



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

**Infeción por Botryosphaeriaceae obtenidas desde hospederos frutales con muerte regresiva sobre cargadores dormantes de vides cvs. Cabernet Sauvignon y Syrah en la Región del Maule**

**MEMORIA DE TÍTULO**

**CAMILA SCARLET JAQUE ARAYA**

**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**

**Infección por Botryosphaeriaceae obtenidas desde hospederos frutales con muerte regresiva sobre cargadores dormantes de vides cvs. Cabernet Sauvignon y Syrah en la Región del Maule**

**Por**

**CAMILA SCARLET JAQUE ARAYA**

**MEMORIA DE TÍTULO**

**Presentada a la  
Universidad de Talca como  
Parte de los requisitos para optar al título de**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**TALCA, 2022**

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

**Aprobación:**



**Gonzalo Díaz Ulloa**

---

**Profesor guía: Ing. Agr. Mg. Cs. Dr. Gonzalo 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, 9 de septiembre de 2022.**

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecer a Dios por la oportunidad que se me dio de estudiar en la Universidad y de poder optar a ser una profesional.

Mis padres, Patricia y Jorge, un pilar fundamental en todo este proceso universitario y la vida en general, les agradezco su amor incondicional, compromiso y confianza conmigo, por los buenos valores y fortaleza que me entregan día a día, sin ellos nada de esto sería posible y agradezco enormemente el esfuerzo que hacen a diario por entregar lo mejor de ellos.

Agradecer a mis familiares más cercanos, Mamita Lidia y Ester, tíos/as, primas/os (ellos saben quiénes son), los cuales siempre han velado por mi bienestar y me han apoyado de una u otra forma durante mi vida, dándome consejos, alentándome a seguir siempre hacia adelante y nunca rendirme ante alguna adversidad. Gracias a mi niño Julio, mi tío Miguel y mi tío Nato, que han sido un pilar fundamental, hospedándome en la casa, yendo a buscarme a la hora que fuese tanto a la Universidad como los carretes o juntas con amigas/os, prestando ayuda en las actividades de los aniversarios, entre muchas otras cosas, siempre me han guiado y apoyado por lo que estoy muy agradecida con ellos.

Agradezco a mis amistades universitarias, los cuales nos apoyamos, ayudamos, aconsejamos, divertimos (patiperro, open utal y eclipse) y generamos vínculos maravillosos, gracias por el compañerismo que tuvieron y tienen hasta el día de hoy; Ivette, Gise, Mario, Pollo, Rick, Géne, César y Lucas, que me guiaron de una u otra forma durante estos años.

Durante este proceso, agradecer a Mauricio Gutiérrez quien me ayudó con mi tesis, estando cien por ciento disponible siempre ante dudas, visitas al laboratorio, campo y consultas, una gran persona y profesional.

Gracias a mi profesor guía Gonzalo Díaz, por la paciencia y compromiso con este estudio, agradecida de la ayuda, disposición y tiempo siempre hacia sus tesis.

En fin, gracias a todos que de alguna manera aportaron en este camino, me siento feliz, agradecida y querida con las personas que me rodearon y me rodean. Rescato todo lo positivo que me brindó la universidad, orgullosa de mí y de poder ser una gran profesional el día de mañana, siempre absorbiendo conocimiento y a nunca dejar de aprender cosas nuevas que aporten a mi vida y mi carrera. Agradecida de la vida por este gran logro.

## RESUMEN

Chile es considerado un gran exportador a nivel mundial y se encuentra en el primer lugar en el hemisferio sur en exportación de vinos y cuarto a nivel mundial, abarcando una superficie plantada de 136.166 ha de vides viníferas, donde la principal zona de producción es la Región del Maule con 53.546 ha. Sin embargo, las vides se ven afectadas en rentabilidad y disminución de la producción por enfermedades como la muerte regresiva asociada a especies de la familia Botryosphaeriaceae. El presente estudio tiene como objetivo determinar la lesión necrótica en estacas de vides cvs. Cabernet Sauvignon y Syrah en laboratorio y en cargadores de vid cv. C. Sauvignon en el campo inoculados con una suspensión de fragmentos de micelio ( $10^5$  conidia/mL) de 10 aislados de Botryosphaeriaceae (*L. theobromae*, *D. mutila*, *D. seriata*, *N. arbuti* y *N. parvum*) obtenidos desde diferentes hospederos frutales (manzanos, arándanos, vides y nogales) de la Región del Maule. Después de 6 meses (laboratorio) y 9 meses (campo) de incubación, las estacas y cargadores desarrollaron lesiones necróticas significativas que oscilan entre 11 y 86 mm de longitud. Los resultados mostraron que todas las especies causaron lesiones significativas en la vid, pero la especie *N. parvum* fue la más virulenta seguida por *N. arbuti* y *D. mutila*. En estacas y cargadores la especie *L. theobromae* fue significativamente la menos virulenta. Este estudio indica que aislados de especies *Neofusicoccum* spp. serían más virulentos que el resto de las especies de Botryosphaeriaceae, sin importar el origen del aislado, causando lesiones necróticas en vides.

**Palabras claves:** *Vitis vinifera*, inoculación, lesión necrótica y hospedero frutal.

## ABSTRACT

Chile is considered a major exporter worldwide and is in first place in the southern hemisphere in wine exports and fourth in the world, covering an area planted with 136,166 ha of viniferous vines, where the main production area is the Region of the Maule with 53,546 ha. However, the grapevines are affected in profitability and decreased production by diseases such as dieback associated with Botryosphaeriaceae spp. The objective of this study is to determine the necrotic lesion in cuttings of grapevines cvs. Cabernet Sauvignon and Syrah in the laboratory and in cv. C. Sauvignon in the field, inoculated with a suspension of mycelium fragments ( $10^5$  conidia/mL) of 10 Botryosphaeriaceae isolates belonging to *L. theobromae*, *D. mutila*, *D. seriata*, *N. arbuti* and *N. parvum*) obtained from different host fruit trees (apple, blueberries, grapevines and walnut trees) from the Maule Region. After 6 months (laboratory) and 9 months (field) of incubation, cuttings and canes developed significant necrotic lesions ranging from 11 to 86 mm in length. Results showed that all species caused significant lesions on grapevine, but *N. parvum* was the most virulent followed by *N. arbuti* and *D. mutila*. In cutting and canes, the species *L. theobromae* was significantly the least virulent. This study indicates that isolates of *Neofusicoccum* spp. would be more virulent than the rest of the Botryosphaeriaceae species, regardless of the origin of the isolate, causing necrotic lesions in grapevines.

**Keywords:** *Vitis vinifera*, inoculation, necrotic lesion and fruit host.



## ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	14
1.1 Hipótesis.....	15
1.2 Objetivo general.....	15
1.3 Objetivos específicos.....	16
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 Generalidades de la vid.....	17
2.2 Variedad Cabernet Sauvignon.....	18
2.3 Variedad Syrah.....	18
2.4 Situación de la superficie y producción de vides.....	18
2.4.1 Situación a nivel mundial.....	18
2.4.2 Situación a nivel nacional.....	19
2.4.3 Situación en Región del Maule.....	20
2.5 Enfermedades en vides.....	21
2.6 Enfermedades de la madera de la vid.....	22
2.7 Familia Botryosphaeriaceae.....	24
2.8 Enfermedades de la madera por Botryosphaeriaceae en vides.....	25
2.9 Enfermedades de la madera por Botryosphaeriaceae en otras especies frutales.....	27
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1 Ubicación del estudio.....	31
3.2 Obtención de aislados fungosos.....	31
3.3 Colección material vegetal en receso para estacas en laboratorio.....	32
3.4 Inoculación de cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon y Syrah en laboratorio.....	33
3.5 Inoculación de cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon en campo.....	34
3.6 Diseño experimental y análisis estadístico de estacas de vid cv. Syrah y Cabernet Sauvignon en laboratorio.....	35
3.7 Diseño experimental y análisis estadístico de cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon en campo.....	35
IV. RESULTADOS.....	37
4.1 Virulencia en estacas inoculadas con micelio en laboratorio.....	37
4.1.1 Cabernet Sauvignon.....	37
4.1.2 Syrah.....	39
4.2 Virulencia de Botryosphaeriaceae en cargadores inoculados con micelio en campo.....	40
V. DISCUSIÓN.....	47
VI. CONCLUSIÓN.....	50
VII. CITAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

## ÍNDICE DE CUADROS

	Página
<b>Cuadro 2.1.</b> Catastro de la superficie (ha) vitícola nacional realizada el año 2020 (SAG, 2022; ODEPA, 2022).....	18-19
<b>Cuadro 3.1.</b> Especies fungosas de la familia Botryosphaeriaceae obtenidas de cargadores y ramillas lignificadas desde cuatro especies frutales con muerte regresiva en diferentes zonas de la Región del Maule.....	31
<b>Cuadro 4.1.</b> Análisis de varianza para Log Largo de lesión (mm) por tratamientos.....	37
<b>Cuadro 4.2.</b> Análisis de varianza para Rank Largo de lesión (mm) por tratamientos.....	38
<b>Cuadro 4.3.</b> Análisis de Varianza para Datos Largo de lesión (mm) – Suma de Cuadrados Tipo III.....	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 2.1.</b> Variedades más plantadas en Chile de cepajes tintos y blancos. Datos obtenidos desde ODEPA (www.odepa.cl; ODEPA, 2022).....	19
<b>Figura 2.2.</b> Signo y síntoma que presentan enfermedades que atacan la vid en Chile. (A) Estructura (micelio-esporas-estructuras de resistencia) de <i>Erysiphe necator</i> agente causal del Oídio. (B) Manifestación de la enfermedad Pudrición gris producida por el agente causal <i>Botrytis cinerea</i> observándose necrosis en tejidos verdes y pudrición gris en el racimo.....	21
<b>Figura 2.3.</b> Esquema de las diferentes enfermedades de la madera y sus agentes causales en vid joven y adulta (Fuente Maldonado et al., 2018).....	23
<b>Figura 2.4.</b> Enfermedades de la madera con síntomas internos y externos en vides, (A y B) Planta de vid con síntomas de muerte regresiva de pitones y brazo en vid (dieback), (C) Deformación foliar y reducción de tamaño de hojas y (D y E) Corte transversal con síntomas internos de la madera (cancros) cv. Cabernet Sauvignon en Marchigue (D) y Alto Jahuel (E).....	25
<b>Figura 2.5.</b> Brotes verdes de plantas de vides cv. Cabernet Sauvignon con lesiones necróticas después de 4 meses en campo inoculados con <i>Neofusicoccum arbuti</i> (A) <i>Diplodia seriata</i> (B) <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (C).....	26
<b>Figura 2.6.</b> Síntomas de cancrrosis y muerte regresiva en manzanos, asociados a Botryosphaeriaceae spp. Manzano cv. Cripps Pink de 25 años con cancro alargado en el tronco (flecha roja) y muerte regresiva (flecha blanca) (A). Cancro perenne severo en el tronco de un manzano de 25 años cv. Cripps Pink (B). Cancro alargado en el tronco de árbol adulto de manzano con muerte regresiva de brazos (C). Árbol joven (7 años) cv. Fuji mostrando cancro y muerte regresiva con presencia de picnidios (D).....	28
<b>Figura 2.7.</b> 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). Fuente G. Díaz.....	28

**Figura 3.1.** Colonias de aislados de Botryosphaeriaceae en medio APD (2%) en condiciones de incubado a 25°C con régimen de 12h/12h luz/oscuridad después de 7 días. *Lasiodiplodia theobromae* (LT6-Mz) (A). *Diplodia seriata* (DS3-Mz) (B), *Neofusicoccum arbuti* (NA32-Mz) (C), *D. mutila* (DM2-Mz) (D), *D. seriata* (DS1-Vid) (E), *N. parvum* (NP10-Vid) (F), *N. parvum* (NP7-Ara-1) (G), *N. parvum* (NP9-Ara) (H), *Diplodia mutila* (DM4-Nog) (I), *Neofusicoccum parvum* (NP17-Nog) (J).....30

**Figura 3.2.** Inoculación de estacas de vid cv Cabernet Sauvignon y Syrah con suspensión de micelios de hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae en laboratorio de Patología Frutal. Estaca de vid cv. Syrah con corte de poda en bisel e inoculada sobre herida de poda (A). Estacas en observación después de 4 meses inoculadas en cajas de plástico rotuladas y con perlita en su interior (B).....33

**Figura 3.3.** Inoculación de estacas de vid cv Cabernet Sauvignon con suspensión de micelios de hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae en campo Fundo El Llano. Hileras de vides cv. Cabernet Sauvignon antes de la inoculación (A). Materiales como micropipeta y tubo de ensayo con suspensión de hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae para realizar la inoculación en campo de vid (B). Cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon inoculados y marcados con diferentes cintas de colores (tratamientos) (C).....34

**Figura 4.1.** Lesión necrótica interna y externa en estacas de vid cv. Cabernet Sauvignon luego de 6 meses a temperatura ambiente (20-22°C) en laboratorio, inoculadas con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp. Estaca de vid cv. Syrah inoculada con *L. theobromae* presentando una pequeña lesión (A). Estaca inoculada con *D. seriata* en cv. Syrah mostrando necrosis desde la herida de poda (B). Estacas cv. Cabernet Sauvignon inoculadas con *N. parvum* con 45 mm de lesión (C).....36

**Figura 4.2.** Lesión necrótica en estacas de vid cv. Cabernet Sauvignon después de 167 días a temperatura ambiente en laboratorio, inoculadas en corte de poda distal con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp. obtenidos desde hospederos frutales como manzano, vid, arándano y nogal con muerte regresiva.....37

**Figura 4.3.** Lesión necrótica en estacas de vid cv. Syrah después de 168 días a temperatura ambiente en laboratorio, inoculadas en corte de poda distal con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp. obtenidos desde hospederos frutales como manzano, vid, arándano y nogal con muerte regresiva.....39

**Figura 4.4.** Lesión necrótica en cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon después de 9 meses en condiciones de campo, inoculadas con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae. Lesión en tratamiento N°6 a causa de especie *N. parvum* aislado de vid (**A** y **D**). Lesión por *D. mutila* obtenida de manzano (**B**). Lesión causada por *N. parvum* aislado de arándano (**C**). Larga lesión provocada por *N. arbuti* aislado de manzano (**E**). Lesión más pequeña en tratamiento N°1 inoculado con *L. theobromae* (**F**).....40

**Figura 4.5.** Lesión necrótica en cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon después de 279 días en condiciones de campo en Fundo el Llano de San Clemente, inoculadas en corte de poda distal con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp. obtenidos desde hospederos frutales como manzano, vid, arándano y nogal con muerte regresiva.....41

**Figura 4.6.** Re-aislamiento desde cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon inoculados con Botryosphaeriaceae en el campo. Colonias de *L. theobromae* obtenida desde re-aislamiento de cargador inoculado con *L. theobromae* (aislado de manzano) (**A**). Colonias de *N. arbuti* obtenida desde re-aislamiento de cargador inoculado con *N. arbuti* (aislado de manzano) (**B**). Colonias de *N. parvum* obtenida desde re-aislamiento de cargador inoculado con *N. parvum* (aislado de nogal) (**C**).....42

**Figura 4.7.** Características culturales y morfológicas de *Lasiodiplodia theobromae*. Crecimiento micelial al día 7 de incubación a 20°C (**A**). Crecimiento micelial al día 14 de incubación a 20°C (**B**). Crecimiento micelial al día 21 de incubación a 20°C (**C**). Conidios subovoides a elipsoides de ápice ampliamente redondeada y base truncada, amplia en el medio y angosta en los extremos, de paredes finas, café oscura y septada en la madurez y con apariencia de estriado en la superficie vistos al microscopio con aumento 40X (**D**). Picnidios en cultivo con medio APD (**E**)....43

**Figura 4.8.** Características culturales y morfológicas de *Diplodia mutila*. Crecimiento micelial al día 7 de incubación a 20°C (**A**). Crecimiento micelial al día 14 de incubación a 20°C (**B**). Crecimiento micelial al día 21 de incubación a 20°C (**C**). Conidios ovoides a elipsoides, amplia en el centro con un extremo redondeado, hialinas y aseptadas vistos al microscopio con aumento 40X (**D**). Picnidios en cultivo con medio APD (**E**).....43

**Figura 4.9.** Características culturales y morfológicas de *Diplodia seriata*. Crecimiento micelial al día 7 de incubación a 20°C (A). Crecimiento micelial al día 14 de incubación a 20°C (B). Crecimiento micelial al día 21 de incubación a 20°C (C). Conidios ovoides a elipsoides, amplia en el centro con extremo redondeado, siendo hialina inicialmente y café oscuro en su madurez y aseptadas vistas al microscopio con aumento 40X (D). Picnidios en cultivo con medio APD (E).....44

**Figura 4.10.** Características culturales y morfológicas de *Neofusicoccum arbuti*. Crecimiento micelial al día 7 de incubación a 20°C (A). Crecimiento micelial al día 14 de incubación a 20°C (B). Crecimiento micelial al día 21 de incubación a 20°C (C). Conidios fusiformes, de ápice obtuso, hialinos y aseptados vistos al microscopio con aumento 40X (D). Picnidios en cultivo con medio APD (E).....44

**Figura 4.11.** Características culturales y morfológicas de *Neofusicoccum parvum*. Crecimiento micelial al día 7 de incubación a 20°C (A). Crecimiento micelial al día 14 de incubación a 20°C (B). Crecimiento micelial al día 21 de incubación a 20°C (C). Conidios elipsoides, con un ápice obtuso y una base truncada, siendo hialinos y aseptados vistos al microscopio con aumento 40X (D). Picnidios en cultivo con medio APD (E).....45

## I. INTRODUCCIÓN

En el mundo agrícola, la fruticultura ha ido tomando cada vez más fuerza en donde las vides son esenciales tanto en el comercio como en la producción de vinos, siendo uno de los cultivos protagonista estos últimos años, la cual según la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV, 2022) la superficie vitícola mundial se sitúa en aproximadamente 7.3 millones de hectáreas (ha) mostrando una disminución en comparación con otros años debido a la pandemia y condiciones climáticas.

