



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

**Virulencia de especies de Botryosphaeriaceae obtenidas desde diferentes hospederos
frutales en vides (*Vitis vinifera* L.).**

MEMORIA DE TITULO

TOMÁS ALEJANDRO LUKOVIEK SEPÚLVEDA

2023

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, 2023

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

**Virulencia de especies de Botryosphaeriaceae obtenidas desde diferentes hospederos
frutales en vides (*Vitis vinifera* L.).**

Por

TOMÁS ALEJANDRO LUKOVIEK SEPÚLVEDA

MEMORIA DE TÍTULO

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

INGENIERO AGRÓNOMO

TALCA, 2023

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

Aprobación:



Gonzalo Díaz Ulloa

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

Profesor asociado

Escuela de Agronomía

Facultad de Ciencias Agrarias



Mauricio Lolas Caneo

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

Profesor titular

Escuela de Agronomía

Facultad de Ciencias Agrarias

Fecha de presentación de la Defensa de Memoria: 24 de abril 2023

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer mi familia; a mi Madre y mi Padre, seres de luz y pilares fundamentales que bajo cualquier tipo de adversidad han sabido luchar y prevalecer, me faltan palabras para expresar mi absoluta admiración y agradecer todo lo que han hecho por mí, infinitas gracias por su apoyo y amor incondicional que me han entregado durante toda la vida, sin importar el camino que eligiese, siempre han estado ahí dispuestos para escuchar, aconsejar y entregarme el calor de su apapacho. Gracias a mi hermano, pilar fundamental, que siempre me ha apoyado y entregado su amor incondicional, ha sido un bello ejemplo a seguir, con su sabiduría y consejo me ha brindado ganas de seguir creciendo, de superarme cada vez más y demostrarme a mí mismo de lo que soy capaz. A mi maravillosa familia, infinitas gracias.

Agradezco a mi hermosa polola y compañera, Katherine Cruz León, mi dulce frutilla silvestre de bosque encantado, quien ha sido un pilar fundamental durante mi periodo universitario, gracias por estar siempre ahí conmigo, por escucharme, aconsejarme y ayudarme a crecer como persona y como profesional, no pude haber tenido una mejor compañera y espero que sigamos compartiendo nuestros cerebros, corazones y almas por toda la vida y eternidad. Infinitas gracias a ti, amor de mi vida.

Agradezco a mis maravillosos amigos, unos vienen y otros se van, sin embargo, todos aquellos quienes me han entregado un pedacito de sí mismo, y, de quienes he logrado aprender y me han hecho crecer en esta vida, les agradezco desde lo más profundo de mi ser.

Agradezco a mi profesor guía Gonzalo Díaz por la oportunidad de trabajar en esta investigación, por su paciencia y comprensión, por su tiempo y dedicación. Muchísimas gracias.

Finalmente quiero agradecer a Yadira Hernández, quien supo guiarme y brindarme de la ayuda necesaria para realizar esta investigación. Admiro tu orden y meticulosidad, sin ti este trabajo no hubiera sido posible. Muchísimas gracias.

RESUMEN

En Chile, el cultivo de *Vitis vinifera* L. actualmente se ha estimado en superficies de 210 mil hectáreas que contemplan uvas para vinificación, uvas de mesas y uvas pasas. La mayor cantidad de viñedos se concentra principalmente en la región de O'Higgins y el Maule con un 72% del total nacional.

El establecimiento de cultivos de vides implica altos costos de producción, en donde una parte significativa de estos costos, este asociado con el manejo de plagas y enfermedades. Dentro de los agentes causales de enfermedades, los patógenos fúngicos, son de gran importancia. Especies de la familia Botryosphaeriaceae tales como; *Neofusicoccum parvum*, *N. arbuti*, *Diplodia mutila*, *D. seriata*, *Lasiodiplodia theobromae*, entre otros, cumplen un rol importante como agente causal de enfermedades de la madera en vides, produciendo canchales y muerte regresiva. Además, las especies de esta familia son capaces de afectar a gran número de hospederos, incluyendo manzanos, nogales, arándanos, avellanos, olivos, por lo que huertos de estos frutales establecidos en zonas cercanas, podrían significar posibles fuentes de inóculo para vides.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la patogenicidad y virulencia de aislados de seis especies de la familia Botryosphaeriaceae (*Neofusicoccum parvum*, *N. arbuti*, *Diplodia mutila*, *D. seriata*, *Dothiorella sarmentorum* y *Lasiodiplodia theobromae*) obtenidos desde diferentes hospederos frutales (manzano, nogal, arándano, vid y avellano). Se inocularon estacas sanas a través de heridas en los entrenudos de los cultivares de vid Cabernet Sauvignon, Syrah, Malbec, Sauvignon Blanc y Aspirant Bouschet en condiciones de invernadero durante 112 días. Los resultados del estudio demostraron que todos los aislados de especies de Botryosphaeriaceae generaron lesiones necróticas en las estacas de los cinco cultivares de vid, en donde las especies del género *Neofusicoccum* fueron las más agresivas sin importar su hospedero de origen. Por otro lado, las especies menos agresivas resultaron ser *D. mutila* (nogal), *L. theobromae* (manzano) y *Do. sarmentorum* (nogal). Las estacas del cultivar Cabernet Sauvignon resultaron ser las más susceptible a las diferentes especies inoculadas bajo condiciones de invernadero.

Palabras clave: Botryosphaeriaceae, vid, muerte regresiva, hospedero.

