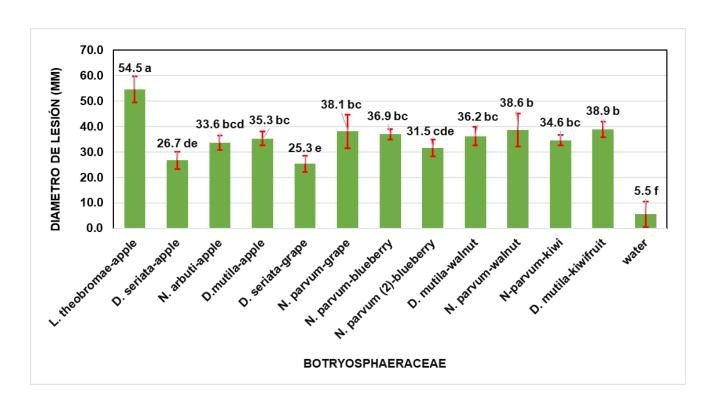


Figura 4.4. Lesión necrótica en frutos de kiwis cv. Hayward después de 10 días de incubación en invernadero que fueron inoculadas en la zona central con trozo de agar con micelio de Botryosphaeriaceae spp. obtenidas desde hospederos frutales como manzano, vid, arándano, nogal y kiwi con muerte regresiva.

5 DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio se determinó que todos los aislados de Botryosphaeriaceae spp. que incluyen a las especies *Lasiodiplodia theobromae*, *Diplodia mutila*, *D. seriata*, *Neofusicoccum arbuti* y *N. parvum* obtenidos desde diferentes hospederos frutales con muerte regresiva fueron capaces de causar lesiones necróticas en estacas y pudrición de frutos de kiwi cv. Hayward.

El presente trabajo encontró que las especies *L. theobromae*, *D. mutila*, *D. seriata*, *N. arbuti* y *N. parvum* causaron lesiones necróticas significativas en estacas de kiwi, provocando síntomas de muerte regresiva, donde las más agresivas fueron *D. mutila* (aislado walnut y aislado apple), *N. arbuti* (aislado apple) y *N. parvum* (aislado walnut), seguidos en una condición intermedia de agresividad *N. parvum* (aislados blueberry 1, blueberry 2, grape y kiwi) y *D. mutila* (aislado kiwi), Los aislados de *D. seriata* fueron considerados de baja agresividad, seguidos por la especie *L. theobromae* (aislado apple) fue el menos virulento.

Previamente, pocos estudios han demostrado patogenicidad de hongos asociados a muerte regresiva en plantas de kiwi como Di Marco et al. (2004) y Riccioni et al. (2007) en Italia y Díaz et al. (2021) en Chile. En Italia mostraron una virulencia similar causando largo de lesiones en plantas de kiwi, las especies de *Phaeoacremonium* y *Cadophora* (Di Marco et al., 2004; Riccioni et al., 2007). Recientemente, en Chile se describió a los aislados de *D. seriata* y *N. parvum* como los más virulentos en comparación con las especies de *Diaporthe* y *Cadophora* spp. causando lesiones en el tronco de plantas jóvenes de kiwi (Díaz et al., 2021).

Varios estudios han demostrado que la virulencia varía entre las especies como entre aislados en Botryosphaeriaceae (Úrbez-Torres y Gubler, 2009; Acimovic et al., 2018; van Dyk et al., 2021; Gussela et al., 2022). En los estudios sobre patogenicidad de Botryosphaeriaceae spp. en vides en California por Úrbez-Torres y Gubler, (2009), obtuvieron que las especies más virulentas corresponden a *L. theobromae* y *Neofusicoccum* spp., seguido por *B. dothidea*. Sin embargo, las menos virulentas fueron *D. mutila* y *D. seriata*. Este mismo resultados fue obtenidos por Pitt et al. (2013), en vides de Chardonnay (15 años), mostraron a *N. parvum* y *L. theobromae* como las más virulentas en función de la longitud de la lesión, y las menos virulentas *Dothiorella iberica* y *D. seriata*.