La vid (*Vitis vinifera* L.) es uno de los cultivos de mayor importancia económica y más influyentes de la fruticultura chilena, por medio de la exportación de uva de mesa y de vinos de calidad, donde los principales mercados de exportación son Estados Unidos y Corea del Sur (ODEPA, 2020).

Chile es el primer país exportador en el hemisferio sur y cuarto exportador mundial de vinos, superado por Francia, España e Italia. Para el catastro 2020, alcanzaba una superficie total de producción de vides de 191.409 ha abarcando vid vinífera, de mesa y pisqueras. Una superficie de 136.166 ha abarcan vides destinadas a vinificación en la zona central, destacando la Región del Maule con 53.546 ha, seguida por la región de O'Higgins con 45.080 ha, Metropolitana con 11.282 ha y de Ñuble con 10.422 ha (SAG, 2022; ODEPA, 2022).

Dentro de la superficie vitivinícola en Chile, El 73,7% del viñedo corresponde a cepajes tintos destacando Cabernet Sauvignon con 40.053 ha y el 26,3% a cepajes blancos encabezando Sauvignon Blanc, con una superficie de producción de 15.224 ha registradas en el año 2020 (ODEPA, 2022; SAG, 2022).

Tras el crecimiento en los últimos años de este cultivo, es importante trabajar durante todo el crecimiento de la planta desde la plantación hasta la producción, teniendo un buen manejo sanitario de las vides, para posteriormente obtener un buen rendimiento, calidad y vida útil de estas. Por ende, hay que tener suma consideración con las plagas y enfermedades que se puedan presentar durante la temporada.

Las enfermedades producidas por microorganismos patógenos, tanto en cosecha como en postcosecha, son unas de las mayores causales de pérdida en la producción agrícola. Dentro de estos microorganismos, los hongos constituyen uno de los principales grupos (Fisher et al., 2012).

En la vid, las enfermedades causadas por hongos, al no ser controladas, provocan daños que ocasionan importantes pérdidas de producción económicas y biológicas. De este modo, la vida útil no se prolonga y se limita la productividad del cultivo (Agrios, 2005; Úrbez-Torres y Gubler, 2009).

A lo largo de la historia, la vid ha sido un cultivo susceptible a varios tipos de enfermedades, en donde este último tiempo las enfermedades de la madera son una de las más importantes a considerar (Díaz, et al., 2013), también aquellas producidas por hongos que producen canchales y muertes de brazos, generando una alteración interna de la madera, que se puede traducir a muerte a largo plazo (Úrbez-Torres y Gubler, 2009).

Varios estudios realizados muestran que la familia de las Botryosphaeriaceae es importante dentro de las enfermedades de la madera y que los géneros perteneciente a esta Familia son influyentes dentro de las enfermedades de la vid, generando daños externos e internos considerables en la planta, incluso provocar la muerte parcial o total a lo largo de la longevidad de la planta, disminuyendo así la productividad y rentabilidad que posee este cultivo en Chile y a nivel mundial (Úrbez-Torres y Gubler, 2009; Morales et al., 2012; Bertsch et al., 2013; Díaz et al., 2013). La alta incidencia de muerte regresiva reportada en nogales (Díaz et al., 2018), manzanos (Díaz et al., 2019), vides (Morales et al., 2012; Díaz et al., 2013), arándanos (Espinoza et al., 2009) y kiwis (Díaz et al., 2021), junto con que es muy común que se cultiven en las proximidades, siendo posible que ocurra infecciones cruzada por especies de Botryosphaeriaceae en estos hospederos frutales. Recientemente, información 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. Este es un aspecto que no ha sido estudiado en Chile. Por lo tanto, a continuación, se plantea la hipótesis y objetivos del presente estudio:

### 1.1 Hipótesis.

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

### 1.2 Objetivo general.



Determinar la extensión de canchros en cargadores de vides inoculadas con Botryosphaeriaceae colectadas desde diferentes hospederos frutales con muerte regresiva.

### 1.3 Objetivos específicos.

Medir la lesión necrótica causada por especies de Botryosphaeriaceae inoculadas sobre heridas de poda en cargadores de vides Cabernet Sauvignon y Syrah en condiciones de invernadero.

Medir lesión necrótica causada por especies de Botryosphaeriaceae inoculadas sobre heridas de poda en cargadores de vides Cabernet Sauvignon en condiciones de campo.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Generalidades de la vid.

La vid (*Vitis vinifera* L.) (Linnaei, 1753) pertenece a la familia Vitaceae, compuesta por 17 géneros con casi mil especies distribuidas en estos. El género *Vitis* está compuesto por 108 especies aproximadamente, de importancia agronómica porque incluye la especie *V. vinifera*, y se dice que este género es originario de Asia, de las regiones próximas al mar Caspio y del centro-suroeste de Europa. En la actualidad, está distribuido alrededor del mundo, gran parte concentrada en Norte y Sudamérica, África y Oceanía, zonas de clima mediterráneo o clima relativamente templado (Moreno, 2020).

La especie *V. vinifera* se origina en el Cenozoico hace 2,6 millones de años en la Región de la Provenza, Francia (Moreno, 2020). Actualmente es la especie de mayor difusión e importancia a nivel mundial que pertenece al subgénero *Evutis*, con dos subespecies diferenciadas principalmente por los caracteres morfológicos, la *V. vinifera* subsp. *sylvestris* y la *V. vinifera* subsp. *vinifera* (Laguna, 2003).

La vid se considera una planta o arbusto frutal leñoso, vivaz y trepador, con singularidades que la identifican, posee un tronco retorcido, vástagos largos, flexible y nudosos (RAE, 2014). Se caracteriza por tener hojas alternas, estipuladas, pecioladas y grandes, tiene flores verdosas en racimos y el fruto que genera es la uva (Picornell y Melero, 2012). El crecimiento y desarrollo viene de la mano con los ciclos anuales, diferenciando dos fases, en una primera parte, el ciclo vegetativo que como lo dice el nombre, comprende el crecimiento y desarrollo de los órganos vegetativos, almacenamiento de sustancias de reserva e inicio de dormancia en yemas de la vid y simultáneamente está el ciclo reproductivo, incluyendo la floración, cuajado y ciclos de los frutos (Sotomayor, 2008; Almanza, 2011).

La uva, una baya globosa, es la parte importante de esta liana trepadora, ha sido consumida desde la antigüedad, por sus propiedades y debido a que es comestible y materia prima para la fabricación de vino (Sotomayor, 2008).

El fruto presenta diversas tonalidades clasificándose en tintas, blancas y rosada, donde a partir de estas se obtienen vinos de variedades diferentes. Las principales variedades de vino tinto en Chile son Cabernet Sauvignon, Merlot y Carménere y para variedades blancas Sauvignon Blanc, Chardonnay y Moscatel de Alejandría (ODEPA, 2019).

## 2.2 Variedad Cabernet Sauvignon.

Cabernet Sauvignon es una variedad que nace en el siglo XVII debido al cruzamiento entre dos variedades, Cabernet Franc y Sauvignon Blanc (OIV, 2018). Es originaria de la región vitivinícola de Burdeos en Francia, la cual debido a su éxito y protagonismo en la elaboración de los vinos en esta región de Francia comenzó a expandirse hasta ser reconocida mundialmente.

Esta variedad se caracteriza por sus racimos con pequeñas bayas cilíndricas-cónicas, es un cepaje tinto y es reconocida como las “reinas de las tintas” debido a que es de fácil cultivo y se ha expandido enormemente tras su adaptación a diversos climas y suelos. Además de ser la segunda variedad plantada después de la variedad China Kyoho (OIV,2018).

## 2.3 Variedad Syrah.

La variedad Syrah se le atribuye su origen en el Valle del Ródano en Francia cuyo resultado se obtiene del cruce de dos variedades, Mondeuse Blanche y Dureza (OIV, 2018). Esta variedad, según la historia se introduce en Chile en 1984 siendo hoy en día la octava cepa más plantada del país (SAG, 2022).

Este cepaje tinto presenta racimos relativamente grandes con bayas de tamaño pequeño a mediano, compactos y firmes (OIV, 2018), entregando vinos elegantes, de buena calidad, muy aromáticos, profundos y de intenso sabor (Jara, 2022).

## 2.4 Situación de la superficie y producción de vides.

Las vides son unos de los cultivos más influyentes, sin embargo, este último año se ha evidenciado una disminución en producción y superficie, no obstante, sigue posicionándose en uno de los cultivos importantes económicamente (ODEPA, 2022). Se considera que hay un crecimiento de los rendimientos y una mejora tras la aplicación de nuevas tecnologías y técnicas principalmente en el área de la vinificación (OIV, 2019).

### 2.4.1 Situación a nivel mundial.

La superficie mundial de vides para todos los usos ha disminuido, de casi 7.8 millones de hectáreas (ha) en el año 2000, hasta una estimación de 7.3 millones de ha en el año 2021. Dentro de los 10 países con mayor superficie de viñedos está España (964 mil ha), Francia (798 mil ha),

China (783 mil ha), Italia (718 mil ha), Turquía (419 mil ha), EE. UU (400 mil ha), Argentina (211 mil ha), Portugal (194 mil ha), Chile (191 mil ha) y Rumania (189 ha), abarcando Europa, Asia, América del Norte y del Sur principalmente (OIV, 2022).

La producción de vides está destinadas a consumo fresco, pasas y para fabricación de vinos, este último económicamente importante, casi más del 70% es destinado a vinificación. Dentro de la producción de vinos lidera Europa con tres principales países productores: Italia, Francia y España, que juntos representan el 47% de la producción mundial de vino en 2021. Al igual que el comercio internacional, en volumen, donde las exportaciones, considerando Italia, España y Francia, abarcan el 54% de las exportaciones del mercado mundial (OIV, 2022).

#### 2.4.2 Situación a nivel nacional.

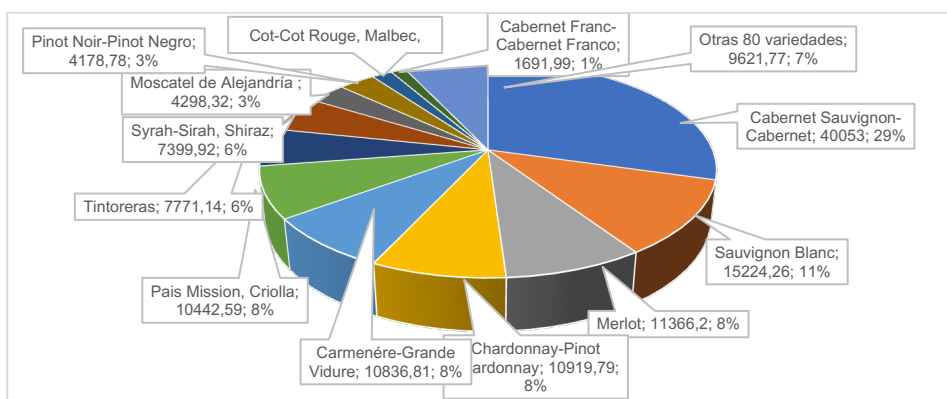
El cultivo de la vid (*V. vinifera*) en Chile se extiende desde el norte, Copiapó, hasta el sur, Osorno concentrándose la mayor parte en las regiones de O'Higgins y el Maule (Cuadro 2.1) (Echeverría, 2014; ODEPA, 2022).

En el año 2020, la superficie abarcada por las vides es de 191.409 ha, de las cuales 136.166 ha, más del 50%, están destinadas para vides de vinificación (Cuadro 2.1), 43.104 ha uva de mesa y solo 9.154 ha de las vides son para pisco (CIREN, 2017; ODEPA, 2022). De la superficie vitivinícola en Chile 100.449 ha (73,7%) corresponden a cepajes tintos, destacando la variedad Cabernet Sauvignon, Merlot, Carménere, País y Syrah principalmente. Los cepajes blancos, se producen en menor cantidad, pero son sumamente relevantes dentro de la producción y abarcan 35.717 ha (26,3%), encabezado por la variedad Sauvignon Blanc, Chardonnay y Moscatel de Alejandría (SAG, 2022 ODEPA, 2022).

**Cuadro 2.1.** Catastro de la superficie (ha) vitícola nacional realizada el año 2020 (SAG, 2022; ODEPA, 2022).

Región	Superficie (ha)
Arica	15
Tarapacá	3.45
De Antofagasta	4.97
De Atacama	49.62
De Coquimbo	3.125,23
De Valparaíso	9.727,19

Del Libertador General	45.080,92
Bernardo O'Higgins	
Del Maule	53.546,12
Ñuble	10.442,89
Del Bío Bío	2.771,06
De la Araucanía	105,27
Los Ríos	18,5
De Los Lagos	13,85
Metropolitana	11.282,17
<b>TOTAL</b>	<b>136.166,24</b>



**Figura 2.1.** Variedades más plantadas en Chile de cepajes tintos y blancos. Datos obtenidos desde ODEPA ([www.odepa.cl](http://www.odepa.cl); ODEPA, 2022).

Chile sigue apuntando dentro de la industria vitivinícola en las exportaciones, donde es el primer exportador de vinos del nuevo mundo y cuarto exportador mundial de vinos, donde es superado por países con una trayectoria y conocimiento en el área vitivinícola, como España, Francia e Italia (OIV, 2022).

#### 2.4.3 Situación en Región del Maule.

En la zona central se concentra la mayor producción de vides del país que se localizan mayoritariamente en la Región del Maule, donde hay más superficie plantada en las comunas de San Javier (8.776 ha), Cauquenes (7634 ha), Molina (4891 ha), Penco (4577 ha), Sagrada Familia (3421 ha) y Curicó (3306 ha) principalmente (ODEPA, 2007; ODEPA, 2022). Tras el último Catastro Vitícola Nacional realizado el 2020, esta región se considera zona vinífera con 53,546 ha, explicando cerca de un 39% de participación de la superficie total nacional (SAG, 2022; ODEPA, 2022).

Las variedades tintas ocupan la mayor superficie con 39.469 ha y las variedades blancas solo 14.076 ha. Dentro de estas 2 grandes variedades la de mayor relevancia y más producidas en la región son Cabernet Sauvignon-Cabernet ocupando el 39,2% del total de variedades tintas y en variedades blancas destaca Sauvignon Blanc con el 53,7% (ODEPA, 2021; ODEPA, 2022)

## 2.5 Enfermedades en vides.

Las vides como todos los cultivos dependen de diferentes factores en conjunto para un buen desarrollo de las plantas y un óptimo crecimiento y rendimiento, los que se ven afectados principalmente por las condiciones climáticas, disponibilidad de agua y de nutrientes y daños por plaga, fitopatógenos u otros (Agrios, 2005).