ABSTRACT

In Chile, the cultivation of *Vitis vinifera* L. is currently estimated at 210 thousand hectares, including wine grapes, table grapes and raisins. The largest number of vineyards is concentrated mainly in the O'Higgins and Maule regions, with 72% of the national total.

The establishment of vineyards involves high production costs, a significant part of which is associated with the management of pests and diseases. Among these diseases, fungal pathogens are of great importance. Species of the Botryosphaeriaceae family such as *Neofusicoccum parvum*, *N. arbuti*, *Diplodia mutila*, *D. seriata*, *Lasiodiplodia theobromae*, among others, play an important role as causal agents of trunk diseases in grapevines, producing cankers and dieback. In addition, the species of this family can affect a large number of fruit hosts, including apple, walnut, blueberry, hazelnut, and olive trees, so that orchards of these fruit trees established in nearby areas could be potential sources of inoculum for grapevines.

The objective of this research was to evaluate the pathogenicity and virulence of six species of the Botryosphaeriaceae family (*Neofusicoccum parvum*, *N. arbuti*, *Diplodia mutila*, *D. seriata*, *Dothiorella sarmentorum* and *Lasiodiplodia theobromae*) isolated from different fruit hosts (apple, walnut, blueberry, grapevine and hazelnut). Healthy cuttings were inoculated through wounds in the internodes of Cabernet Sauvignon, Syrah, Malbec, Sauvignon Blanc and Aspirant Bouschet grapevine cultivars under greenhouse conditions for 112 days. The results of the study demonstrated that all fungal species caused necrotic lesions on the cuttings of the five grapevine cultivars, where species of the genus *Neofusicoccum* were the most aggressive regardless of their fruit host of origin. On the other hand, the least aggressive species were *D. mutila* (walnut), *L. theobromae* (apple) and *Do. sarmentorum*. Cuttings of the Cabernet Sauvignon cultivar were found to be the most susceptible to the different species inoculated under greenhouse condition.

Key words: Botryosphaeriaceae, grapevine, dieback, host.

INDICE

	Pagina
1. Introducción	1
1.1 Hipótesis.....	3
1.2 Objetivo general.....	3
1.3 Objetivo específico.....	3
2. Revisión Bibliográfica	5
2.1 Generalidades de la vid.....	5
2.2 Cultivares de vides.....	6
2.2.1. Cultivar Cabernet Sauvignon.....	6
2.2.2. Cultivar Syrah.....	6
2.2.3. Cultivar Malbec.....	7
2.2.4. Cultivar Merlot.....	8
2.2.5. Cultivar Sauvignon Blanc.....	8
2.2.6. Cultivar Aspirant Bouschet.....	9
2.3. Situación de la superficie y producción de vides.	9
2.3.1 Situación a nivel mundial.....	9
2.3.2 Situación a nivel nacional.....	10
2.3.3 Situación en Región del Maule.....	12
2.4 Enfermedades en vides.....	13
2.4.1 Pudrición gris del racimo.....	13
2.4.2 Oídio de la vid.....	14
2.5 Enfermedades de la madera de la vid.....	14
2.6 Familia Botryosphaeriaceae.....	16
2.7 Enfermedades de la madera por Botryosphaeriaceae en vides.....	19
2.8 Enfermedades de la madera por Botryosphaeriaceae en otras especies frutales.....	23
3. Materiales y métodos	27
3.1. Ubicación del estudio.....	27
3.2. Obtención de los aislados fungosos.....	27
3.3. Preparación y establecimiento de las estacas.....	29
3.4. Inoculación de las estacas con las diferentes especies de Botryosphaeria.....	31

3.5. Re-aislamientos.....	33
3.6. Diseño experimental y análisis estadístico.....	33
4. Resultados.....	34
4.1 Virulencia en estacas de vid inoculadas bajo condiciones de invernadero.....	34
4.1.1. Virulencia en estacas de Cabernet Sauvignon.....	34
4.1.2. Virulencia en estacas de Syrah.....	38
4.1.3. Virulencia en estacas de Malbec.....	42
4.1.4. Virulencia en estacas de Sauvignon Blanc.....	46
4.1.5. Virulencia en estacas de Aspirant Bouschet.....	50
4.2. Virulencia promedio de las doce especies de la familia Botryosphaeriaceae.....	54
4.3. Susceptibilidad promedio de cada cultivar a los aislados de la familia Botryosphaeriaceae.....	55
4.4. Re-aislamientos a partir de madera necrosada de cultivares inoculados con Botryosphaeria.....	56
5. Discusión.....	58
6. Conclusión.....	63

INDICE DE CUADROS

	Pagina
Cuadro 2.1. Superficie de vides viníferas y pisqueras por región a nivel nacional. Fuente: SAG (2021).....	11
Cuadro 2.2. Evolución de la superficie de viñas en la región del Maule en los últimos veintiún años. Fuente: SAG (2021).....	13
Cuadro 3.1. Aislados de Botryosphaeriaceae detallando las especies, hospedero y localidad. Fuente: Elaboración propia.....	28
Cuadro 4.1. Análisis de varianza (ANOVA) para LOG (largo de lesión (mm)) por cada tratamiento de Botryosphaeria en cultivar Cabernet Sauvignon.....	37
Cuadro 4.2. Análisis de varianza (ANOVA) para 1/LOG (largo de lesión (mm)) por cada tratamiento de Botryosphaeria en cultivar Syrah.....	41
Cuadro 4.3. Análisis de varianza (ANOVA) para (largo de lesión (mm)) por cada tratamiento de Botryosphaeria en cultivar Malbec.....	45
Cuadro 4.4. Análisis de varianza (ANOVA) para (largo de lesión (mm)) por cada tratamiento de Botryosphaeria en cultivar Sauvignon Blanc.....	48
Cuadro 4.5. Análisis de varianza (ANOVA) para LOG (largo de lesión (mm)) por cada tratamiento de Botryosphaeria en cultivar Aspirant Bouschet.....	52