En este sentido, el actual estudio coincide al mostrar a *Neofusicoccum* spp. como las más virulentas pero es contrario al haber obtenido a *L. theobromae* como el menos virulento y *D. mutila* como una especie virulenta (aislado apple y walnut). Es más, basados en el trabajo de Acimović

et al., (2018) sobre patogenicidad de Botryosphaeriaceae causando declinación de Secuoya rojo (Sequoia sempervirens), concuerda en que las especies varían en virulencia pero Neofusicoccum spp. fueron más agresivas que B. dothidea en California. Por otro lado, Kazemzadeh et al. (2019), encontró que Neoscytalidium novaehollandiae, B. dothidea y D. intermedia fueron más agresivas que Neofusicoccum parvum y D. seriata en causar largo de lesión en seis especies forestales inoculadas en Irán, concordando con lo indicado por Úrbez-Torres y Gubler (2009) con tener aislados de B. dothidea muy virulentos. Recientemente, López-Moral et al. (2020) determinó a varias especies de Botryosphaeriaceae causando muerte regresiva en nogales en España, donde N. parvum fue la más agresiva causando largo de lesión en nogales cv. Chandler. En otro estudio, Gusella et al. (2022) obtuvieron que las especies N. mediterraneum y N. hellenicum fueron más agresivas que B. dothidea causando lesiones en pistachos en Italia. De forma similar, en olivos cv. Frantoio en Sudáfrica, determinaron que, entre los hongos asociados con enfermedades de la madera, N. stellenboschiana, N. vitifusiforme y N. australe fueron entre los más virulentos causando necrosis en brotes de olivos en el campo (van Dyk et al., 2021).

Interesantemente, en el presente estudio se demuestra la capacidad de las especies asociadas a la muerte de ramillas, cargadores y brazos en causar lesiones considerables en frutos de kiwi, donde la virulencia varió de 25 a 55 mm de diámetro de lesión, donde la especie *Lasiodiplodia theobromae* fue la más virulenta que el resto de las Botryosphaeriaceae. Previamente, Díaz et al. (2022), obtuvo el mismo resultado en manzanas inoculadas con Botryosphaeriaceae spp. que fueron obtenidas causando muerte regresiva de manzanos, donde el mismo aislado de *L. theobromae* fue el más agresivo en causar pudrición de frutos. En el trabajo de Zhou et al. (2017), de Botryosphaeriaceae causantes de pudriciones de frutos, determinaron una patogenicidad similar entre las especies *L. theobromae*, *N. parvum* y *B. dothidea* causando pudriciones de frutos y lesiones en brotes de kiwi.

En el trabajo de Van Dyk et al., 2021, con hongos de la madera como las Botryosphaeriaceae indicaron que los aislados obtenidos desde el mismo hospedero, es decir desde olivos europeos fueron más virulentos que los aislados obtenidos desde olivos silvestres. Sin embargo, para el caso del hongos *Eutypa lata* fue lo contrario, siendo más agresivo el aislado obtenido desde olivo silvestre. De este modo, los datos obtenidos en el presente trabajo, nos muestran que las especies más agresivas fueron los aislados obtenidos desde otros hospederos, evidenciando la ocurrencia de infecciones cruzadas de Botryosphaeriaceae en huertos frutales que se encuentren en las cercanías.

Internacionalmente, las especies de Botryosphaeriaceae han sido descritas mundialmente provocando cancros y muerte de cargadores y brazos en paltos (McDonald y Eskalen, 2011),

nogales (Moral et al., 2019; López-Moral et al., 2020), vides (Úrbez-Torres et al., 2006; Carlucci et al., 2015), kiwis (Di Marco et al., 2000), arándanos (Hilario et al., 2020) y manzanos (Slippers et al., 2007) entre otros. Las especies de Botryosphaeriaceae poseen un amplio rango de hospederos. Botryosphaeria es un género rico en especies con una distribución cosmopolita, comúnmente asociado con la muerte y los cancros de plantas leñosas (Slippers y Wingfield, 2007). Las enfermedades relacionadas con Botryosphaeriaceae spp. ocurren en todo el mundo en una gran variedad de plantas hospederas (Batista et al., 2021). Algunos miembros de las Botryosphaeriaceae se encuentran, entre los patógenos más agresivos en los conjuntos de hongos endofíticos comunes, y a menudo matan grandes partes de su hospedero (Slippers y Wingfield, 2007).

A nivel nacional, los principales agentes causales de la muerte regresiva en cargadores y brazos de kiwi cv. Hayward fueron especies de Diaporthaceae y Botryosphaeriaceae son los más frecuentes con un 54 y 34%, del total de muestras de kiwi con síntomas de muerte regresiva, respectivamente (Díaz et al., 2021). Adicionalmente, también en kiwis Castilla (2021), concluyó que las *D. seriata*, *B. dothidea*, *D. alatafructa*, *Do. iberica* (familia Botryosphaeriaceae); *Dia. australafricana*, *Dia. ambigua* (familia Diaporthaceae); y *Peroneutypa scoparia* (familia Diatrypaceae), están asociadas al complejo causante de la muerte de brazos del kiwi.