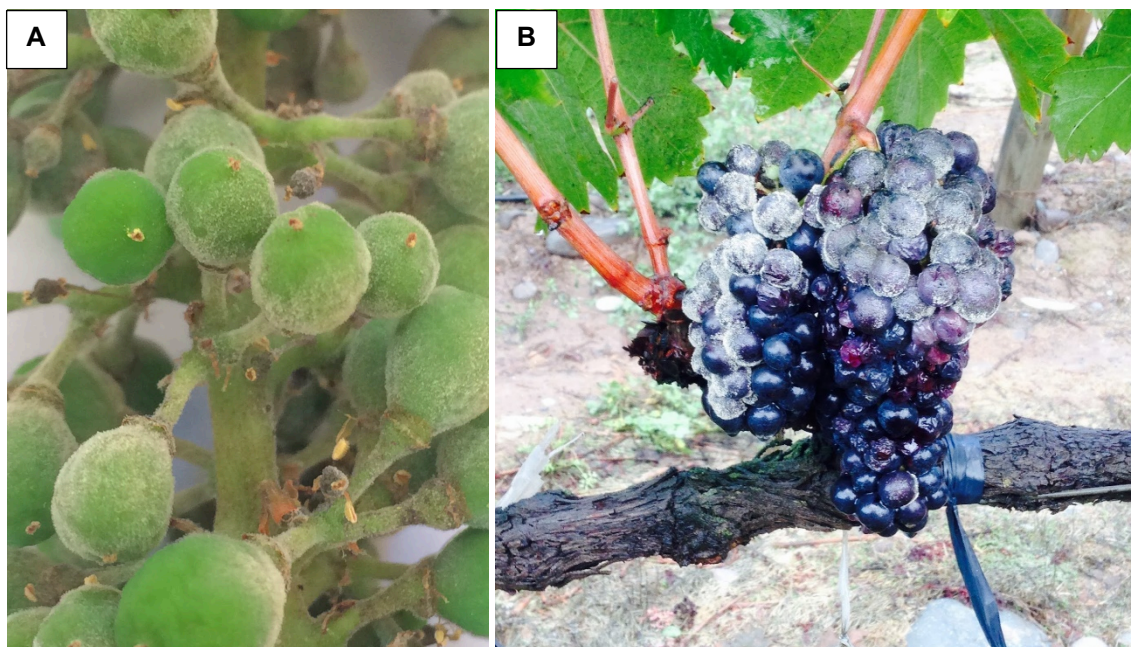
Para que exista una enfermedad en la planta es necesario tres factores básicos: un hospedero susceptible, patógeno virulento y condiciones ambientales propicias para que se desarrolle el patógeno y ocurra la infección, lo que se conoce como el triángulo de las enfermedades (Latorre, 2004; Lolas 2019). Son varios los agentes patógenos que afectan las vides causando daños internos y externos en la planta, traducidos en pérdidas económicas, calidad y rendimiento e inclusive vida útil del viñedo. Dentro de las principales enfermedades de la vid en Chile encontramos:

Podrición o Moho gris/ Botritis: Es una de las enfermedades más estudiadas en Chile, generada por un hongo polífago conocido como *Botrytis cinerea* que se ve favorecido con climas húmedos, templados o fríos y cuando infecta causa gran pérdida de calidad y cantidad de la cosecha. Puede ser originada desde infecciones latentes, infección directa de la baya y por infección por contacto entre bayas (Elmer y Michailides, 2004). Los síntomas se observan en las partes verdes de la planta, aunque causa daños más graves en flores y frutos, causando necrosis del tejido, necrosis foliar, pudrición gris, blanda y acuosa en el racimo arrugado de los frutos por infección del raquis (Figura 2.2) (CTVV, 2010).

Oídio: Causado por *Erisiphe* (= *Uncinula*) *necator* y es capaz de infectar a todos los tejidos verdes de la vid. Este hongo causa síntomas en los frutos, generando un agrietado en estos, también afecta las hojas observándose deformaciones y hojas jóvenes atrofiadas, decoloraciones que se van cubriendo de manchas blanquecinas (CTVV, 2010). El aspecto blanquecino es un signo que corresponde a la presencia de micelio con conidióforos y conidias en la superficie del hospedero, viéndose como polvo gris (Figura 2.2). En algunos casos, se presenta una típica necrosis superficial, conocida como russet, producida por este hongo (Lolas, 2019; Grinbergs y France, 2021).

Mildiú: Esta enfermedad puede presentarse con cierta frecuencia y es causada por el hongo *Plasmopara* (= *Peronospora*) *viticola*. Los principales síntomas se presentan en las partes verdes de la planta, mayoritariamente las hojas, donde las primeras de primavera y hojas muy maduras son más susceptibles (Grinbergs y France, 2021). Se genera manchas oleosas en brotes, hojas, zarcillos y racimos, defoliación y retraso en madurez, algunos brotes, zarcillos y peciolo pueden secarse y los frutos pueden ser atacados de manera parcial o completa, apareciendo en ellos micelio algodonoso, tan característico del Mildiú (CTVV, 2010).

Las enfermedades de la madera de la vid (EMV), son otra de las principales enfermedades que atacan a la vid las que han sido influyentes en este cultivo por largos años y que actualmente son consideradas de gran prevalencia en Chile, en uva de mesa y uva para vinificación. Son consideradas como una de las principales preocupaciones del sector vitivinícola a causa de que las EMV están asociadas a una gran cantidad de enfermedades y de hongos patógenos (Díaz y Latorre, 2013; Armengol, 2017; Lolas, 2019). En vista de su amplio rango de patógenos, presentan una sintomatología no muy específica y compleja (Martos, 2008; Redondo, 2019).



**Figura 2.2.** Signo y síntoma que presentan enfermedades que atacan la vid en Chile. **(A)** Signos de *Erysiphe necator* agente causal del Oídio de la vid. **(B)** Pudrición gris del racimo de vid causado por *Botrytis cinerea* observándose pudrición blanda de bayas y presencia de signos de *Botrytis*.

## 2.6 Enfermedades de la madera de la vid.

Enfermedades de la madera son un grupo de patologías que afectan de manera agresiva la producción de vides, principalmente para vinificación. Las enfermedades del tronco de la vid son un desafío porque afectan y comprometen la productividad y la vida útil del viñedo, siendo un importante problema fitosanitario dentro de la vitivinicultura en Chile (Auger et al., 2004).

Estas enfermedades dañan a las plantas viejas por lo que se realiza una sustitución en las vides que están dañadas con vides sanas y se evita la propagación de esta enfermedad (Bruno y Sparapano, 2007). Tras estudios, se ha observado que no solo afecta viñedos con plantas viejas, sino que también afecta a viñedos jóvenes, llegando a aparecer en viñedos de 7 años y más (Díaz y Latorre, 2013; Mondello et al., 2020).

Dentro de los síntomas que presentan las enfermedades de la madera en la vid, en la parte aérea, incluyen entrenudos cortos en el brote, deformación foliar y menor tamaño, clorosis, atraso en la brotación y elongación de brotes, racimos pequeños con bayas desuniformes y decaimiento progresivo (Lolas, 2019). Por otro lado, presenta síntomas en la parte interna de la madera, con diferentes tipos de necrosis asociadas a diferentes especies (Larignon y Dubos, 1997). Hay presencia de estrías necróticas a lo largo de la madera de haces vasculares, necrosis sectorial en forma de V observada en vides infectadas por *Diplodia seriata* (Úrbez-Torres et al., 2006; Úrbez-Torres y Gubler, 2009), punteados necróticos asociados al hongo, pudrición de madera oscura y firme y/o pudrición de madera clara y quebradiza (Díaz y Latorre, 2014; Redondo, 2019).

Algunas de las enfermedades de la madera que contempla la vid son: Yesca, muerte de brazos, muerte regresiva, decaimiento de la vid, enrollamiento clorótico, enfermedad de Petri, Pie Negro, entre otras (Maldonado et al., 2018). Sin embargo, según Grinbergs y France (2021), en Chile los complejos más importantes son la Enfermedad de Petri, Cancrosis de la madera y la enfermedad tipo- Esca.



ENFERMEDADES DE MADERA DE LA VID	VIÑA JOVEN (<8-10 años)	PIE NEGRO	<i>Dactylonectria</i> spp., <i>Theλονectria</i> spp., <i>Campylocarpon</i> spp., <i>Neonectria</i> spp., <i>Ilyonectria</i> spp., <i>Cylindrocladiella</i> spp.
		ENFERMEDAD DE PETRI	<i>Pa. chlamydospora</i> , <i>Phaeoacremonium</i> spp., <i>Cadophora luteo-olivacea</i>
		DECAIMIENTO POR BOTRYOSPHAERIA	<i>Botryosphaeria</i> spp.
	VIÑA ADULTA (>8-10 años)	YESCA	<i>Phaeoanellia chlamydospora</i> , <i>Phaeoacremonium</i> spp.
		EUTIPIOSIS	Diatrypaceae spp.
		DECAIMIENTO POR BOTRYOSPHAERIA	Botryosphaeriaceae spp.

**Figura 2.3.** Esquema de las diferentes enfermedades de la madera y sus agentes causales en vid joven y adulta (Fuente Maldonado et al., 2018).

Tal como muestra la Figura 2.3, las enfermedades de la madera en la vid pueden separarse aquellas que afectan o comprometen un viñedo joven o adulto, destacando la enfermedad de Decaimiento o muerte regresiva por *Botryosphaeria*, causada por diferentes especies de la familia *Botryosphaeriaceae*. Las especies pertenecientes a la familia *Botryosphaeriaceae* que atacan a la madera, se caracterizan por producir necrosis sectoriales en forma de V o U de la madera de los brazos o troncos, síntoma que puede resultar en la posterior desecación o muerte de la vid (Úrbez-Torres et al., 2006; Díaz et al., 2013; Maldonado et al., 2018).

## 2.7 Familia Botryosphaeriaceae.

La familia *Botryosphaeriaceae* pertenece al Reino Hongo, división Ascomycota, subilum Pezizomycotina, clase Dothideomycete, subclase Incertae sedis y orden *Botryosphaeriales* (Latorre, 2004; Schoch et al., 2006).

Se estima que esta familia contiene 17 géneros con 195 especies, de los cuales los géneros que más destacan son *Botryosphaeria* (B.), *Diplodia* (D), *Dothiorella* (Do), *Lasiodiplodia* (L.) y *Neofusicoccum* (N.) (Manawasingle et al., 2016; Delgado-Cerrone et al., 2016) y las especies que tienen mayor incidencia a nivel internacional son *Neofusicoccum parvum*, *Botryosphaeria dothidea* y *Diplodia seriata* (Phillips, 2002; Úrbez-Torres y Gluber, 2006; Úrbez-Torres et al., 2006; Úrbez-Torres et al., 2009). Los géneros de esta familia poseen características morfológicas de

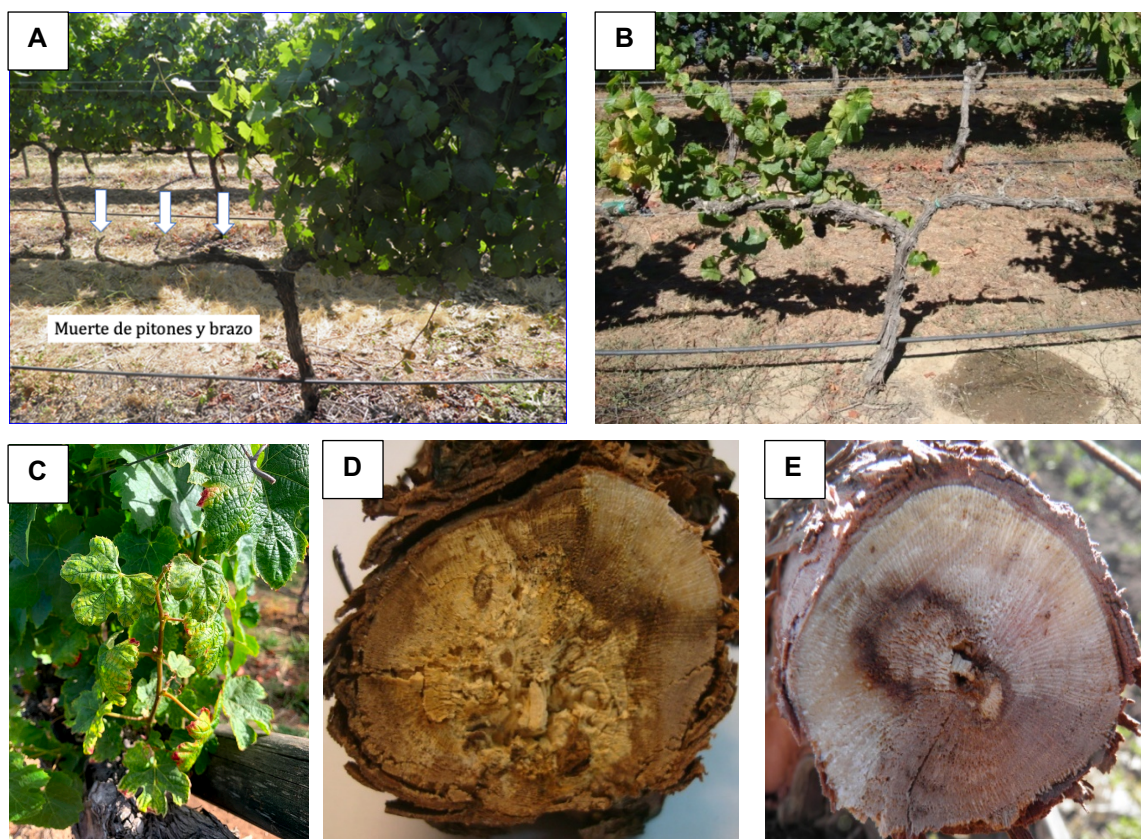
las cuales resulta difícil identificar los hongos, porque existe una relación del cuerpo estructural de estos (Lawrence et al., 2017).

Los miembros de esta familia se reproducen a través de esporas sexuales (ascosporas) y asexuales (conidias), las cuales una vez que hayan germinado y que las hifas generadas desde la germinación hayan invadido los tejidos, y colonizan la madera que produce la necrosis de los (Gramaje et al., 2018; Grinbergs y France, 2021). Se observan comúnmente como endófitos, tienen naturaleza polífaga y una distribución cosmopolita y son conocidos como patógenos de madera, encontrándose entre los hongos patógenos más destructivos de los cultivos (Crous et al., 2006).

Generalmente, son hongos que se desarrollan en tallos leñosos muertos y en madera, actuando como patógeno latente y causando daños en plantas estresadas (Alves et al., 2013; Slippers y Wingfield, 2007). Según Manawasingle et al. (2006), el cambio climático es un factor que puede contribuir significativamente en el desarrollo de los hongos de Botryosphaeriaceae. Las condiciones que generen un estrés en la planta, ya sea factores climáticos, como elevadas temperaturas, déficits hídricos y daños mecánicos o físicos, como heridas por podar, van a favorecer la entrada de los patógenos y que colonice la planta a través de aperturas naturales o tejido dañado (Rolshausen et al., 2010; Armengol, 2017; Maldonado et al., 2018; Grinbergs y France, 2021).

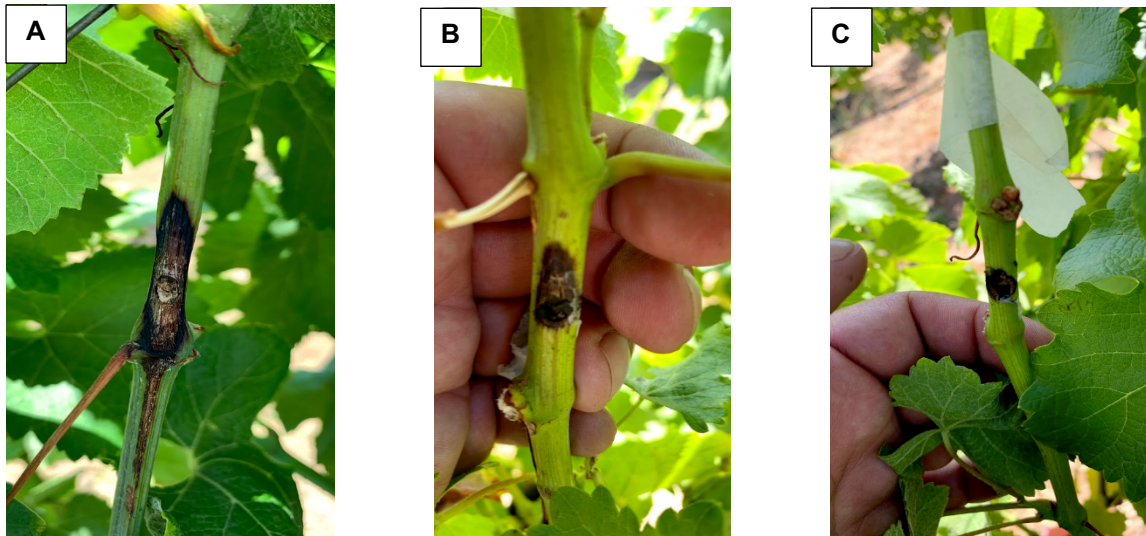
## 2.8 Enfermedades de la madera por Botryosphaeriaceae en vides.

Las enfermedades de la madera por especies de Botryosphaeriaceae producen una alteración interna de la madera, lo que a menudo genera una muerte regresiva o completa de la planta (Úrbez-Torres y Gubler, 2009; Gramaje et al., 2018). Basado en el estudio de Reis et al. (2020) en vides, se presentan síntomas en la parte externa, presentando efectos en el área foliar, canchros y muerte regresiva de la planta, debido a que los hongos pertenecientes a esta familia, en vides viven y colonizan la madera, afectando la parte aérea, el tronco y tejido interno de la planta (Figura 2.4).