INDICE DE FIGURAS

	Pagina
Figura 2.1. Ciclo vegetativo y reproductivo de la vid (hemisferio sur) durante una temporada. Fuente: Reynier, (2012)	6
Figura 2.2. Evolución de la superficie del viñedo mundial. Fuente: OIV (2021)	10
Figura 2.3. (A, B) Lesiones necróticas o canchros perennes en forma de cuña o “V” asociado a <i>Botryosphaeria</i> en cortes transversales de troncos de vid.....	22
Figura 3.1. Colonias de aislados de <i>Botryosphaeriaceae</i> en medio APD al 2% que fueron incubadas durante 9 días a una temperatura de 20 °C con régimen de 12h/12h luz/ oscuridad. (A) <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (LT6-Mz), (B) <i>Diplodia seriata</i> (DS3-Mz), (C) <i>Neofusicoccum arbuti</i> (NA32-Mz), (D) <i>Diplodia mutila</i> (DM2-Mz), (E) <i>Diplodia seriata</i> (DS1-Vid), (F) <i>Neofusicoccum parvum</i> (NP10-Vid), (G) <i>Diplodia mutila</i> (Dmnog-4), (H) <i>Dothiorella sarmentorum</i> (Dsar-2-Nog), (I) <i>Neofusicoccum parvum</i> (NP-9-Nog), (J) <i>Neofusicoccum parvum</i> (NP-7-Ara), (K) <i>Diplodia mutila</i> (DM-11-Ara), (L) <i>Diplodia mutila</i> (DM-4-Ave).....	28
Figura 3.2. Desinfección de estacas de los cinco cultivares utilizados en el estudio, (A) Cabernet Sauvignon, (B) Malbec, (C) Syrah, (D) Sauvignon Blanc, y (E) Aspirant Bouschet.....	29
Figura 3.3. Estudio bajo condiciones de invernadero montado; estacas de los cinco cultivares, Cabernet Sauvignon, Syrah, Malbec, Sauvignon Blanc y Aspirant Bosuchet sumergidas en camas de perlita estéril dispuestas en cajas de polietileno de dimensiones 60 x 30 cm.....	30
Figura 3.4. Preparación e inoculación de las estacas. (A) realización de corte en forma de cuña sobre la estaca para posterior inoculación, (B) herida en forma de cuña lista para ser inoculada, (C) inoculación mediante postura de tapón micelial de 4 mm de aislado de <i>Botryosphaeria</i> sobre la herida generada en la estaca.....	31

Figura 3.5. Ensayo bajo condiciones de invernadero luego de un mes de ser inoculadas las estacas. (A) estacas de Cabernet Sauvignon, (B) estacas de Syrah, (C) estacas de Malbec, (D) estacas de Sauvignon Blanc, (E) estacas de Aspirant Bouschet.....32

Figura 4.1. Estacas de Cabernet Sauvignon inoculadas con aislados NP-9-Nog, NP10-Vid y NA32-Mz, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Cabernet Sauvignon inoculado con aislado NP-9-Nog, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Cabernet Sauvignon inoculada con aislado NP10-Vid, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Cabernet Sauvignon inoculada con aislado NA32-Mz, con lesión necrótica longitudinal.....35

Figura 4.2. Estacas de Cabernet Sauvignon inoculadas con aislados DM-11-Ara, Dmnog-4 y LT6-Mz, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Cabernet Sauvignon inoculado con aislado DM-11-Ara, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Cabernet Sauvignon inoculada con aislado Dmnog-4, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Cabernet Sauvignon inoculada con aislado LT6-Mz, con lesión necrótica longitudinal.....36

Figura 4.3. Largo de lesión necrótica en estacas de vid cv. Cabernet Sauvignon después de 112 días en condiciones de invernadero, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR, inoculadas con doce especies de la familia Botryosphaeriaceae, que fueron aislados a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva.....37

Figura 4.4. Estacas de Syrah inoculadas con aislados NP-7-Ara, NP10-Vid y NP-9-Nog, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Syrah inoculado con aislado NP-7-Ara, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Syrah inoculada con aislado NP10-Vid, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Syrah inoculada con aislado NP-9-Nog, con lesión necrótica longitudinal.....39

Figura 4.5. Estacas de Syrah inoculadas con aislados DS3-Mz, LT6-Mz y DS1-Vid, evidenciando necrosis interna luego de 113 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Syrah inoculado con aislado DS3-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Syrah inoculada con aislado LT6-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Syrah inoculada con aislado DS1-Vid, con lesión necrótica longitudinal.....40

Figura 4.6. Largo de lesión necrótica en estacas de vid cv. Syrah después de 112 días en condiciones de invernadero, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR, inoculadas con doce especies de la familia Botryosphaeriaceae, que fueron aislados a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva.....41

Figura 4.7. Estacas de Malbec inoculadas con aislados NP-7-Ara, DM-11-Ara y DM-2-Mz, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Malbec inoculado con aislado NP-7-Ara, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Malbec inoculada con aislado DM-11-Ara, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Malbec inoculada con aislado DM-2-Mz, con lesión necrótica longitudinal.....43