En relación a las Botryosphaeriaceae descritas en Chile, recientemente Luna et. al (2022), determinó a *N. parvum*, *D. mutila*, *D. seriata* entre los principales hongos asociados a la muerte de nogales junto con *Diaporthe* spp. y que *N. parvum* fue la especie más agresiva para el nogal. Además, en el trabajo de Díaz et al. (2022), determinaron que *N. arbuti* y *D. mutila* fueron los más agresivos causando necrosis en ramillas lignificadas al compararlo con *D. mutila* y *L. theobromae* en manzanos. Para el caso de los arándanos, se reportó una incidencia entre un 15 y el 45% de plantas de arándanos con cancrosis y muerte regresiva asociados a *N. arbuti*, *N. australe* y *N. parvum*, donde *N. parvum* fue la especie más virulenta. En vides, es quizás el cultivo más estudiado referente a las Botryosphaeriaceae, se han descrito a *D. seriata*, *D. mutila*, *N. parvum* y *S. viticola* asociadas a la muerte de brazos, la cual varió entre el 22 y el 83% en Chile central (Morales et al., 2012; Díaz et al., 2013). Todos los trabajos nacionales descritos han mostrado a las especies de *Neofucicoccum* como una de las más virulentas, pero siempre inoculadas en el mismo hospedero de origen.

Es importante destacar la relevancia que posee la familia Botryosphaeriaceae causando daño en diversos cultivos frutales de importancia económica, el presente trabajo aporta información significativa en este ámbito contribuyendo al gran número de evidencias científicas realizadas a nivel mundial y nacional. En este sentido, este estudio corresponde a los primeros hallazgos que

demuestran la infección cruzada de causar muerte regresiva de Botryosphaeriaceae spp. obtenidas desde diferentes hospederos frutales en estacas de kiwis cv. Hayward. Esto concuerda con el trabajo de 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). Finalmente, mas estudios son necesarios para determinar virulencia en otros hospederos frutales evaluando diferentes Botryosphaeriaceae spp. obtenidas desde diferentes especies frutales y probar la infección cruzada de Botryosphaeriaceae spp.

6 CONCLUSIONES

Basado en los resultados obtenidos en el presente estudio se concluye que:

- En estacas de kiwis, las especies más virulentas fueron N. parvum (aislados walnut y blueberry 1), N. arbuti (aislado apple) y D. mutila (aislados apple y walnut). Los aislados D. mutila y N. parvum obtenidos desde el kiwi mostraron una virulencia intermedia. La especie L. theobromae (aislado apple) fue la menos virulenta.
- 2. En frutos de kiwi, todas las especies de Botryosphaeriaceae spp. fueron virulentas en causar pudriciones de frutos de kiwi pero *L. theobromae* fue la más virulenta.
- La hipótesis se rechaza, donde los aislados más virulentos fueron Neofusicoccum spp. de procedencia de nogales, arándanos y manzanos, siendo los de origen del kiwi significativamente menos virulentos.

7 CITAS BIBLIOGRÁFICAS

Acimović, S.G., Rooney-Latham, S., Albu, S., Grosman, D.M., and Doccola, J.J. 2018. Characterization and pathogenicity of Botryosphaeriaceae fungi associated with declining urban stands of coast redwood in California. Plant Disease 102:1950-1957.

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

Auger, J., Pérez, I., and Esterio, M. 2013. *Diaporthe ambigua* associated with post-harvest fruit rot of kiwifruit in Chile. Plant Disease, 97: 843-843.

Batista, E., Lopes, A., and Alves, A. 2021. ¿A. What Do We Know about Botryosphaeriaceae? An Overview of a Worldwide Cured Dataset. Forests, 12: 1-18.

Bravo, J.A. 2013. Mercado del kiwi, señales de alerta. ODEPA (Oficina de estudios y políticas agrarias). [En línea] Recuperado en: https://www.odepa.gob.cl/odepaweb/publicaciones/doc/8909.pdf>. Consultado el 23 de abril del 2021.

Bravo, J. 2014. Kiwis, en la senda correcta. ODEPA (Oficina de estudios y políticas agrarias). [En línea] Recuperado en: https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2014/10/KiwiSept2014.pdf>. Consultado el 17 de abril del 2021.