**Figura 2.4.** Enfermedades de la madera con síntomas internos y externos en vides, **(A y B)** Planta de vid con síntomas de muerte regresiva de pitones y brazo en vid (dieback), **(C)** Deformación foliar y reducción de tamaño de hojas y **(D y E)** Corte transversal con síntomas internos de la madera (cancros) cv. Cabernet Sauvignon en Marchigue **(D)** y Alto Jahuel **(E)**.

Estudios realizados en vides en Chile se llevaron a cabo con los hongos más comunes aislados de brazos, cordones, ramillas, cargadores y troncos provenientes de vides con enfermedad de tronco (Díaz et al., 2013; Morales et al., 2012), entre las especies que se encuentran están: *Phaeomoniella*, *chlamydospora*, *D. seriata* y *N. parvum* principalmente, destacando en la mayoría la familia Botryosphaeriaceae (Díaz et al., 2013; Auger et al., 2014; Besoain et al., 2013; Díaz y Latorre, 2014). En Chile se han determinado solo cinco especies de la familia Botryosphaeriaceae, las cuales son: *Neofusicoccum. parvum*, *N. australe*, *D. seriata*, *D. mutila* y *Spencermartinsia (S) viticola*, afectando viñas con cancrisis entre las regiones de Atacama y Biobío, siendo *D. seriata* una de las especies de Botryosphaeriaceae más frecuentes asociadas a vides con muerte regresiva en Chile (Morales et al., 2012; Díaz et al., 2013). Sin embargo, las especies pueden variar y no afectar de igual forma, donde las lesiones que se producen dependen de la especie que actúa, también depende del hospedero, en este caso el tipo de cultivar y las condiciones medioambientales (Ramírez et al., 2018).



**Figura 2.5.** Brotes verdes de plantas de vides cv. Cabernet Sauvignon mostrando lesiones necróticas después de 4 meses en campo inoculados con *Neofusicoccum arbuti* (A) *Diplodia seriata* (B) *Lasiodiplodia theobromae* (C) obtenidos desde el manzano.

Valencia et al. (2015) llevaron a cabo un estudio, donde vides cercanas al viñedo en estudio se encuentran afectadas con canchros por *Botryosphaeria*, las cuales infectan a dos cultivares mediante dispersión de conidias a través de lluvias, influyendo las condiciones climáticas. Por tanto, el material vegetativo infectado funciona como fuente inóculo, el cual puede encontrarse en el mismo lugar o en parcelas colindantes o cercanas, y de esta manera infectar a las plantas sanas, ya que las esporas pueden venir de otros cultivos infectados por hongos de la madera, diseminados por aire y lluvia (Gramaje y Armengol, 2011; Armengol, 2017). El origen de los hongos en los viñedos generalmente proviene de fuentes de inóculo como, restos de poda en el suelo, que en condiciones medioambientales favorables liberan las conidias o esporas del hongo infectando al hospedero, al igual que plantas que se obtienen desde material de propagación y que en algunos casos son posteriormente reproducidas en viveros, también pueden encontrarse infectadas (Pintos et al., 2018; Gramaje et al., 2020).

## 2.9 Enfermedades de la madera por Botryosphaeriaceae en otras especies frutales.

Las especies pertenecientes a Botryosphaeriaceae en general se distribuyen en gran cantidad de hospederos leñosos (Slippers y Wingfield, 2007), incluyendo a las araucarias (Pérez et al., 2018), eucalipto (Smith et al., 1994; Smith et al., 2001), vides (Besoaín et al., 2013; Díaz et al., 2011), manzanos (Latorre y Toledo, 1984; Díaz et al., 2018), nogales (Díaz et al., 2018) y otros árboles frutales.

Se han descrito que las especies de Botryosphaeriaceae causan manchas de hojas, pudrición en fruta, semillas, cuello, canchros, tizón de brotes y plántulas, gomosis, muerte regresiva y completa del árbol (Alves et al., 2013; Adesemoye et al., 2014; Delgado-Cerrone et al., 2016; Montealegre et al., 2016).

En Chile, se han detectado varias especies pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae, asociados a muerte regresiva de brazos y ramillas en varios hospederos frutales, como manzanos, (Latorre y Toledo, 1984; Herrera, 2018; Díaz et al., 2019), kiwis (Díaz et al., 2021), arándanos (Espinoza et al., 2009; Pérez et al., 2014), nogales (Díaz et al., 2018) y vides (Auger et al., 2004; Díaz et al., 2011; Morales et al., 2012; Besoain et al., 2013; Díaz et al., 2013).

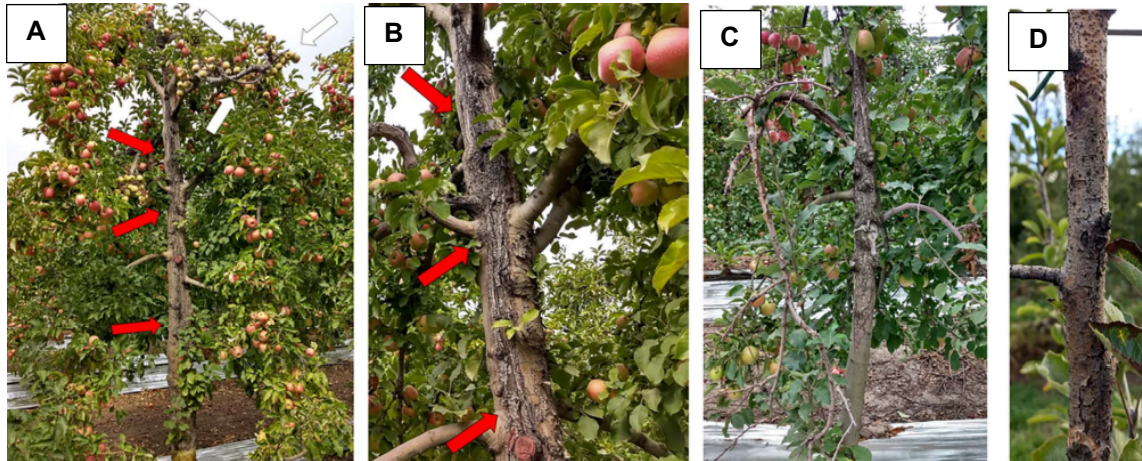
En manzanos se identificaron especies de Botryosphaeriaceae con gran incidencia de muerte regresiva, a causa de las especies *N. arbuti*, *D. seriata*, *D. mutila* y *L. theobromae* (Díaz et al., 2022). Reciente estudio en manzanos, indican que los síntomas por hongos de Botryosphaeriaceae provocan una declinación en sectores de las plantas o planta completa (Figura 2.6), presentando clorosis de brotes y fruto, también presencia de canchros alargados, con aspecto papiriforme, ásperos y hendidos, a menudo con tonalidades pardas a anaranjadas y principalmente muerte de ramillas, brazos y troncos y una necrosis de la madera (Sutton et al., 2014; Delgado-Cerrone et al., 2016; Lolas, 2021).

En kiwis, la muerte en cordones es muy frecuente encontrándose especies como *N. parvum* y *D. seriata*, son descritas como las especies más frecuentes y virulentas. En este cultivo uno de los síntomas externos que se presenta son muerte de cargadores, decaimiento de la planta, caída de frutos, hojas deformes, cloróticas y pequeñas principalmente (Díaz et al., 2021).

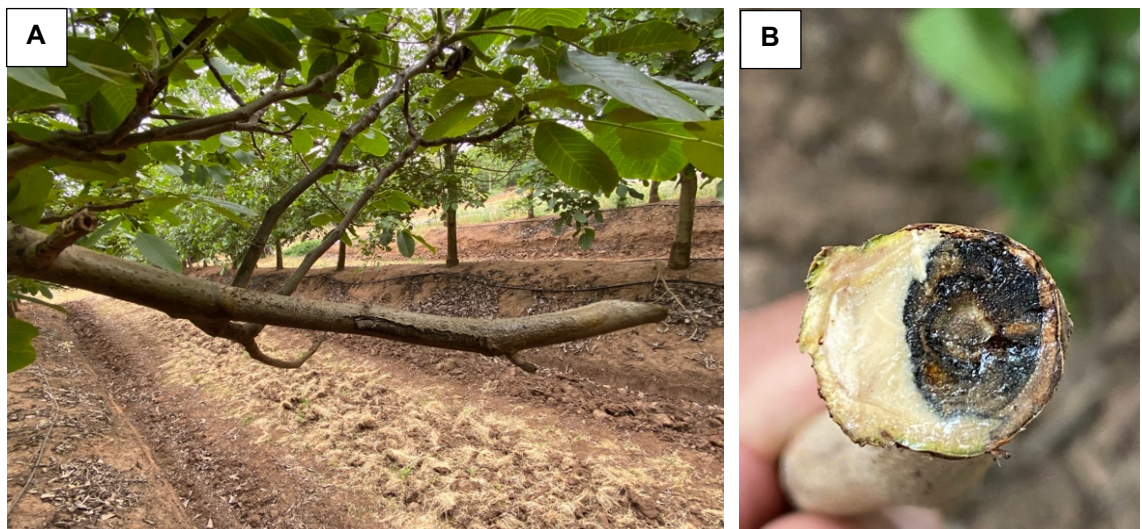
Los síntomas en arándanos se presentan en verano, siendo similares a los otros cultivos, presentando muerte repentina de ramas, clorosis, necrosis regresiva, canchros en brotes y tallos y muerte de ramillas terminales. Entre las especies descritas en Chile se encuentran *N. parvum*, *N. arbuti* y *N. australe* (Espinoza et al., 2009). En Chile, *N. parvum* es la especie más virulenta en este cultivo (Espinoza et al., 2009; Lolas, 2021).

En referente al nogal, la canchrosis o muerte regresiva es importante en países como España, Corea del Sur, República Checa, Italia y California (E.E.U.U) donde se han identificado varias Botryosphaeriaceae incluyendo a *B. dothidea* y *D. mutila*, *D. seriata*, *Do viticola*, *Do. Sarmmentorum*, *Do omnívora*, *N. parvum*, *N. mediterraneum*, *N. nonquaesitum* y *N. vitifusiforme* (Chen et al., 2014; López-Moral et al., 2020; Eichmeier et al., 2020). En este sentido, en Chile se ha descrito la especie *D. mutila* causando muerte regresiva en la Región del Maule (Díaz et al.,

2018). Los síntomas que presenta este cultivo se traducen en una necrosis desde la corteza del tronco hasta la ramilla de los árboles produciéndoles la muerte regresiva y también muertes de yemas productivas, además de retraso en la brotación deformación y clorosis en hojas (Chen et al., 2014; Díaz et al., 2018). En corte transversal de ramillas afectadas es común la necrosis sectorial de la madera (Figura 2.7).



**Figura 2.6.** Síntomas de canchrosis y muerte regresiva en manzanos, asociados a *Botryosphaeriaceae* spp. Manzano cv. Cripps Pink de 25 años con cancro alargado en el tronco (flecha roja) y muerte regresiva (flecha blanca) (A). Cancro perenne severo en el tronco de un manzano de 25 años cv. Cripps Pink (B). Cancro alargado en el tronco de árbol adulto de manzano con muerte regresiva de brazos (C). Árbol joven (7 años) cv. Fuji mostrando cancro y muerte regresiva con presencia de picnidios (D).



**Figura 2.7.** 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)**. Fuente G. Díaz.

Por lo tanto, la alta incidencia de muerte regresiva reportada en vides (Díaz et al., 2011; Morales et al., 2012; Díaz et al., 2013) y en nogales (Díaz et al., 2018), manzanos (Díaz et al., 2019) y arándanos (Espinoza et al., 2019), 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 cruzadas por especies de Botryosphaeriaceae entre estos hospederos frutales, siendo potenciales fuentes de inóculo entre los frutales.

Un estudio presentado por Díaz et al. (2022) muestra una infección de Botryosphaeriaceae del manzano en otros hospederos frutales, encontrándose síntomas en vides cv. Sauvignon Blanc expresados por *N. arbuti*, *D. seriata* y *L. theobromae*, en Perales cv. Abate, *N. arbuti* y en Nogales cv. Chandler, la especie *D. seriata*. Este estudio avala que las especies al distribuirse en varios hospederos tienen una mejor capacidad de infectar múltiples cultivos y de migrar entre ellos facilitando el establecimiento y propagación de los hongos. Recientemente un trabajo llevado en Sudáfrica, determinaron que aislados de *N. australe* y *N. stellenboschiana* fueron capaces de causar lesiones en vides, ciruelos, manzanos, olivos y pimienta boliviana, variando en virulencia entre los aislados en los brotes de los hospederos (Mojeremane et al., 2020). En la actualidad no existe evidencia literatura sobre la posible infección cruzada asociada a especies de Botryosphaeriaceae en diferentes especies frutales en Chile.

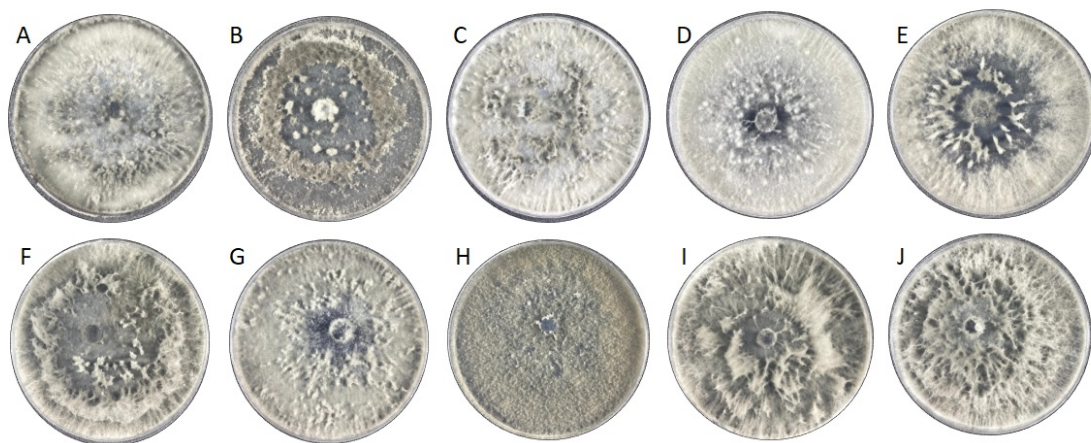
### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Ubicación del estudio.

El trabajo de este estudio se llevó a cabo principalmente en el Laboratorio de Patología Frutal de la Facultad de Ciencias Agrarias, ubicado en el Campus Lircay de la Universidad de Talca, Avenida Lircay S/N. Por otro lado, el trabajo en campo se llevó a cabo en Fundo el Llano camino a San clemente, ambos lugares de trabajo ubicados en Talca, Región del Maule, Chile.

#### 3.2 Obtención de aislados fungosos.

Se utilizaron 10 aislados de hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae causando muerte de brazos, obtenidos de ramillas de manzano cv. Fuji, cargadores lignificados de vid cv. Syrah, ramillas de arándano cv. Duke y ramillas lignificadas de nogal cv. Chandler, provenientes de diferentes zonas de la Región del Maule (Cuadro 3.1). Los inóculos se obtuvieron desde el crecimiento de los cultivos de los 10 aislados activos de 7 días de crecimiento, se obtuvo conidios/micelios y fueron sembrados en placas Petri estériles de 88 mm de diámetro con medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (APD al 2%), añadiéndoles agua y Tween 80 (0,1%) las cuales fueron incubadas a temperatura ambiente (25°C) y bajo ciclo de luz de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.





**Figura 3.1.** Colonias de aislados de Botryosphaeriaceae en medio APD (2%) en condiciones de incubado a 25°C con régimen de 12h/12h luz/oscuridad después de 7 días. *Lasiodiplodia theobromae* (LT6-Mz) (A), *Diplodia seriata* (DS3-Mz) (B), *Neofusicoccum arbuti* (NA32-Mz) (C), *D. mutila* (DM2-Mz) (D), *D. seriata* (DS1-Vid) (E), *N. parvum* (NP10-Vid) (F), *N. parvum* (NP7-Ara-1) (G), *N. parvum* (NP9-Ara) (H), *Diplodia mutila* (DM4-Nog) (I), *Neofusicoccum parvum* (NP17-Nog) (J)

**Cuadro 3.1.** Especies fungosas de la familia Botryosphaeriaceae obtenidas de cargadores y ramillas lignificadas desde cuatro especies frutales con muerte regresiva en diferentes zonas de la Región del Maule.