Figura 4.8. Estacas de Malbec inoculadas con aislados DS3-Mz, LT6-Mz y Dmnog-4, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Malbec inoculado con aislado DS3-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Malbec inoculada con aislado LT6-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Malbec inoculada con aislado Dmnog-4, con lesión necrótica longitudinal.....44

Figura 4.9. Largo de lesión necrótica en estacas de vid cv. Malbec después de 112 días en condiciones de invernadero, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR, inoculadas con doce especies de la familia Botryosphaeriaceae, que fueron aislados a partir de diferentes

hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva.....45

Figura 4.10. Estacas de Sauvignon Blanc inoculadas con aislados NP-10-Vid, NA32-Mz y NP-7-Ara, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Sauvignon Blanc inoculado con aislado NP-10-Vid, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Sauvignon Blanc inoculada con aislado NA32-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Sauvignon Blanc inoculada con aislado NP-7-Ara, con lesión necrótica longitudinal.....47

Figura 4.11. Estacas de Sauvignon Blanc inoculadas con aislados LT6-Mz, DS1-Vid y Dmnog-4, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Sauvignon Blanc inoculado con aislado LT6-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Sauvignon Blanc inoculada con aislado DS1-Vid, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Sauvignon Blanc inoculada con aislado Dmnog-4, con lesión necrótica longitudinal.....48

Figura 4.12. Largo de lesión necrótica en estacas de vid cv. Sauvignon Blanc después de 112 días en condiciones de invernadero, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR, inoculadas con doce especies de la familia Botryosphaeriaceae, que fueron aislados a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva.....49

Figura 4.13. Estacas de Aspirant Bouschet inoculadas con aislados NP-9-Nog, DS3-Mz y LT6-Mz, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Aspirant Bouschet inoculado con aislado NP-9-nog, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Aspirant Bouschet inoculada con aislado DS3-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Aspirant Bouschet inoculada con aislado LT6-Mz, con lesión necrótica longitudinal.....51

Figura 4.14. Estacas de Aspirant Bouschet inoculadas con aislados DS1-Vid, DM-11-Ara y Dmnog-4, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Aspirant Bouschet inoculado con aislado DS1-Vid, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Aspirant Bouschet inoculada con aislado DM-11-Ara, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Aspirant Bouschet inoculada con aislado Dmnog-4, con lesión necrótica longitudinal.....52

Figura 4.15. Largo de lesión necrótica en estacas de vid cv. Aspirant Bouschet después de 112 días en condiciones de invernadero, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR, inoculadas con doce especies de la familia Botryosphaeriaceae, que fueron aislados a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva.....53

Figura 4.16. Largo de lesión necrótica promedio generado por especies de hongo de la familia Botryosphaeriaceae que fueron aislados a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva. Inoculados en cinco cultivares diferentes de vid, después de 112 días en condiciones de invernadero, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR.....54

Figura 4.17. Susceptibilidad promedio para cada cultivar de vid; Cabernet Sauvignon (CS), Syrah (SY), Malbec (MAL), Sauvignon Blanc (SB) y Aspirant Bouschet (AB) inoculado con las doce especies de la familia Botryosphaeriaceae que fueron aislados a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva. Inoculados en condiciones de invernadero después de 112 días, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR.....55

Figura 4.18. Colonias de re-aislados de Botryosphaeriaceae en medio APD al 2% que fueron incubadas durante 10 días a una temperatura de 20 °C con régimen de 12h/12h luz/ oscuridad. (A) *Lasiodiplodia theobromae* (LT6-Mz), (B) *Diplodia seriata* (DS3-Mz), (C) *Neofusicoccum arbuti* (NA32-Mz), (D) *Diplodia mutila* (DM2-Mz), (E) *Diplodia seriata* (DS1-Vid), (F) *Neofusicoccum*

parvum (NP10-Vid), **(G)** *Diplodia mutila* (Dmnog-4), **(H)** *Dothiorella sarmentorum* (Dsar-2-Nog), **(I)** *Neofusicoccum parvum* (NP-9-Nog), **(J)** *Neofusicoccum parvum* (NP-7-Ara), **(K)** *Diplodia mutila* (DM-11-Ara), **(L)** *Diplodia mutila* (DM-4-Ave), **(M)** tratamiento control o testigo de Sauvignon Blanc.....56

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de *Vitis vinifera* L. (vid común) y sus diversas variedades son de gran importancia y extensión a nivel mundial, llegando a tener un alto valor comercial como uva de mesa fresca, fruta deshidratada y para producción de vino, estimándose en la actualidad superficies que abarcan 7.3 millones de hectáreas. (Gramaje et al., 2018; OIV, 2021). Un claro ejemplo de esto es el estado de California en Estados Unidos, quien presenta más de 345.200 ha, siendo el tercer commodity agrícola más importante dentro del estado, con ganancias anuales de \$2.3 billones USD (Úrbez-Torres et al., 2006).

En el caso de Chile, actualmente el catastro vitícola elabora por el SAG (2021) estimo superficies de 210 mil hectáreas que contemplan uvas para vinificación, uvas de mesas y uvas pasas. La mayor cantidad de viñedos se encuentra localizado entre la región de Coquimbo y la regio del Biobío, concentrándose principalmente en la región de O'Higgins y el Maule con un 72% del total nacional.

Como es sabido, el establecimiento de cultivos de vides implica altos costos de producción, en donde una parte significativa de estos costos, este asociado con el manejo intenso de plagas y enfermedades, en donde se incluyen prácticas culturales, productos químicos o biológicos y sus respectivas aplicaciones (Cooper et al. 2012).