Base de datos estadísticos corporativos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAOSTAT). 2019. Comparar datos. [En línea] Recuperado en:http://www.fao.org/faostat/es/#compare. Consultado el 28 de mayo del 2021.

Base de datos estadísticos corporativos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAOSTAT). 2020. Cultivos y productos de ganadería [En línea] Recuperado en: https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL. Consultado el 18 de abril del 2022.

Centro de Información de Recursos Naturales (CIREN). 2021. Catastro frutícola 2020. Ministerio de agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en: http://bibliotecadigital.ciren.cl/bitstream/handle/123456789/31687/catastrovalpo31agosto.pdf?s equence=5&isAllowed=y>. Consultado el 29 de mayo del 2021.

Castilla, A. 2021. Hongos fitopatógenos de la madera presentes en el síndrome de muerte de brazos del kiwi *(Actinidia deliciosa)* en plantaciones comerciales establecidas en la región del Maule, Chile. Tesis doctoral. Talca, Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. 144 p.

Carlucci, A., Cibelli, F., Lops, F., and Raimondo, M. L. 2015. Characterization of Botryosphaeriaceae species as causal agents of trunk diseases on grapevines. Plant Disease, 99(12): 1678-1688.

Chilian, J., Grinbergs, D., y France, A. 1920. Enfermedades de la madera en frutales: herramientas para un diagnóstico oportuno. Tierra adentro. Sanidad vegetal. INIA (Instituto nacional de investigación agropecuario). [En línea] Recuperado en: https://inia.prodigioconsultores.com/bitstream/handle/123456789/5490/NR42385.pdf?sequence=1. Consultado el 21 de abril del 2021.

Díaz, J. 2004. Descubre los frutos exóticos. Ediciones Norma. Madrid, España. 432 p.

Di Marco, S., Calzarano, F., Gams, W., and Cesari, A. 2000. A new wood decay of kiwifruit in Italy. New Zealand J. Crop Hortic. Sci. 28:69-72.

Di Marco, S., Calzarano, F., Osti, F., and Mazzullo, A. 2004. Pathogenicity of fungi associated with a decay of kiwifruit. Australasian Plant Pathology 33: 337-342.

Díaz, G.A., Lolas, M., Ferrada, E.E., Latorre, B.A., and Zoffoli, J.P. 2016. First report of *Cadophora malorum* associated with cordon dieback in kiwi plants in Chile. Plant Disease, 100:1776-1776.

Díaz, G. A., Zoffoli, J. P., Ferrada, E. E., and Lolas, M. 2021. Muerte regresiva en cargadores y brazos de kiwi cv. Hayward en Chile. Revista Frutícola, 43: 1-60.

Díaz, G.A., Latorre, B.A., Lolas, M., Ferrada, E.E., Naranjo, P., and Zoffoli, J.P. 2017. Identification and characterization of *Diaporthe ambigua*, *D. australafricana*, *D. novem*, and *D. rudis* Causing a Postharvest Fruit Rot in Kiwifruit. Plant Disease 101: 1402-1410.

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., 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., and Latorre, B. A. 2018. First report of cordon dieback of kiwifruits caused by *Diaporthe ambigua* and *D. australafricana* in Chile. Plant Disease, 102:446.

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., 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 cultivar Hayward in central Chile. Plant Disease, 105:1308-1319.

Díaz, G. A., Valdez, A., Halleen, F., Ferrada, E. 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, 106:925-937.

Elena K., and Paplomatas E.J. 2002. First report of *Fomitiporia punctata* infecting kiwifruit. Plant Disease 86:1176-1176.

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.

Elfar, K., Riquelme, D., Zoffoli, J. P., and Latorre, B. A. 2017. First report of *Botrytis prunorum* causing fruit rot on kiwifruit in Chile. Plant Disease, 101:388.

Ferguson, A.R. 1990. Botanical nomenclature: Actinidia chinensis, Actinidia deliciosa and Actinidia setosa. Edited by Warrington I.J., Weston G.C. Kiwifruit: science and management, Ray Rychard, Auckland, New Zealand. 36-56 p.

Ferguson, A. R. 1991. Kiwifruit (Actinidia). Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops, 290:603-656.

Ferguson, A.R., and Seal, A.G. 2008. Page 235 in: Kiwifruit. In. Hancock JF, ed. Temperate fruit crop breeding. New Zealand, Auckland: 264 p.

Ferguson, A. R. 2013. Kiwifruit: the wild and the cultivated plants. Advances in food and nutrition research, 68:15-32.