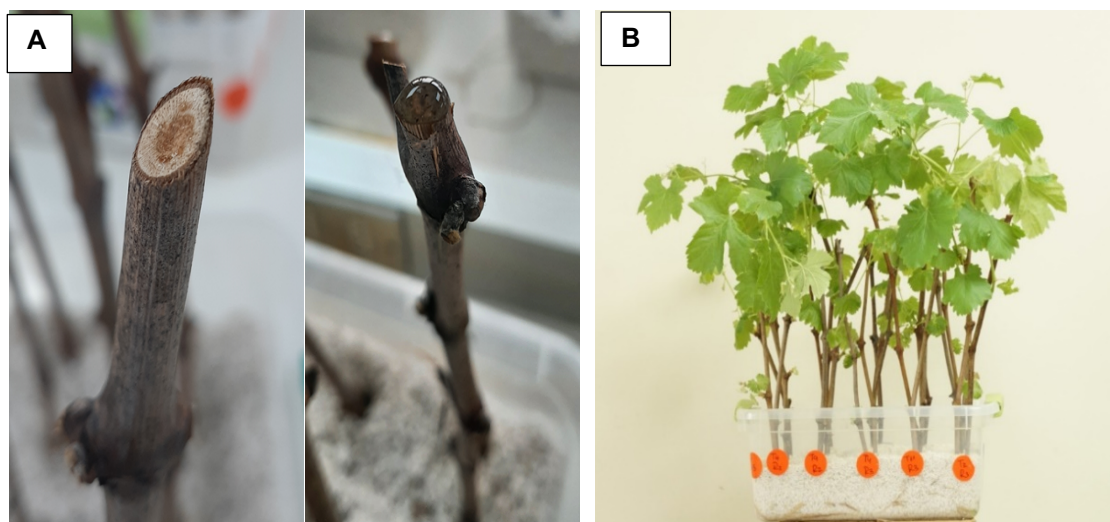
Tratamiento	Especie	Aislado	Hospedero	Localidad de muestra	
1	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Bot-2017-LT6	LT6-Mz	Manzano	Los Niches
2	<i>Diplodia seriata</i>	Bot-2017-DS3	DS3-Mz	Manzano	Molina
3	<i>Neofusicoccum arbuti</i>	Bot-2018-NA32	NA32-Mz	Manzano	Parral
4	<i>Diplodia mutila</i>	Bot-2017-DM2	DM2-Mz	Manzano	Talca
5	<i>Diplodia seriata</i>	Bot-2016-DS1-Vid	DS1-Vid	Vid	San Clemente
6	<i>Neofusicoccum parvum</i>	Bot-2016-NP10-Vid	NP10-Vid	Vid	Curicó
7	<i>Neofusicoccum parvum</i>	Bot-2019-NP7-Ara	NP7-Ara	Arándano	Longaví
8	<i>Neofusicoccum parvum</i>	Bot-2019-NP9-Ara	NP9-Ara	Arándano	Linares
9	<i>Diplodia mutila</i>	Bot-2017-Dmnog-4	DM4-Nog	Nogal	Parral
10	<i>Neofusicoccum parvum</i>	Bot-2019-NP17-Nog	NP17-Nog	Nogal	San Rafael
11	Control	Agua	Agua	-	-

### 3.3 Colección material vegetal en receso para estacas en laboratorio.

En este estudio se colectó material vegetal desde el campo Concha y Toro correspondiente a un huerto productivo de vides cv. Cabernet Sauvignon y Syrah en la Región del Maule. Se visitó el campo en la época de junio 2021 y se cosechó cargadores aparentemente sanos en receso de 50 cm para formar estacas (n=520). Las estacas aparentemente sanas fueron transportadas al laboratorio de Patología Frutal para su procedimiento.

#### 3.4 Inoculación de cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon y Syrah en laboratorio.

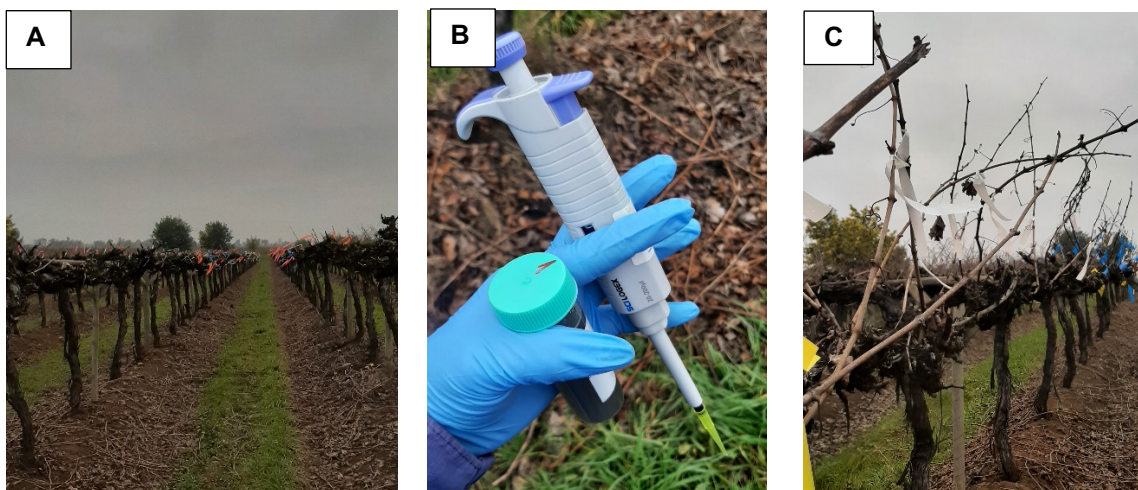
Para este estudio se utilizaron aproximadamente 200 cargadores lignificados de vides de cada uno de los cultivares (Cabernet Sauvignon y Syrah) de un año con longitud de 50 cm (abarcó 10 aislados de Botryosphaeriaceae y el testigo; total de 11 tratamientos). Los cargadores, aparentemente libre de enfermedades y plagas, se recolectaron en receso en la época de junio, y fueron trasladados al laboratorio para su implementación. Las muestras fueron superficialmente desinfectadas usando cloro al 0,5% durante 1 minuto, para luego lavar con agua por 3 minutos y se dejarlas 30 minutos sobre papel absorbente (NOVA) a temperatura ambiente (20°C) para secarlas. Los cargadores se colocaron de manera vertical al interior de cajas plásticas de 60x30 centímetros (cm), previamente desinfectadas, se les añadió en su interior de 10 litros de perlita y se humedeció agregando 3 litros de agua de forma generalizada, para que posteriormente cada estaca se sumergiera a 5 cm de profundidad. En cada caja se dispuso de 25 estacas y se procedió a podar en receso (junio) realizando un corte en bisel en los cargadores hasta llegar a unos 40 cm aproximadamente para eliminar posibles contaminaciones. Las muestras se mantendrán a una temperatura ambiente de 20°C, con luz natural. Inmediatamente después del corte, las estacas fueron inoculadas con 5 especies diferentes de hongos, *Lasiodiplodia theobromae* (LT), *Diplodia seriata* (DS), *Neofusicoccum arbuti* (NA), *Diplodia mutila* (DM) y *Neofusicoccum parvum* (NP), todos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae, con una micropipeta se tomó 100 uL de una suspensión líquida de fragmentos de micelio de cada aislado fungoso y se inoculó sobre la herida de poda y a una cantidad de estacas se les colocó 100 uL de agua destilada estéril (tratamiento negativo) como tratamiento testigo (Figura 3.2). Posterior a la inoculación, se mantuvieron por 6 meses, con monitoreo constante, hasta que se desarrolló una lesión externa y/o interna, con posibles signos y síntomas en el hospedero (necrosis) para ser medida con un piedemetro (mm).



**Figura 3.2.** Inoculación de estacas de vid cv Cabernet Sauvignon y Syrah con suspensión de micelios de hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae en laboratorio de Patología Frutal. Estaca de vid cv. Syrah con corte de poda en bisel e inoculada sobre herida de poda (**A**). Estacas en observación después de 4 meses inoculadas en cajas de plástico rotuladas y con perlita en su interior (**B**).

### 3.5 Inoculación de cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon en campo.

En este estudio en campo ubicado en Fundo El Llano, se utilizaron dos hileras con plantas de vid cv. Cabernet Sauvignon (15 años de edad) con 10 cargadores cada una (abarcó 10 aislados de Botryosphaeriaceae y el testigo con un total de 11 tratamientos) (Figura 3.3). Las plantas de vid fueron podadas en receso. Los cargadores fueron inoculados con 5 especies diferentes de hongos, *Lasiodiplodia theobromae* (LT), *Diplodia seriata* (DS), *Neofusicoccum arbuti* (NA), *Diplodia mutila* (DM) y *Neofusicoccum parvum* (NP), todos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae, se realizó un corte en bisel para eliminar posibles patógenos y enfermedades y con una micropipeta se tomó 100 uL de una suspensión líquida de fragmentos de micelio de cada aislado fungoso y se inoculó sobre la herida de poda y a una cantidad de estacas se les colocó 100 uL de agua destilada estéril (tratamiento negativo) como tratamiento testigo (Figura 3.3). Posterior a la inoculación, se mantuvieron por 9 meses, hasta que se desarrolló una lesión con posibles signos y síntomas en el hospedero (necrosis) para ser recolectadas, llevadas al laboratorio y medir el daño con un piedemetro (mm). Se realizó un re-aislamiento de cada cargador en medio APD con el fin de confirmar los postulados de Koch.



**Figura 3.3.** Inoculación de estacas de vid cv Cabernet Sauvignon con suspensión de micelios de hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae en campo Fundo El Llano. Hileras de vides cv. Cabernet Sauvignon antes de la inoculación (A). Materiales como micropipeta y tubo de ensayo con suspensión de hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae para realizar la inoculación en campo de vid (B). Cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon inoculados y marcados con diferentes cintas de colores (tratamientos) (C).

### 3.6 Diseño experimental y análisis estadístico de estacas de vid cv. Syrah y Cabernet Sauvignon en laboratorio.

El diseño experimental que se utilizó para el estudio de inoculación (virulencia) en estacas de vid corresponde a un diseño completamente al azar. La unidad experimental correspondió a 5 estacas lignificadas de vides cvs. Cabernet Sauvignon y Syrah, empleando 3 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 realizará una prueba de rango Múltiple de Tukey. Se utilizó programa estadístico Statgraphics Centurion 19-x64 versión 19.01.0002.

### 3.7 Diseño experimental y análisis estadístico de cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon en campo.

El diseño experimental que se utilizó para el estudio de inoculación (virulencia) en cargadores corresponde a un diseño de bloques completamente al azar. La unidad experimental correspondió a dos plantas con 10 cargadores de vides cv. Cabernet Sauvignon, empleando 4 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 realizará una prueba de rango Múltiple de Tukey. Se utilizó el programa estadístico Statgraphics Centurion 19-x64 versión 19.01.0002.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Virulencia en estacas inoculadas con micelio en laboratorio.

Las estacas de vid cv. Cabernet Sauvignon y Syrah inoculadas con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp. desarrollaron lesiones necróticas causando diferentes grados de daño y muerte regresiva en las estacas (Figura 4.1). Los síntomas que se presentaron abarcan desde la herida de poda hasta la base de la estaca, observándose muerte de la yema más cercana a la herida de poda causando muerte regresiva de la estaca de vid. Las lesiones necróticas fueron observadas en todas las inoculaciones con Botryosphaeriaceae en ambos cultivares de vides (Figura 4.2 y 4.3).



**Figura 4.1.** Lesión necrótica interna y externa en estacas de vid cv. Cabernet Sauvignon luego de 6 meses a temperatura ambiente (20-22°C) en laboratorio, inoculadas con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp. Estaca de vid cv. Syrah inoculada con *L. theobromae* presentando una pequeña lesión (A). Estaca inoculada con *D. seriata* en cv. Syrah mostrando necrosis desde la herida de poda (B). Estacas cv. Cabernet Sauvignon inoculadas con *N. parvum* con 45 mm de lesión (C).

#### 4.1.1 Cabernet Sauvignon

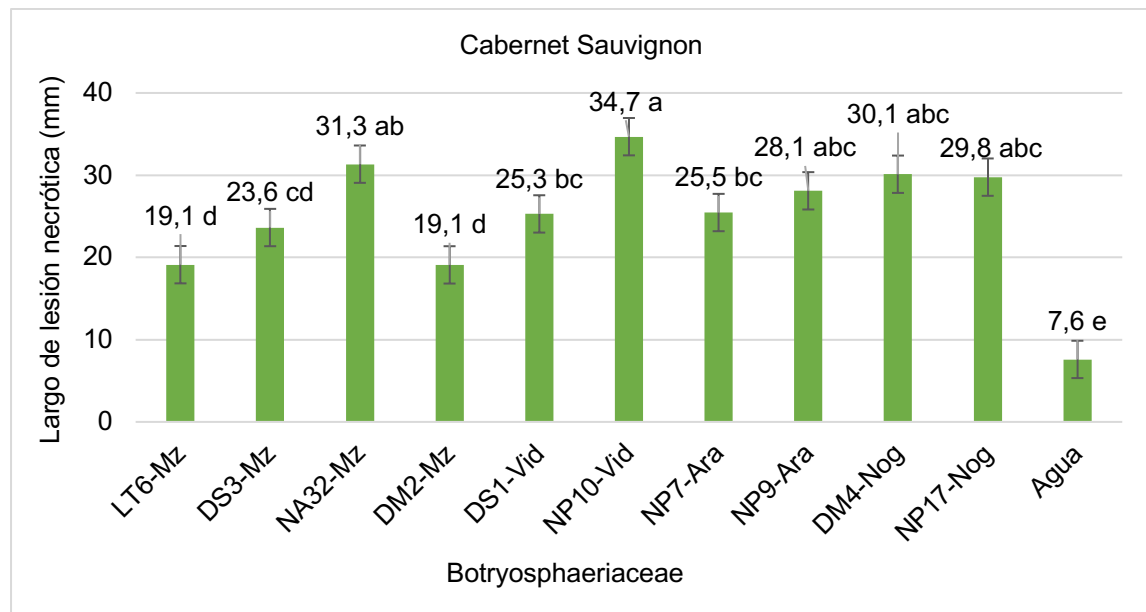
En cuanto al largo de la lesión necrótica existe diferencia significativa entre los tratamientos (Cuadro 4.1) donde el aislado *N. parvum* obtenido de vid fue el más virulento en el cultivar Cabernet Sauvignon, con un promedio de 34,7 mm de longitud (Figura 4.2). La segunda especie

más virulenta corresponde a *N. arbuti* obtenido de manzano con 31,3 mm seguida por *N. parvum* de nogal y *N. parvum* de arándano, especies significativamente más virulentas en estacas de vid cv. Cabernet Sauvignon. La especie *L. theobromae* obtenida de manzano es significativamente la menos virulentas dentro de los aislados obtenidos en conjunto con *Diplodia mutila* (aislado de manzano). Las estacas inoculadas como tratamiento testigo, no presentaron una lesión significativa, siendo casi nula. En todas las estacas inoculadas con los aislados de Botryosphaeriaceae fueron (100%) positivas a los re-aislamientos en medio de APD, confirmando la identificación de los aislados de Botryosphaeriaceae basados en caracteres culturales y morfológicos (Úrbez-Torres et al., 2006; Díaz et al., 2019).

**Cuadro 4.1.** Análisis de varianza para Log Largo de lesión (mm) por tratamientos.

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	17,6526	10	1,76526	54,58	0,0000
Intra grupos	3,20165	99	0,0323399		
<b>Total (corregido)</b>	<b>20,8543</b>	<b>109</b>			

\* 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.** Lesión necrótica en estacas de vid cv. Cabernet Sauvignon después de 167 días a temperatura ambiente en laboratorio, inoculadas en corte de poda distal con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp. obtenidos desde hospederos frutales como manzano, vid, arándano y nogal con muerte regresiva.