Dentro de estas enfermedades, los patógenos fúngicos, son de significativa importancia, dado que alteraran el correcto desarrollo, reduciendo productividad, acortando su vida productiva y longevidad de la vid. *V. vinifera* es susceptible a 29 enfermedades causadas por hongos (Wilcox et al. 2015), incluyendo enfermedades de la madera, que actualmente son consideradas como las más destructivas (Bertsch et al., 2013). Las enfermedades de la madera, son causadas por varias especies o complejos fúngicos, entre las que se mencionan *Phaeomoniella chlamydospora*, y miembros de las familias Diatrypaceae, Botryosphaeriaceae, entre otros (Úrbez-Torres et al., 2006; Díaz et al., 2013; Gramaje et al., 2018).

En Chile, la importancia de las enfermedades de la madera en vides (EMV) ha sido reconocida, en donde estudios realizados por Díaz et al. (2013) donde han evidenciado que un 22% de los viñedos en el país está siendo afectado por las EMV. Al mismo tiempo, las especies de la familia Botryosphaeriaceae cumplen un rol importante como agente causal de enfermedades de la madera en vides (Úrbez-Torres et al., 2006; Díaz et al., 2013; Carlucci et al., 2015) representando una gran cantidad de especies causantes de esta gran problemática. Estudios realizados por Larach et al. (2020) en las regiones de O'Higgins y el Maule evidenciaron que plantas adultas que presentaban brazos o cordones con síntomas de muerte regresiva asociada a Botryosphaeria disminuyeron su productividad entre un 40% y un 49%.

La familia Botryosphaeriaceae comprende organismos fúngicos endófitos, saprófitos y fitopatógenos que se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, abarcando diversas zonas geográficas y climáticas exceptuando las zonas polares (Phillips et al., 2013; Mondragón et al., 2021). Esta familia está constituida por al menos 23 géneros de hongos y 187 especies, afectando una gran cantidad de especies hospedantes, desde frutales y vides a árboles forestales y urbanos (Phillips et al., 2013; Dissayanake et al., 2016; Díaz & Latorre, 2020).

Las especies de la familia Botryosphaeriaceae, generalmente se caracterizan por ser hongos oportunistas, puesto que aprovechan la ocasión de entrar a su hospedero cuando este sufre de heridas naturales o provocadas por manejos como la poda en vides (Gramaje et al., 2018). Especies de hongos de esta familia se han asociado a enfermedades como pudriciones en frutos, manchas foliares y principalmente muerte regresiva, que podría describirse como una sucesión de síntomas tales como defoliación, pérdidas de partes perennes como ramas o tallos, necrosamiento interno de los haces vasculares que terminan generando canchales en la madera; en su conjunto estos síntomas se han descrito como síndrome de declinamiento (Slippers & Wingfield, 2007; Morales et al., 2012; Sessa et al., 2016).

Un factor fundamental a considerar, es el amplio rango de hospederos a los que estos hongos son capaces de infectar, pues se han reportado y descrito causando enfermedades en la madera en diversos frutales como vides (Gramaje et al., 2018), kiwis (Díaz et al., 2021), paltos (Valencia et al., 2019), manzanos (Sessa et al., 2016), higos, pimiento peruano, ciruelos (Mojeremane et al.,

2020), olivos, nogales (Moral et al., 2010) y arándanos (Rodríguez-Gálvez et al., 2020), entre otros. Dado que en la actualidad es bastante común que alguno de estos cultivos como vides, pomáceas, carozos, nogales o arándanos, se encuentren relativamente cerca, como es el caso de España, Sudáfrica, California o Chile (Díaz & Latorre, 2020), es de vital importancia considerar que cada una de estas especies frutales podría ser una potencial fuente de inóculo para las viñas o viceversa. Es más, en el trabajo de Mojeremane et al. (2020) demostraron la capacidad de dos especies de *Neofusicoccum* de infectar diferentes hospederos, pero en brotes. Es fundamental que la infección sea estudiada en tejidos lignificados siendo los principales tejidos afectados por Botryosphaeriaceae asociados a enfermedades de la madera.

A nivel nacional, la alta incidencia de la muerte regresiva en las especies frutales descritas que, en ocasiones se cultivan en las proximidades, la infección sobre otros hospederos puede ser posible, bajo estas circunstancias. Por lo tanto, se desconoce a nivel nacional, si las especies de Botryosphaeriaceae asociadas en arándanos, nogales y manzanos son capaces de infectar otros hospederos como la vid

Debido a las múltiples razones antes expuestas, se hace muy importante poder reconocer y evidenciar como es que interactúan estas especies de hongos fitopatógenos de la familia Botryosphaeriaceae aislados de diversos hospederos frutales con diferentes cultivares de vid. De esta forma, podremos evaluar que cultivares presentan menor o mayor susceptibilidad, y que aislados de hongos son los más amenazantes para las plantas de vides.

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

1.1 Hipótesis

Las especies de Botryosphaeriaceae obtenidas desde diferentes hospederos frutales (manzano, nogal, arándano y vid) con síntomas de muerte regresiva son virulentas en vides, siendo los aislados del género *Neofusicoccum* lo más agresivos.

1.2 Objetivo general

Determinar la virulencia de especies de Botryosphaeriaceae obtenidas desde diferentes hospederos frutales en estacas de vides (*Vitis vinifera* L.).

2.REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Generalidades de la vid

La vid (*Vitis vinifera* L.), es una planta dicotiledónea de flores simples perteneciente a la familia de las Vitáceas. Esta familia comprende alrededor de diecinueve géneros, en donde el género *Vitis*, se subdivide en dos; *Muscadinia* y *Euvitis*, en este último se encuentra la especie *V. vinifera* L. (Zuñiga, 2016).