García, J.C., García, G., y Ciordia, M. 2015. El cultivo del kiwi. Ediciones Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA) Consejería de Agroganadería y Recursos Autóctonos del Principado de Asturias. Asturias, España. 142 P.

García, A. 2017. Seguimiento del estado de madurez del kiwi Hayward en la Comunidad Valenciana, Valencia, España, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universidad Politécnica de Valencia, 43 p.

Guerrero, J. 1988. Enfermedades del arándano en Chile. Serie Carillanca.

García, F., Torres, E., Martos, S., Calvet, C., Camprubí, A., Estaún, V., y Luque, J. 2005. Enfermedades de madera de la vid en Cataluña. Viticultura/Enología Profesional, 99: 19-28.

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, C., Pérez, 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.

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.

Guerrero, J.A., and Pérez, S.M. 2013. First report of shoot blight and canker caused by Diplodia coryli in hazelnut trees in Chile. Plant Disease, 97:144-144.

Gusella, G., Lawrence, D., Aiello, D., Luo, Y., Polizzi, G., and Michailides, T. 2022. Etiology of Botryosphaeria Panicle and Shoot Blight of Pistachio (Pistacia vera) Caused by Botryosphaeriaceae in Italy. Plant Disease, 106:1992-1202.

Hennion B., Lecomte P., Larignon P., Baudry A., Durpaire M.P., Mouillon M., Tailleur J.L., and Dupuy, O. 2003. First observation of a wood decay (Esca-like disease) on kiwifruit in France. Acta Horticulturae 610:409-413.

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.

Kazemzadeh Chakusary, M., Mohammadi, H., and Khodaparast, S. A. 2019. Diversity and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species on forest trees in the north of Iran. European Journal of Forest Research, 138:685-704.

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., and Toledo, M.V.1984. Occurrence and Relative Susceptibility of Apple Cultivars to Botryosphaeria Canker in Chile. Plant Disease 68: 36-39.

Liang, C. F., and Ferguson, A. R.1986. The botanical nomenclature of the kiwifruit and related taxa, New Zealand Journal of Botany, 24:183-184.

Loewe, V., y González, M. 2001. Nogal Común (*Juglans Regia*): una alternativa para producir madera de alto valor.

Lolas, M. 2021. Patología Frutal: Enfermedades del Nogal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca.

Lolas, M. 2021. Patología Frutal: Enfermedades del kiwi, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca.

López-Moral, A., Lovera, M., Raya, M. D. C., Cortés-Cosano, N., Arquero, O., Trapero, A., & 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.

Luna, I. J., Besoain, X., Saa, S., Peach, E., Morales, F. C., Riquelme, N., y Rolshausen, P. E. 2022. Identity and pathogenicity of Botryosphaeriaceae and Diaporthaceae from Juglans regia in Chile. Phytopathologia Mediterranea 61(1): 79-94.

Mari, M., Spadoni, A., and Ceredi, G. 2015. Alternative technologies to control postharvest diseases of kiwifruit. Stewart Postharvest Review, 11: 1-5.

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

Michailides, T. J., and Elmer, P. A. 2000. Botrytis gray mold of kiwifruit caused by *Botrytis cinerea* in the United States and New Zealand. Plant Disease. 84:208-223.

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.

Montealegre, J., Palma, J., Henríquez, J. 1994. Antecedentes sobre la pudrición peduncular de frutos de kiwi causada por *Botrytis cinerea* en Chile. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile. Casilla 1004. Santiago, Chile.

Mondragón, A., Rodríguez, G., Gómez, N., Guerra, J. J., y Fernández, S. P. (2021). Botryosphaeriaceae: una familia de hongos, compleja, diversa y cosmopolita. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 12(4):643-654.

Muñoz, A.T., and Díaz, G. 2017. Protección de heridas de poda mediante fungicidas contra *Diaporthe australafricana y Neofusicoccum parvum* en kiwis cv. Hayward. Memoria para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Talca, Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. 45 p.

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

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(8), 1809–1827.

Ortíz, C., y González, G. 1988. Mercado Mundial del kiwi. Antecedentes de producción y demanda a nivel mundial. IPA Quilamapu.37 p. [En línea] recuperado en: https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/123456789/41416/NR06578.pdf?sequence=1. Consultado el 29 de mayo del 2021.

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). 2017. Identificación de cultivos de importancia económica impactados por la zoopolinización en Chile.