#### 4.1.2 Syrah

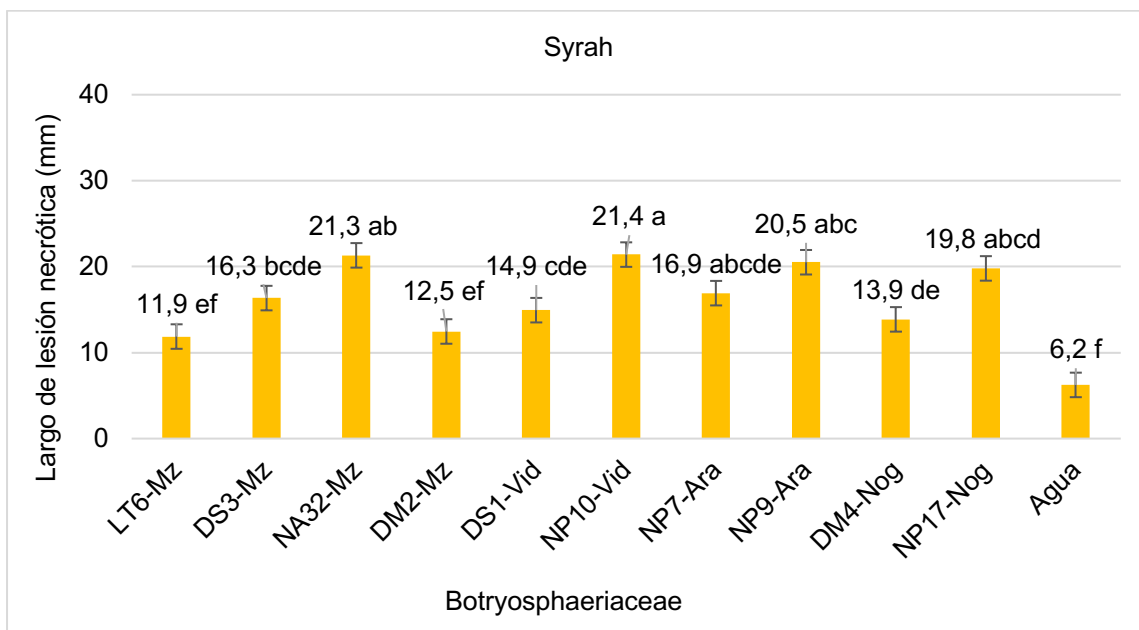
En el análisis estadístico se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los promedios ( $P=0,0000$ ) de largo de lesión (mm), donde la lesión necrótica a nivel longitudinal en el cultivar Syrah más significativa fue la producida por la inoculación con aislado de *N. parvum* obtenidos de vid con un promedio de 21,4 mm seguida de *N. arbuti* obtenido de manzano con 21,3 mm de promedio respectivamente (Cuadro 4.2 y Figura 4.3). También dentro de las especies significativamente más virulentas obtenidas están los dos aislados *N. parvum* obtenidos de arándano y *N. parvum* de nogal. Dentro del estudio, *L. theobromae* obtenida de manzano es significativamente las menos virulentas dentro de los aislados obtenidos. Las estacas inoculadas como tratamiento testigo, no presentaron una lesión significativa. La identificación fue confirmada observando colonias y conidias de los diferentes aislados de Botryosphaeriaceae spp. obtenidas desde los re-aislamientos: *Lasiodiplodia theobromae* (Figura 4.7), *Diplodia mutila* (Figura 4.8), *D. seriata* (Figura 4.9), *Neofusicoccum arbuti* (Figura 4.10) y *N. parvum* (Figura 4.11) (Úrbez-Torres et al., 2006; Díaz et al., 2019). En los re-aislamientos de estacas utilizados como testigos (tratamiento testigo) fueron 100% negativos a hongos fitopatógenos.

**Cuadro 4.2.** Análisis de varianza para Rank Largo de lesión (mm) por tratamientos.

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	65075,4	10	6507,54	14,06	0,00001
Intra grupos	45823,6	99	462,865		
<b>Total (corregido)</b>	<b>110899,0</b>	<b>109</b>			

\* 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.

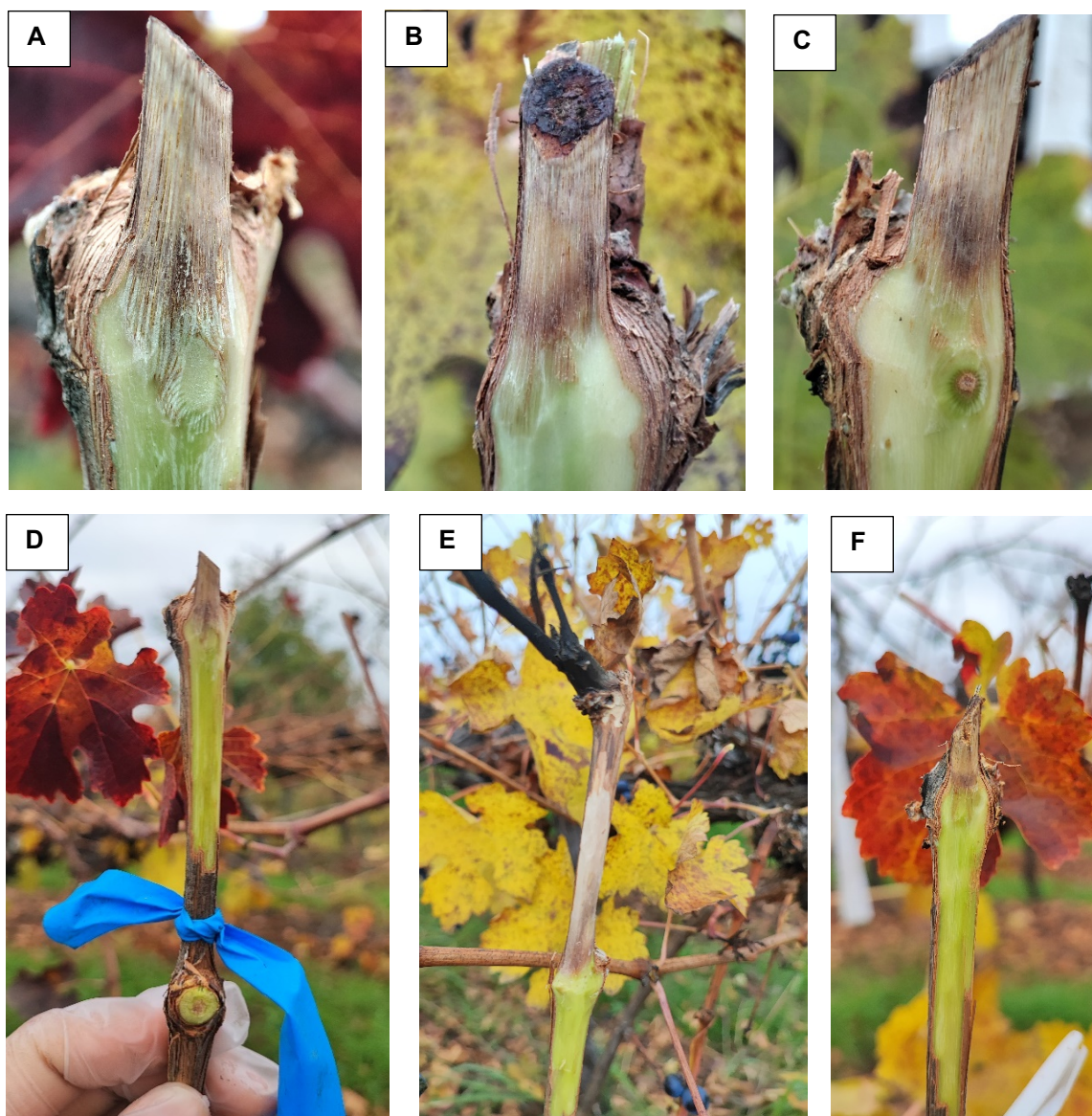




**Figura 4.3.** Lesión necrótica en estacas de vid cv. Syrah después de 168 días a temperatura ambiente en laboratorio, inoculadas en corte de poda distal con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp. obtenidos desde hospederos frutales como manzano, vid, arándano y nogal con muerte regresiva.

#### 4.2 Virulencia de Botryosphaeriaceae en cargadores inoculados con micelio en el campo.

Dentro del estudio, en la patogenicidad en campo todos los cargadores en las plantas de vid cv. Cabernet Sauvignon inoculados con micelio obtenido de especies de Botryosphaeriaceae desarrollaron mayor lesión que las estacas de laboratorio, causando lesiones necróticas de diferentes grados de daño e infección y muerte regresiva en los cargadores, demostrándose en el análisis estadístico en el que se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los promedios ( $P = 0,0000$ ) de largo de lesión (mm) obteniendo una diferencia significativa entre la media de los tratamientos. (Cuadro 4.3 y Figura 4.4).



**Figura 4.4.** Lesión necrótica en cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon después de 9 meses en condiciones de campo, inoculadas con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae. Lesión en tratamiento N°6 a causa de especie *N. parvum* aislado de vid (**A** y **D**). Lesión por *D. mutila* obtenida de manzano (**B**). Lesión causada por *N. parvum* aislado de arándano (**C**). Larga lesión provocada por *N. arbuti* aislado de manzano (**E**). Lesión más pequeña en tratamiento N°1 inoculado con *L. theobromae* (**F**)

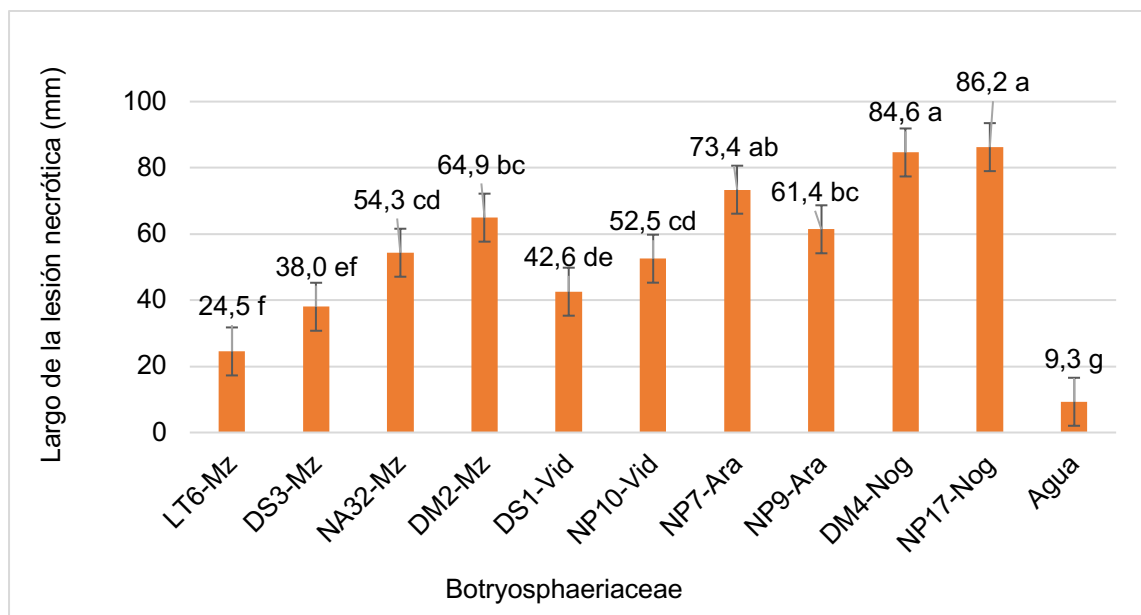
Las dimensiones del largo de las lesiones necróticas en los cargadores de la vid el promedio de lesión inoculadas con *N. parvum* (nogal) fue de 86,2 mm de longitud y con *D. mutila* (nogal) fue de 84,6 mm seguida de *N. parvum* (arándano) con 73,4 mm de longitud, especies las cuales

fueron significativamente las más virulentas (Figura 4.5). Con una lesión intermedia están las especies *D. mutila* (manzano), *N. parvum* (arándano), *N. arbuti* (manzano), *N. parvum* (vid) y *D. seriata* (vid) atacando de igual forma a la vid, pero con menor longitud de lesión necrótica. La especie *D. seriata* (manzano) y *L. theobromae* (manzano) fueron significativamente una de las menos virulentas con 38 mm y 24,5 mm de longitud respectivamente, en conjunto con el tratamiento control el cual alcanzó los 9,3 mm.

**Cuadro 4.3.** Análisis de varianza para del largo de lesión (mm) – Suma de Cuadrados Tipo III.

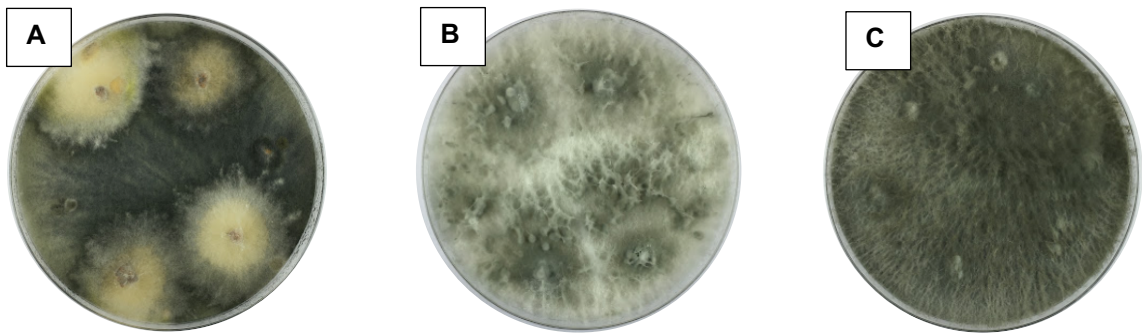
Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-p
<b>A: Tratamiento</b>	23146,9	10	2314,69	69,15	0,0000
<b>B: Bloque</b>	149,424	3	49,8079	1,49	0,2378
<b>Residuos</b>	1004,17	30	33,4723		
<b>Total (corregido)</b>	24300,5	43			

\* 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.

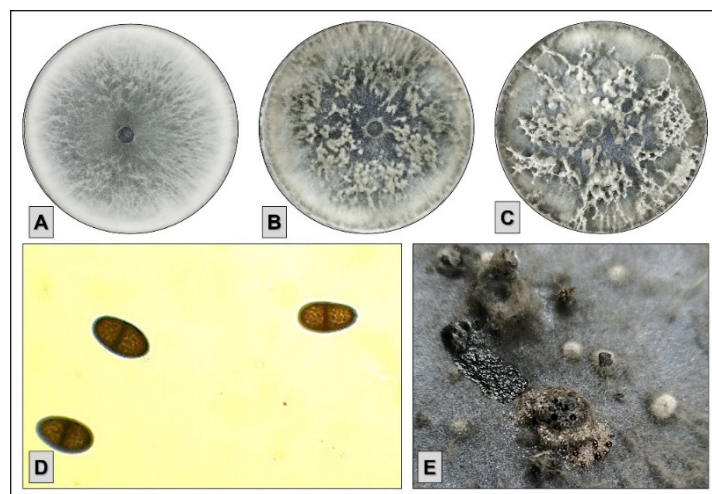


**Figura 4.5.** Lesión necrótica en cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon después de 279 días en condiciones de campo en Fundo el Llano de San Clemente, inoculadas en corte de poda distal con suspensión de fragmentos de micelio de Botryosphaeriaceae spp. obtenidos desde hospederos frutales como manzano, vid, arándano y nogal con muerte regresiva.

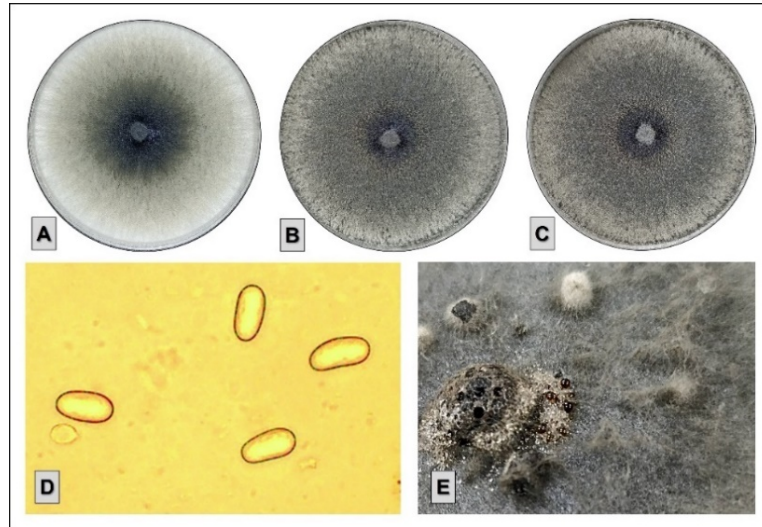
Desde estacas inoculadas en campo tras obtener la lesión se realizó el re-aislamiento de las especies fungosas de los 10 tratamientos, identificando a cada aislado y confirmando los postulados de Koch (Figura 4.6). La identificación fue confirmada observando las colonias y conidias de los diferentes aislados de Botryosphaeriaceae spp. obtenidas desde los re-aislamientos de las especies de Botryosphaeriaceae: *Lasiodiplodia theobromae* (Figura 4.7), *Diplodia mutila* (Figura 4.8), *D. seriata* (Figura 4.9), *Neofusicoccum arbuti* (Figura 4.10) y *N. parvum* (Figura 4.11). En los re-aislamientos de cargadores utilizados como testigos fueron 100% negativos a hongos fitopatógenos (Figura 4.7 a 4.11).