La vid presenta su centro de origen en los bordes del mar Mediterráneo y existen registros que aproximan el inicio de su cultivo hace unos 5000 años, en los alrededores del Mar Negro y el Mar Caspio (Labadie, 2005; Zúñiga, 2016).

Esta planta corresponde a una liana trepadora de crecimiento simpodial, con tallos sarmentosos y zarcillos que le permiten trepar en busca de la luz. En su etapa juvenil (3-5 años) ocurre la biosíntesis de lignina, por lo que comienza a formar madera que constituirá el tronco o cuello, brazos y sarmientos, todas estas partes, sumadas a los órganos anuales de la vid, como hojas zarcillos y frutos, constituirán la parte aérea de la planta. Por otro lado, la parte subterránea de la vid se encuentra conformada por raíces y raicillas de distintos tamaños u órdenes que clasifican las capacidades de absorción de agua y nutrientes (Reynier, 2012).

La vid se desarrolla óptimamente bajo climas mediterráneos y templados, lo cual definirá su ciclo biológico a lo largo de las diferentes temporadas (**Figura 2.1**), y, por lo tanto, la oportunidad de separar y reconocer las distintas fases fenológicas con el fin de realizar los manejos agronómicos adecuados correspondientes (Reynier, 2012).

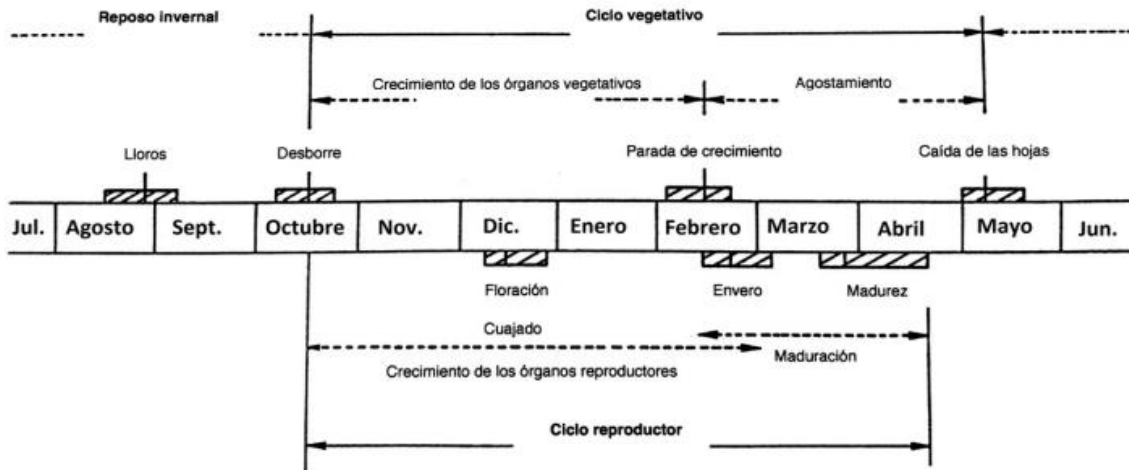


Figura 2.1. Ciclo vegetativo y reproductivo de la vid (hemisferio sur) durante una temporada. Fuente: Reynier, (2012).

En cuanto a la susceptibilidad de la vid a enfermedades de la madera, en primera instancia sabemos que dependerá de la interacción fundamental entre el agente patógeno, el ambiente y la misma planta (hospedero); según Ramírez et al., 2018, esta podría variar entre cultivares dependiendo del diámetro o grosor de los vasos conductores que presente cada uno.

2.2 Cultivares de vides

2.2.1 Cultivar Cabernet Sauvignon

Cabernet Sauvignon es un cultivar de bayas tintas originado en la región de Burdeos, Francia, a partir del cruce entre Cabernet Franc y Sauvignon Blanc, de amplia distribución a nivel mundial, abarcando áreas de 341.000 ha o el 4% de los viñedos del mundo (OIV, 2017).

Este cultivar es el de mayor superficie en nuestro país, según el catastro vitícola elaborado por el SAG (2021), se registraron 37.754 ha, concentrándose principalmente en las regiones del Libertador Bernardo O'Higgins y el Maule, con 15.930 ha y 15.029 ha respectivamente.

Cabernet Sauvignon se caracteriza por presentar una brotación tardía y una gran expresión vegetativa, por lo que es importante controlar su vigor en orden de mantener una buena fertilidad de las yemas y generar de esta forma plantas equilibradas. Se desarrolla de mejor forma en suelos profundos de texturas medias, pedregosos; con muy buen drenaje y se adapta mejor a climas secos y luminosos. Presenta susceptibilidad media a la pudrición gris, por otra parte, es bastante susceptible al Oídio, así como también a las enfermedades de la madera (Labadie, 2005; Moreno y Vallarino, 2011.).

2.2.2 Cultivar Syrah

El origen de este cultivar no está totalmente claro, pues algunos autores sostienen que se remonta a Persia, Shiraz, mientras que otros lo suponen proveniente de Siracusa, Italia. (Matus y Rodríguez, 1998).

No es hasta 1996 que Syrah aparece en el catastro vitivinícola nacional con 19 ha (SAG, 2005), alcanzando aproximadamente 6.755 ha en el catastro del 2021, concentrándose principalmente en la Región del Libertador Bernardo O'Higgins y la Región del Maule, sumando 4.915 ha entre ambas. (SAG, 2021).