Oficinas de estudios y políticas agrarias (ODEPA). 2021. Catastros frutícolas por región, septiembre del 2021. [En línea] Recuperado en: https://www.odepa.gob.cl/estadisticas-del-sector/catastros-fruticolas/catastro-fruticola-ciren-odepa. Consultado el 2 de abril del 2022.

Oficinas de estudios y políticas agrarias (ODEPA). 2021. Ficha Nacional, marzo 2021. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en: https://bibliotecadigital.odepa.gob.cl/

bitstream/handle/20.500.12650/69897/FichaNacional2021.pdf>. Consultado el 17 de abril del 2021.

Palma, A., y Piontelli, E. 2000. Notas micológicas III. Diaporthe actinidiae Sommer & Beraha asociado a plantas de kiwi con síntomas de muerte regresiva en la V región – Chile. Boletín micológico. 15: 79-83.

Pintos Varela C., García-Jiménez J., Mansilla J.P., Ciurana N., Sales R., and Armengol J. 2000. Presencia de *Diaporthe actinidiae* afectanto al kiwi (Actinidia deliciosa) en el noroeste de la Peninsula Ibérica. Boletin Sanidad Vegetal-Plagas 26:389-399.

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

Richardson, D.P., Ansell, J., and Drummond, L.N. 2018. The nutritional and health attributes of kiwifruit: a review, European Journal of Nutrition, 57:2659–2676.

Riccioni L., Manning M., Valvassori M., Haegi A., Casonato S., and Spinelli R. 2007. A new disease: leader die-back in *Actinidia chinensis* 'Hort16A' in Italy. Acta Horticulturae 753:669-675.

Rossi, M. 2019. Identificación y caracterización de especies de Botryosphaeriaceae asociadas a muerte regresiva de manzanos. Memoria para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Talca, Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. 48 p.

Riquelme, D., Aravena, Z., Valdés, H., Latorre, B.A., Díaz, G.A., and Zoffoli, J.P. 2021. Characterization of *Botrytis cinerea* and *B. prunorum* From Healthy Floral Structures and Decayed 'Hayward' Kiwifruit During post- Harvest Storage. Plant Disease, 105(8): 2129-2140.

Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2011. Plagas y enfermedades. Plagas relevantes presentes. Bacteriosis del Kiwi (PSA). Ministerios de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en: https://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/bacteriosis-del-kiwi-psa. Consultado el 10 de junio del 2021.

Seguel, O. 2012. Aislación e identificación de hongos involucrados en la enfermedad 'muerte de brazos' en kiwi (*Actinidia deliciosa*) de la región del Maule, Talca, Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca, 53 p.

Slippers, B., and Wingfield, M. J. 2007. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology, and impact. Fungal biology reviews, 21: 90-106.

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.

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.

Úrbez-Torres, J. R., Leavitt, G. M., Guerrero, J. C., Guevara, J., & Gubler, W. D. 2008. Identification and pathogenicity of Lasiodiplodia theobromae and Diplodia seriata, the causal agents of bot canker disease of grapevines in Mexico. Plant Disease, 92:519-529.

Úrbez-Torres J.R., Haag P., Bowen P., and O'Gorman D.T. 2014. Grapevine trunk diseases in British Columbia: incidence and characterization of the fungal pathogens associated with Esca and Petri diseases of grapevine. Plant Disease, 98:469-482.

Valdés, C. F., and Castilla, A. 2013. Recolección e identificación de hongos fitopatógenos del grupo ascomycetes relacionados con la enfermedad 'muerte de brazos' del kiwi *(Actinidia deliciosa)* en la Región del Maule. Memoria para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Talca, Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. 40 p.

Volcy, C. 2008. Génesis y evolución de los postulados de Koch y su relación con la fitopatología. Una revisión. Agronomía Colombiana, 26:107-115.

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.

Wu, H., Ma, T., Kang, M., Ai, F., Zhang, J., Dong, G., and Liu, J.2019. A high-quality Actinidia chinensis (kiwifruit) genome, Horticulture Research, 6:117.

Yommi, A. 2021. Aplicación de fosfito en Kiwi 'Hayward' y su efecto sobre la calidad y el desarrollo de podredumbre gris, Balcarce, Argentina, Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Mar del Plata, 175 p.

Zhou, Y., Gong, G., Cui, Y., Zhang, D., Chang, X., Hu, R., and Sun, X. 2015. Identification of Botryosphaeriaceae species causing kiwifruit rot in Sichuan Province, China. Plant Disease, 99:699-708.