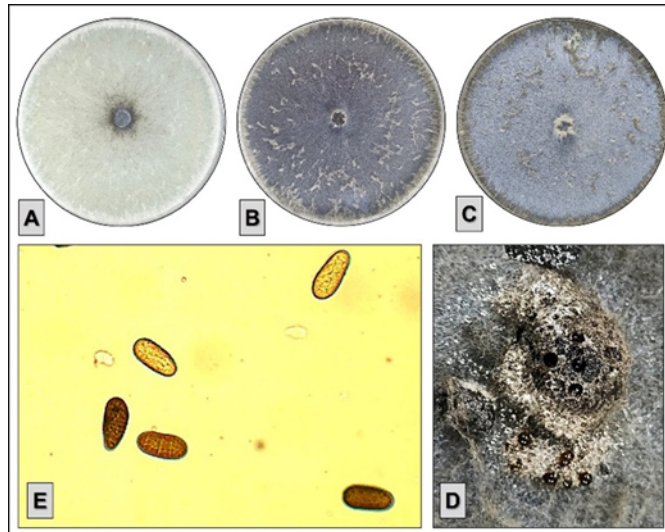
**Figura 4.6.** Re-aislamiento desde cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon inoculados con Botryosphaeriaceae en el campo. Colonias de *L. theobromae* obtenida desde re-aislamiento de cargador inoculado con *L. theobromae* (aislado de manzano) (A). Colonias de *N. arbuti* obtenida desde re-aislamiento de cargador inoculado con *N. arbuti* (aislado de manzano) (B). Colonias de *N. parvum* obtenida desde re-aislamiento de cargador inoculado con *N. parvum* (aislado de nogal) (C).



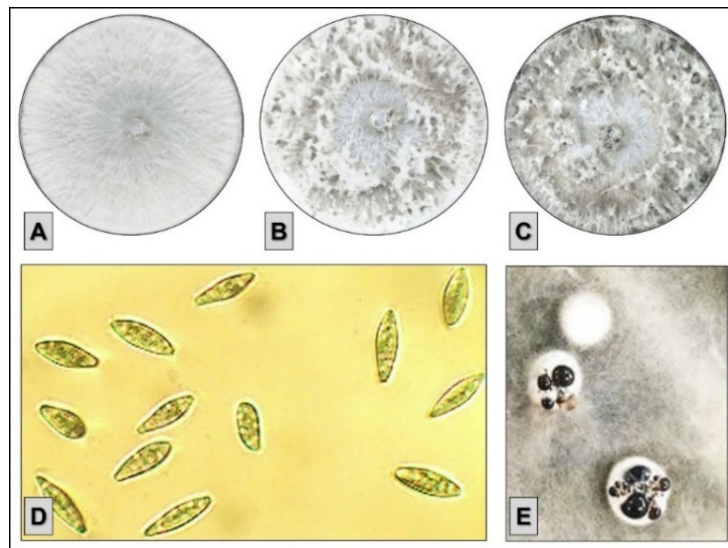
**Figura 4.7.** Características culturales y morfológicas de *Lasiodiplodia theobromae*. Crecimiento micelial al día 7 de incubación a 20°C (A). Crecimiento micelial al día 14 de incubación a 20°C (B). Crecimiento micelial al día 21 de incubación a 20°C (C). Conidios subovoides a elipsoides de ápice ampliamente redondeada y base truncada, amplia en el medio y angosta en los extremos, de paredes finas, café oscura y septada en la madurez y con apariencia de estriado en la superficie vistos al microscopio con aumento 40X (D). Picnidios en cultivo con medio APD (E).



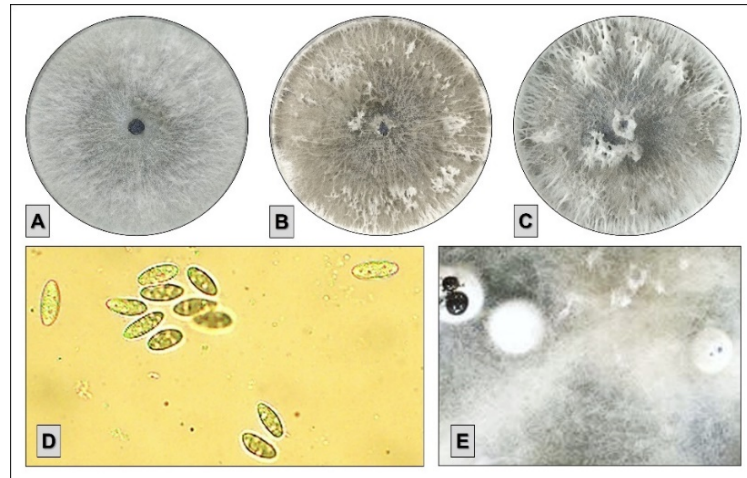
**Figura 4.8.** Características culturales y morfológicas de *Diplodia mutila*. Crecimiento micelial al día 7 de incubación a 20°C (A). Crecimiento micelial al día 14 de incubación a 20°C (B). Crecimiento micelial al día 21 de incubación a 20°C (C). Conidios ovoides a elipsoides, amplia en el centro con un extremo redondeado, hialinas y aseptadas vistos al microscopio con aumento 40X (D). Picnidios en cultivo con medio APD (E).



**Figura 4.9.** Características culturales y morfológicas de *Diplodia seriata*. Crecimiento micelial al día 7 de incubación a 20°C (A). Crecimiento micelial al día 14 de incubación a 20°C (B). Crecimiento micelial al día 21 de incubación a 20°C (C). Conidios ovoides a elipsoides, amplia en el centro con extremo redondeado, siendo hialina inicialmente y café oscuro en su madurez y aseptadas vistos al microscopio con aumento 40X (D). Picnidios en cultivo con medio APD (E).



**Figura 4.10.** Características culturales y morfológicas de *Neofusicoccum arbuti*. Crecimiento micelial al día 7 de incubación a 20°C (A). Crecimiento micelial al día 14 de incubación a 20°C (B). Crecimiento micelial al día 21 de incubación a 20°C (C). Conidios fusiformes, de ápice obtuso, hialinos y aseptados vistos al microscopio con aumento 40X (D). Picnidios en cultivo con medio APD (E).



**Figura 4.11.** Características culturales y morfológicas de *Neofusicoccum parvum*. Crecimiento micelial al día 7 de incubación a 20°C (**A**). Crecimiento micelial al día 14 de incubación a 20°C (**B**). Crecimiento micelial al día 21 de incubación a 20°C (**C**). Conidios elipsoides, con un ápice obtuso y una base truncada, siendo hialinos y aseptados vistos al microscopio con aumento 40X (**D**). Picnidios en cultivo con medio APD (**E**).

## V. DISCUSIÓN

Los aislados de *Lasiodiplodia (L.) theobromae*, *Diplodia (D.) seriata*, *D. mutila*, *Neofusicoccum (N.) arbuti* y *N. parvum* pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae obtenidos desde diferentes hospederos frutales (manzano, vid, nogal y arándano) con muerte regresiva fueron capaces de infectar y causar necrosis en diferente grado a las estacas de vid cv Cabernet Sauvignon y Syrah. En el estudio de campo los cargadores de vid cv. Cabernet Sauvignon, inoculados con aislados de 5 especies de Botryosphaeriaceae causaron lesiones necróticas visibles y significativas en la madera, junto con reproducción de síntomas de muerte regresiva (muerte de yemas cercana a la herida de poda) y brotación en yemas inferiores. Por lo tanto, en el presente estudio se demuestra la capacidad de Botryosphaeriaceae de diferente origen frutal (hospederos) en causar muerte regresiva en vides. Este trabajo constituye la primera evidencia en probar la infección cruzada de estas especies de Botryosphaeriaceae en vid en Chile.

Varios estudios realizados a nivel mundial han demostrado patogenicidad por hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae causando lesiones necróticas, canchales y muerte regresiva en diversos hospederos (Phillips, 2002; Chebil et al., 2017) incluyendo vides (Úrbez-Torres et al., 2006; Abreo et al., 2012; Úrbez-Torres et al., 2012), arándanos (Xu et al., 2015; Tennakoon et al., 2018; Hilario et al., 2020), manzanos (Delgado-Cerrone et al., 2016; Sessa et al., 2016), nogales (Chen et al., 2014; Yildiz et al., 2022), paltos (McDonald and Eskalen, 2011), entre otros hospederos leñosos (Slippers et al., 2006; Moral et al., 2010; Úrbez-Torres et al., 2013; Adesemoye et al., 2014; Moreira-Morrillo et al., 2021). Por lo tanto, el actual estudio ratifica los estudios indicados arriba, que especies de Botryosphaeriaceae causan necrosis de tejidos lignificados de la vid.

A nivel nacional estudios realizados han demostrado infección a través de patógenos de Botryosphaeriaceae en kiwis (Díaz et al., 2020), manzanos (Díaz et al., 2018), nogales (Díaz et al., 2018; Luna et al., 2022), arándanos (Espinoza et al., 2009), palto (Valencia et al., 2018) y también en vides (Morales et al., 2012) uno de los frutales más estudiados. En este sentido en Chile se han determinado varias especies de Botryosphaeriaceae en vid como *D. seriata*, *N. parvum*, *N. australe*, *D. mutila* principalmente. En un trabajo realizado por Díaz et al. (2013) se demuestra la virulencia en vid a causa de Botryosphaeriaceae a través de síntomas en la planta, tras identificar casi un 56% de esta familia en Chile, encontrando a *D. seriata*, *D. mutila*, *N. parvum* y *Spencermartinsia (S.) viticola* demostrando que hongos de Botryosphaeriaceae están involucrados a enfermedades de tronco en la vid, siendo *D. seriata* la especie más frecuente asociada a este tipo de enfermedades. De forma similar, pero en Cataluña, España, Martos (2008) identificó especies de Botryosphaeriaceae como causante de enfermedades de la madera



en viñedos, siendo *D. seriata* la especie más frecuente, seguida por *N. parvum* y *B. dothidea*. Estos estudios, en conjunto con el presente trabajo, demuestran la importancia de los hongos fitopatógenos de la familia de las Botryosphaeriaceae como causantes de enfermedades de la madera en diversos hospederos.

El estudio realizado mostró que las especies *L. theobromae*, *D. seriata*, *D. mutila*, *N. parvum* y *N. arbuti* causaron lesiones necróticas en estacas (laboratorio) y cargadores (campo) de vid, en donde las especies más agresivas en estacas de vid corresponden a *N. parvum* (aislado de vid, nogal y arándano), *N. arbuti* (aislado de manzano) y *D. mutila* (aislado de nogal), y en cargadores de vides en campo fueron *N. parvum* (aislado de nogal y arándano) y *D. mutila* (aislado de manzano). Tanto para estacas como cargadores, *L. theobromae* (aislado de manzano) fue considerada de baja agresividad, siendo la especie menos virulenta. Coincidiendo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, el trabajo en Uruguay por Delgado-Cerrone et al. (2016) y Sessa et al. (2016), donde las especies de *N. parvum* y *N. australe* fueron las más virulentas y *L. theobromae* presentó menor virulencia en ramillas de manzano. De igual manera, el trabajo previo de Díaz et al. (2022), quienes obtuvieron a *L. theobromae* como la especie menos virulenta en manzanos. Sin embargo, en estudio de vides en California y México, *L. theobromae* es considerada una especie virulenta y de importancia, junto con las especies de *Neofusicoccum*, siendo considerada más virulenta que especies de *Diplodia* (Úrbez-Torres et al., 2008; Úrbez-Torres y Gubler, 2009). Es más, en vides las especies de *Neofusicoccum* spp. fueron catalogadas como virulentas al colonizar la madera más rápido en Nueva Zelanda (Amponsah et al., 2011), Estados Unidos (Úrbez-Torres et al., 2011), España (Pintos et al., 2012), Australia (Pitt et al., 2013) y Chile (Díaz et al., 2013). El estudio de Pitt et al. (2013) realizado en vides cv. Chardonnay demostró que *N. parvum* y *L. Theobromae* como las especies más virulentas en cuanto a longitud de lesión, avalando a *N. parvum* como agresivo, pero siendo contradictorio para el caso de *L. theobromae*, especie la cual fue menos agresiva en el presente estudio. Esto se puede deber a las condiciones medioambientales, ya que el estudio realizado por Pitt et al. (2013) fue realizado en Australia y *L. Theobromae* es una especie subtropical a tropical (Dissanayake et al., 2016), por ende, la temperatura es importante en cuanto a la fisiología y patogenicidad, demostrado en estudio de vides en México y Estados Unidos y en Arándanos en Perú como una especie altamente agresiva (Gramaje et al., 2018; Rodríguez-Gálvez et al., 2020).

En cuanto a virulencia intermedia a baja, los patógenos *D. seriata* y *D. mutila* presentaron lesiones necróticas de menor extensión siendo *D. mutila* poco agresiva en estacas, no por el contrario en cargadores de vid, que fue una de las especies que más causó daño longitudinal después de *N. parvum*. No obstante, hay especies consideradas altamente virulentas y de virulencia débil en algunos casos, como lo es la especie *D. mutila*, considerada ambigua, en la

cual estudio realizado por Phillips (1998) en Portugal y otro realizado por Taylor et al. (2005) en Australia demostraron a *D. mutila* como una especie de agresividad débil, en cambio, en el estudio de Van Niekerk et al. (2004) en África y el de Billones- Baaijens et al. (2013) en Nueva Zelanda muestran a *D. mutila* como un patógeno más agresivo. Evidenciando que especies pueden ser patógenos causantes de daños y en otros casos presentarse como patógenos oportunistas y causar daños leves debido a factores que influyen en la variabilidad de virulencia en especies pertenecientes a Botryosphaeriaceae.

Aislados obtenidos de diversos hospederos son altamente agresivos tanto en hospederos iguales al de obtenido el aislado como en hospederos alternativos, evidenciado en el trabajo realizado por Van Dyk et al. (2021), presenta que hongos de la madera, como los de la familia Botryosphaeriaceae, estaban asociadas a muerte en olivos europeos y olivos silvestres, indicando que los aislados obtenidos desde el mismo hospedero (olivo europeo) fueron más virulentos que los aislados obtenidos desde otros hospederos (olivo silvestre). Por el contrario, para el caso del hongo *Eutypa lata*, el aislado obtenido desde otro hospedero, es decir de olivos silvestres, fue el más virulento, por ende, los datos evidencian que las especies más virulentas fueron aislados obtenidos tanto del mismo hospedero como de otros hospederos (Van Dyk et al., 2021) coincidiendo con el presente estudio, en donde estacas de vid inoculadas con aislados obtenidos de vid fueron más virulentas que los aislados obtenidos por otros hospederos frutales y en el caso del estudio en campo, los cargadores aislados con especies obtenidos de otros hospederos fueron las más virulentas.

Este estudio aporta información en cuanto a patogenicidad cruzada, demostrando que hay lesiones necróticas en vid por especies de Botryosphaeriaceae spp. obtenidos de distintos hospederos frutales (Sessa et al., 2016; Van Dyk et al., 2021; Mojeremane et al., 2020). Nuestros resultados concuerdan con el estudio realizado por Mojeremane et al. (2020) en Sudáfrica, demostrando que los aislados *N. australe* y *N. stellenboschiana* originados en hospederos como vides, ciruelos, manzanos, olivos y pimiento boliviano fueron capaces de causar daño en hospederos alternativos como vides, ciruelos, manzanos, olivos y pimiento boliviano, difiriendo en virulencia entre los aislados. Por lo que en el estudio realizado por Mojeremane et al. (2020) se demuestra la capacidad de infección cruzada de Botryosphaeriaceae en diversas especies frutales y ornamentales. No obstante, es necesario realizar más estudios para observar y determinar lesiones causadas en diferentes hospederos infectados con Botryosphaeriaceae spp. obtenidas de otros hospederos y así corroborar una infección cruzada entre hospederos frutales.

## VI. CONCLUSIÓN

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

1. En las estacas de *Vitis vinifera* cvs. Cabernet Sauvignon y Syrah, las especies *N. parvum* (aislado de vid, nogal y arándano), *N. arbuti* (aislado de manzano) y *D. mutila* (aislado de nogal) fueron los más virulentos). *L. theobromae* (aislado de manzano) fue la menos virulenta.
2. En el campo, los cargados de vid cv. Cabernet Sauvignon se vieron principalmente afectados por *N. parvum* (aislado de nogal y arándano) y *D. mutila* (aislado de manzano). La especie *L. theobromae* (aislado de manzano) fue la menos virulenta.
3. La hipótesis se rechaza, porque en vid cvs. Cabernet Sauvignon y Syrah, las especies de *Neofusicoccum* fueron las más virulentas incluyendo aislados obtenidos desde vides, manzanos, arándanos y nogales.

## VII. CITAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreo, E., Martinez, S., Bettucci, L. and Lupo, S. 2013. Characterization of Botryosphaeriaceae species associated with grapevines in Uruguay. *Australasian Plant Pathology* 42: 241–249.