A pesar de que corresponde a un cultivar de brotación tardía, sus bayas maduran rápidamente, por lo que consta de un periodo pinta-madurez relativamente corto. Presenta vigor medio a alto y sus racimos se ubican lejos del origen de los sarmientos debido a su fertilidad de yemas media a baja. (Siri y Pszczólkowski, 1996). Se adapta mejor a suelos francos, franco-arcillosos y a climas cálidos y soleados. Se dice que es una variedad fácil de cultivar y manejar para los viticultores. (Maturana, 2012)

2.2.3 Cultivar Malbec

Malbec es un cultivar de bayas tintas, emblemático de Argentina, con su centro de origen en Cahors o la Touraine, en el Sud Oeste de Francia, en donde se le conoce con el nombre de Cot o Auxerrois. (Catania y Avagnina, 2007).

En Argentina este cultivar alcanza superficies de 45.000 ha, concentrándose principalmente en la provincia de Mendoza. (INV, 2021). Por otra parte, el último Catastro Vitícola Nacional realizado por el SAG (2021) estima que en Chile existen 2.468 ha de Malbec que se concentra principalmente en la región del Libertador Bernardo O'Higgins y el Maule.

Malbec es un cultivar rustico y vigoroso, presenta brotación media, madurez precoz a mediana y se adapta mejor a climas moderadamente calurosos y secos, por lo que requiere de una buena acumulación térmica; 1.372 y 1.927 grados día (zona II y III de Winkler) (Gil y Pszczólkowski, 2015). En Francia, se desarrolla mejor en suelos arcillosos calcáreos y fértiles, mientras que, por otro lado, tanto en Chile como en Argentina se ha registrado que un suelo muy fértil resulta en desmedro del equilibrio vegetativo-productivo, por lo que se recomienda evitarlos (Pszczólkowski, 2015).

2.2.4 Cultivar Merlot

Merlot es un cultivar de bayas tintas originado al sudoeste de Francia, se dice que su nombre proviene o está relacionado con el mirlo, un ave que suele comer sus bayas (INV, 2018).

En Chile, actualmente su superficie se ha estimado en 10.819 ha, concentrándose principalmente en las regiones del Libertador Bernardo O'Higgins y el Maule, con 4.388 y 4.944 respectivamente (SAG,2021).

Es un cultivar de brotación temprana, de vigor medio a alto con tendencia a emitir chupones por su elevada fertilidad. Merlot tiene buena adaptación a distintos tipos de suelo, pero se da mejor en suelos argílicos calcáreos, además, es un cultivar poco adaptado a la sequia y es sensible a las heladas primaverales (Chomé et al., 2006).

2.2.5 Cultivar Sauvignon Blanc

Sauvignon Blanc es un cultivar de bayas blancas originado en la región de Burdeos, Francia. En Chile, existen aproximadamente 14.316 ha, concentrándose en las regiones de Valparaíso, Libertador Bernardo O'Higgins y principalmente el Maule, con 7.295 ha (SAG, 2021). Dentro del

Maule, según Mena y Moreno, (2013), este cultivar se concentra principalmente en las comunas de Molina, Curicó, Sagrada Familia y Rio Claro.

Es un cultivar vigoroso, de madurez temprana, que se adapta a climas secos, luminosos y acumulaciones térmicas comprendidas entre 1372 y 1925 grados día (Catania y Avagnina, 2007; Mena y Moreno, 2013). Particularmente este cultivar es conveniente cosecharlo manualmente debido a su denso follaje y a la delicada piel de sus bayas (Mena y Moreno, 2013). Se han asociado los mejores resultados en cuanto a vinos de calidad a partir de viñedos dispuestos en valles fríos o con influencia costera (Müller, 2004).

2.2.6 Cultivar Aspirant Bouschet

Aspirant Bouschet es un cultivar obtenido por Henri Bouschet, en 1865, a partir del cruce entre Grous Bouschet y Aspiran Noir. Su cultivo se concentra principalmente en Argentina, con 4.376 ha y en muy pequeña cantidad en Brasil y Chile sumando 1 ha entre ambos países (INV, 2018).

Es un cultivar de cosecha temprana, muy vigoroso, pero poco fértil, expresa un escaso aporte cualitativo aromático, por lo que resulta en vinos con pobres expresiones sensoriales, con lo cual, se utiliza como variedad tintorera, dada su principal característica de presentar pigmentos antociánicos de color rojo en la pulpa, lo que le otorga una alta intensidad colorante, permitiendo mezclarla con otras variedades de menor color (INV, 2018).

2.3 Situación de la superficie y producción de vides

2.3.1 Situación a nivel mundial

Según la OIV, para el año 2021, la superficie vitícola mundial (correspondiente a la superficie total de viñedos plantados, incluidas las superficies improductivas por vides jóvenes y las superficies destinadas a la producción de uvas de vinificación, uvas de mesa y uvas pasas) se estima en 7.3 millones de hectáreas (Mill. ha) (Figura 2.). Los países que presentan mayores superficies de viñedos vitivinícolas son; España, Francia, China e Italia, con 964 mha (Miles ha), 798 mha,

783 mha y 718 mha respectivamente. Seguidamente se posiciona Turquía con 419 mha, EE. UU con 393 mha, Argentina con 211 mha y Chile con 210 mha.