Adesemoye, T., Mayorquin, J., Twizeyimana, M., Wang, D., Lynch, S. and Eskalen, A. 2014. Identification of Species of Botryosphaeriaceae Causing Bot Gummosis in Citrus in California. *Plant Diseases* 98 (1): 55-61.

Agrios, G. 2005. *Plant Pathology*. Fifth edition. Elsevier. USA.

Almanza, J. 2011. Determinación el crecimiento y desarrollo del fruto de vid (*Vitis vinifera* L.) bajo condiciones de clima frío tropical. Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Agropecuarias Área Agraria. Bogotá, Colombia. Facultad Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. 167.

Alves, A., Barradas, C., Phillips, A., and Correia, A. 2013. Diversity of *Botryosphaeriaceae* species associated with conifers in Portugal. *European Journal of Plant Pathology* 135: 791-804.

Amponsah, N., Jones, E., Ridway, H. and Jaspers, M. 2011. Identification, potential inoculum sources and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species associated with grapevine dieback disease in New Zeland. *European Journal of Plant Pathology* 131: 467.

Armengol, J. 2017. Enfermedades fúngicas de madera de la vid. Una visión general del problema. *Enovicultura*. 46: 6-15

Auger, J.; Esterio; M., Ricke G. and Pérez I. 2004. Black dead arm and basal canker of *Vitis vinifera* cv. Red Globe caused by *Botryosphaeria obtusa* in Chile. *Plant Disease* 88 (11): 1286.

Bertsch, C., Ramírez-Suero, M., Magnin-Robert, M., Larignon, P., Chong, J., Abou-Mansour, E., Spagnolo, A., Clément, C. and Fontaine, F. 2013. Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood. *Plant Pathology* 62: 243-265.

Besoain, X., Torres, C., Díaz, G. and Latorre, B. 2013. First report of *Neofusicoccum australe* associated with Botryosphaeria canker of grapevine in Chile. *Plant Disease* 97 (1): 143.

Billones-Baaijens, R., Ridway, H., Jones, E., Cruickshank, R. and Jaspers, M. 2013. Prevalence and distribution of Botryosphaeriaceae species in New Zealand grapevine nurseries. *European Journal of Plant Pathology* 135: 175-185.

Bruno, G.; Sparapano, L. and Graniti, A. 2007. Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L.: IV. Diffusion through the xylem of metabolites produced by two tracheiphilous fungi in the wood tissue of grapevine leads to esca-like symptoms on leaves and berries. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 71: 106-124.

Centro Tecnológico de la vid y el vino (CTVV). 2010. Enfermedades de *Vitis vinifera*. Universidad de Talca, Chile. 2.

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.

Crous, P., Slippers, B., Wingfield, M., Rheeder, J., Marasas, W., Philips, A., Alves, A., Burgess, T., Barber, P. and Groenewald, J. 2006. Phylogenetic lineages in the *Botryosphaeriaceae*. *Studies in Mycology*. 55: 235–253.

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* 143 (3): 637-655.

Díaz, G., Prehn, D., Besoain, X., Chávez, E. and Latorre, B. 2011. *Neofusicoccum parvum* associated with grapevine trunk diseases in Chile. *Plant Disease* 95 (8): 1032-1032.

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

Díaz, G. and Latorre, B. A. 2013. Efficacy of paste and liquid fungicide formulations to protect pruning wounds against pathogens associated with grapevine trunk diseases in Chile. *Crop Protection* 46: 106-112.

Díaz, G. and Latorre, B. A. 2014. Infection Caused by *Phaeoconiella chlamydospora* associated with Esca-like Symptoms in Grapevine in Chile. *Plant Disease* 98 (3): 351-360.

Díaz, G., Latorre, B., Ferrada, E., Gutiérrez, M., Bravo, F. and Lolas, M. 2018. First report of *Diplodia mutila* causing branch dieback of English Walnut cv. Chandler in the Maule Region, Chile. Plant Disease 42: 1451.

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

Díaz, G. 2020. 'Cancrosis y muerte regresiva por Botryosphaeriaceae en manzanos' Etiología y aspectos epidemiológicos en Chile. Centro de pomáceas. Universidad de Talca.

Díaz, G., Zoffoli, J., Ferrada, 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. 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.

Dissanayake, A., Phillips A., Li, X. and Hyde, K. 2016. *Botryosphaeriaceae*: Current status of genera and species. Mycosphere 7, (7): 1001-1073.

Echeverria, G. 2014. Map Chilean Wine Regions. The New Vitivinicultural Zonification.

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.

Elmer, P. and Michailides, T. 2007. Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine crops. Botrytis: Biology, Pathology and Control. 243-272.

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

Fisher, M., Henk, D., Briggs, C., Brownstein, J., Madoff, L., McCraw, S. and Gurr, S. 2012. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature*. 484: 186-194.

Francisca Jara. 2022. El carácter del Syrah chileno. [En línea] Recuperado en <<https://conchaytoro.com/blog/el-caracter-del-syrah-chileno/>>. Consultado el 30 de julio del 2022.

Gramaje, D. and Armengol, J. 2011. Fungal Trunk Pathogens in the Grapevine Propagation Process: Potential Inoculum Sources, Detection, Identification, and Management Strategies. *Plant Disease* 95 (9): 1040-1055.

Gramaje, D., Úrbez-Torres, J. and Sosnowski, M. 2018. Managing Grapevine Trunk Diseases With Respect to Etiology and Epidemiology: Current Strategies and Future Prospects. *Plant Disease* 102: 12-39.

Gramaje, D., Armengol, J., Barajas, E., Berbegal, M., Chacon, J., Cibriain, J., Díaz, E., López, B., Muñoz, R., Martínez, M., Rubio, J. and Sagües, A. 2020. Guía sobre las enfermedades fúngicas de la madera de la vid. Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología. Madrid, España. 86.

Herrera, F. 2018. Caracterización molecular y patogenicidad de aislados de *Diplodia seriata* asociados a muerte regresiva de brazos de manzanos. Memoria para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad de Talca. Talca, Chile. 35.

Hilario, 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.

Laguna, E. 2003. Sobre las formas Naturalizadas de *Vitis L.* (Vitaceae) en la comunidad Valenciana, I. Especies. *Flora Montiberica*. 23: 46-82.

Larignon, P. y Dubos, B. 1997. Fungi associated with esca Disease in grapevine. *European Journal of Plant Pathology*. 103: 147-157.

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

Latorre, B. 2004. Enfermedades de las plantas cultivadas. Sexta Edición. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 638.

Lavín, A. y Matsuya, K. 2004. Página 51 en: Frutales: especies con Potencial en el Secano Interior. Editado: Sotomayor, J. Boletín INIA. Chillán, Chile. 144.

Lawrence, D., Hand, F., Gubler, W. and Trouillas, F. 2017. *Botryosphaeriaceae* species associated with dieback and canker disease of bay laurel in northern California with the description of *Dothiorella californica* sp nov. Fungal Biology 121 (4): 347-360.

Linnaei, C. 1753. Species Plantarum. 1, 202.

Lolas, M. 2019. Enfermedades de la Vid en Chile. Sanidad Vegetal II. Universidad de Talca.

Lolas, M. 2021. Enfermedades en Arándanos y Kiwi. Patología Frutal. Universidad de Talca.

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.

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.

Maldonado, M., Sodupe, M., Berlanas, C., Bujanda, R., Gramaje, D., Martínez, M. y Díaz, E. 2018. Enfermedades fúngicas de la madera de la vid: líneas de investigación actuales y recomendaciones para su control. Cuaderno de Campo 61: 28-35.

Manawasinghe, I., Phillips, A., Hyde, K. Chethana, K., Zhang, W., Zhao, W., Yan, J. y Li, X. 2016. Mycosphere essays 14: assessing the aggressiveness of plant pathogenic *Botryosphaeriaceae*. Mycosphere 7 (7): 883-892.

Martos, S. 2008. El decaimiento de la vid; Enfermedades de la madera relacionadas con hongos de la familia Botryosphaeriaceae. Memoria para la obtención del grado de Doctor en Ciencias Biológicas. Barcelona, España. Facultat de Ciénces. Universitat Autònoma de Barcelona. 234.



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

Mojeremane, K., Lebenya, P., Du Plessis, I., Van Der Rijst, M. and Mostert, L. 2020. Cross pathogenicity of *Neofusicoccum australe* and *Neofusicoccum stellenboschiana* on grapevine and selected fruit and ornamental trees: *Neofusicoccum australe* and *N. stellenboschiana* cross pathogenicity. *Phytopathology Mediterranea*. 59 (3): 581-593.

Mondello, V., Giambra, S., Conigliaro, G., Francesca, N. and Burrmano, S. 2020. Fungal pathogens associated with grapevine trunk diseases in Young vineyards in Sicily. *Phytopathology Mediterranea* 59 (3): 453-463.

Montealegre, J.; Ramírez, M.; Riquelme, D.; Armengol, J., León, M., and Pérez, L. 2016. First Report of *Neofusicoccum australe* in Chile Causing Avocado Stem-end Rot. *Plant Disease* 100 (12): 2532-2532.

Moreno, Y. 2020. Anatomía y Morfología de la Vid. Producción Vitícola. Universidad de Talca

Moral, J., Muñoz-Díez, C., González, N., Trapero, A. and Michailides, T. 2010. Characterization and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species collected from olive and other hosts in Spain and California. *Phytopathology* 100 (12): 1340-1351.

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

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). 2022. Estadísticas productivas, Superficie y producción de vides [En línea] Recuperado en: < <https://www.odepa.gob.cl/estadisticas-del-sector/estadisticas-productivas> >. Consultado el 25 junio de 2022.

Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV). 2018. Distribution of the world's grapevine varieties. Informes OIV. Recuperado en: <<https://www.oiv.int/public/medias/5888/en-distribution-of-the-worlds-grapevine-varieties.pdf>>. Consultado el 25 de junio de 2022.

Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV). 2022. Actualidad de la coyuntura del sector vitivinícola mundial en 2021. Balance de la OIV sobre la situación vitivinícola mundial. Informes

OIV. Recuperado en: <<https://www.oiv.int/public/medias/8780/es-state-of-the-world-vine-and-wine-sector-abril-2022.pdf>>. Consultado el 25 de junio de 2022.

Pérez, S., Guerrero, J. and Galdames, R. 2018. First Report of *Neofusicoccum nonquaesitum* in Chile Causing Branch Dieback and Decline in *Araucaria araucana*. Plant Disease 102 (7): 1460-1460.

Phillips, A.J.L. 1998. Botryosphaeria dothidea and other fungi associated with excoirose and dieback of grapevines in Portugal. Journal of phytopathology 146: 327-332.

Phillips, A. 2002. *Botryosphaeria* species associated with diseases of grapevines in Portugal. Phytopathologia Mediterranea. 41, 3-18.

Picornell, M. y Melero, J. 2012. Historia del cultivo de la vid y el vino; su expresión en la biblia. Revista de la Facultad de Educación de Albacete. 27, 217-246.

Pintos, C., Redondo, V., Chaves, M., Rial, C., Agúin, O. and Mansilla, J.P. 2012. Identification and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species associated with grapevine decline in Spain. Phytopathologia Mediterranea 51: 422

Pintos, C., Redondo, V., Costas, D., Agúin, O. and Mansilla, P. 2018. Fungi associated with grapevine trunk diseases in nursery-produced *Vitis vinifera* plants. Phytopathologia Mediterranea. 57 (3): 407-424.

Pitt, W., Huang, R., Steel, C. and Savocchia, S. 2013. Pathogenicity and epidemiology of Botryosphaeriaceae species isolated from grapevine in Australia. Australasian Plant Pathology 42: 573-582.

Ramírez, M., Pérez, L. and Montealegre, J. 2018. Susceptibility of different grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars to *Diplodia seriata* and *Diplodia mutila*. Ciencia e Investigación Agraria 45 (1): 93-98.

Real Academia Española. 2014. [En línea] Recuperado en <<https://dle.rae.es/vid>>. Consultado el 01 de junio del 2021.

Redondo, V. 2019. Enfermedades de madera de viña: Identificación, Patogenicidad y Control Biológico de los hongos causantes del Decaimiento por *Botryosphaeria*. Tesis para optar a doctorado. Escola Internacional de Doutoramento. Universidad de Vigo. 212.

Reis, P., Gaspar, A., Alves, A., Fontaine, F., Lourenço, I., Saramago, J., Mota, M. and Rego, C. 2020. Early Season Symptoms on Stem, Inflorescences and Flowers of Grapevine Associated with *Botryosphaeriaceae* species. *Plants* 9: 1427.

Rodríguez-Gálvez, E., Hilário, S., Lopes, A. and Alves. 2020. Diversity and pathogenicity of *Lasiodiplodia* and *Neopestalotiopsis* species associated with stem blight and dieback of blueberry plants in Perú. *European Journal of Plant Pathology* 157: 89-102.

Rolshausen, P., Úrbez-Torres, J., Rooney-Latham, S., Eskalen, A., Smith, R. and Gubler, W. D. 2010. Evaluation of Pruning Wound Susceptibility and Protection Against Fungi Associated with Grapevine Trunk Diseases. *American Journal of Enology and Viticulture*. 61 (1): 113-119.

Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2020. Catastro Vitícola Nacional [En línea] Recuperado en: <<http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/catastro-viticola-nacional/1490/publicaciones>>. Consultado el 18 de abril de 2021.

Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2022. Catastro Vitícola Nacional [En línea] Recuperado en: <<http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/catastro-viticola-nacional/1490/publicaciones>>. Consultado el 25 de junio de 2022.

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

Shoch, C., Shoemaker, R., Seifert, K., Hambleton, S., Spatafora, J. and Crous, P. 2006. A multigene phylogeny of the *Dothideomycetes* using nuclear loci. *Mycologia*. 98: 1041-1052.

Slippers, B. and Wingfield, M. 2007. *Botryosphaeriaceae* as endophytes and latent pathogens of Woody plants: diversity, ecology and impact. *Fungal Biology*. 21: 90-106.

Smith, H., Kemp, G., and Wingfield, M. 1994. Canker and die-back of *Eucalyptus* in South Africa caused by *Botryosphaeria dothidea*. *Plant Pathology*. 43(6): 1031-1034.

Smith, H., Crous, P., Wingfield, M., Coutinho, T. y Wingfield, B. 2001. *Botryosphaeria eucalyptorum* sp. nov., a new species in the *B. dothidea*-complex on *Eucalyptus* in South Africa. *Mycologia* 93: 277–284.

Sutton, T., Aldwinckle, H., Agnelio, A. and Walgenbach, J. 2014. Compendium of apple and pear diseases and pests. Second Edition. American Phytopathological Society. Minnesota, USA. 224.

Taylor, A., Hardy, G., Wood, P. and Burgess. Identification and pathogenicity of *Botryosphaeria* species associated with grapevine decline in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 34: 187-195.

Tennakoon, K., Ridgway, H., Jaspers, M. and Eirian, 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.

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 and Gubler, W.D. 2006. Ocurrance of *Botryosphaeria obtusa*, *B. dothidea*, and *B. parva* Associated with Grapevine Trunk Diseases in Castilla y Leon Region, Spain. *Plant Diseases* 90 (6): 835-835.

Úrbez-Torres, J. R., Adams, P., Kamas, J. and Gubler, W. G. 2009. Identification, Incidence, and Pathogenicity of Fungal Species Associated with Grapevine Dieback in Texas. *American Journal of Enology and Viticulture* 60 (4): 497-507.

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

Úrbez-Torres, J. R., Peduto, F., Striegler, R., Urrea-Romero, K., Ripe, J., Cartwright, R. and Gubler W. 2012. Characterization of fungal pathogens associated with grapevine trunk diseases in Arkansas and Missouri. *Fungal Diversity* 52: 169-189.

Úrbez-Torres, J.R., Peduto, F., Vossen, P., Krueger, W., and Gubler, W. D. 2013. Muerte regresiva de ramitas y ramas de olivo: Etiología, incidencia y distribución en California. *Planta Disease* 97: 231-244.

Valencia, D., Torres, C., Camps, R., López, E., Celis-Diez, J. and Besoain, X. 2015. Dissemination of Botryosphaeriaceae conidia in vineyards in the semiarid Mediterranean climate of the Valparaíso Region of Chile. *Phytopathologia Mediterranea* 54 (2): 394-402.

Valencia, A., Gil, P., Rosales, I. and Latorre, B. 2018. 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*.

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.

Van Niekerk, J., Halleen, F. and Fourie, P. 2011. Temporal susceptibility of grapevine pruning wounds to trunk pathogen infection in South African grapevines. *Phytopathology Mediterranea* 50: 139-150.

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 (4): 737-752.

Yildiz, A., Benlioglu, S., Benlioglu, K. and Korkom, Y. 2022. Occurrence of twig blight and branch dieback of walnut caused by Botryosphaeriaceae species in Turkey. *European Journal of Plant Pathology* 129: 687-693.