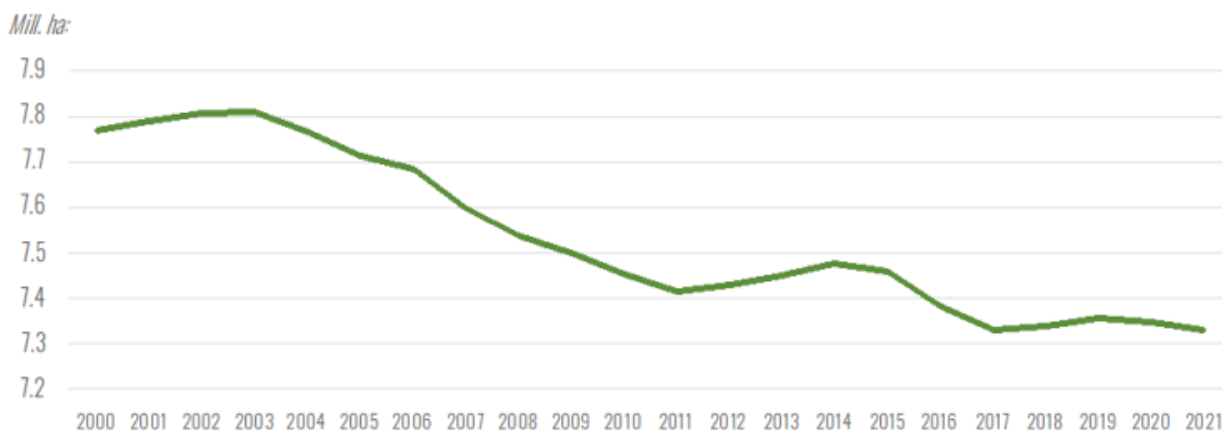


Figura 2.2. Evolución de la superficie del viñedo mundial. Fuente: OIV (2021).

En cuanto a la producción mundial de uvas, La OIV en 2021 estimó 72.7 millones de toneladas considerando pérdidas. Dentro de este valor, se estima que 37.2 (52%) millones de toneladas corresponden a uvas prensadas o destinadas para la producción de vinos (262 Mill. hL.), mostos y zumos (26 Mill. hL.), mientras que 35.5 (48%) millones de toneladas se estimaron para producción de uva de mesa (30.1 Mill t.), uvas pasas (5.4 Mill. t) y fruta desecada (1.35 Mill t).

Los tres principales países productores y exportadores de vino a nivel mundial corresponden a Italia (producción: 55 Mill hL, exportación: 22 Mill hL), Francia (producción: 49 Mill hL, exportación: 15 Mill hL) y España (producción: 44 Mill hL, exportación: 23 Mill hL), mientras que los tres principales importadores son Alemania, Estados Unidos y Reino Unido, con 14 Mill hL cada uno (OIV, 2021).

Con respecto a la producción mundial de uva de mesa, China encabeza la lista, con 14.8 Mill. t, seguido por Italia con 6.4 Mill. t y luego Estados Unidos con 6.1 Mill. t. Por otro lado, las exportaciones actualmente están siendo lideradas por Perú (US\$ 1.260 millones), quien superó a Chile en 2021 (US\$ 928 millones) (OIV, 2021; Ortiz, 2022).

En cuanto a la producción mundial de uvas pasas, en 2021 se ha estimado 1.4 Mill. t. Los principales países productores son Turquía con 358 mt, Estados Unidos con 274 mt, China con 180 mt, Irán con 131 mt y Sudáfrica con 73 mt, en conjunto estos 4 países conforman el 74% del total mundial (OIV, 2021).

2.3.2 Situación a nivel nacional

En Chile, la superficie total de viñas para el año 2021 se estimó en 210.000 ha (incluyendo vides para vinificación, uva de mesa y uvas pasas), aumentando su superficie en 1% con respecto al 2020. (SAG, 2021; OIV, 2022).

En cuanto a vinificación, Chile ocupa actualmente más de 139 mil hectáreas (**Cuadro 2.1**) (baja del 4.5% con respecto al 2020), las cuales tienen un potencial de producción de vino cercano a los 1.200 millones de litros, considerando un año promedio con buenas condiciones climáticas. Esta superficie se encuentra principalmente, en las regiones de O'Higgins y del Maule, concentrando más del 72% de la superficie nacional (SAG, 2021; ODEPA, 2022).

Cuadro 2.1. Superficie de vides viníferas y pisqueras por región a nivel nacional. Fuente: SAG (2021).

REGIÓN	PISQUERA	VINÍFERA	TOTAL
ARICA		15.00	15.00
TARAPACA		3.95	3.95
ANTOFAGASTA		4.97	4.97
DE ATACAMA	558.70	55.31	614.01
DE COQUIMBO	8,535.01	3,114.83	11,649.84
DE VALPARAISO		8,657.76	8,657.76
DEL L.G.B. O'HIGGINS		41,539.36	41,539.36
DEL MAULE		52,822.56	52,822.56
ÑUBLE		10,369.68	10,369.68
DEL BIO BIO		2,796.26	2,796.26
DE LA ARAUCANIA		107.25	107.25
LOS RIOS		18.90	18.90
DE LOS LAGOS		19.03	19.03
AYSEN		1.94	1.94
METROPOLITANA DE SANTIAGO		10,559.37	10,559.37
TOTAL	9,093.71	130,086.17	139,179.88

El catastro vitícola nacional del año 2021 presentado por el SAG, informo que, del total de viñedos, el 73.82% corresponden a cultivares tintos y el 26.18 a cultivares blancos. El cultivar tinto Cabernet Sauvignon sigue liderando en superficie con 37.754 ha (29.02%) seguido por Sauvignon Blanc con 14.316 ha (11.01%), Merlot con 10.819 ha (8.32%), Chardonnay con 10.345 (7.95%) y Carmenere con 10.318 (7.93%). Al mismo tiempo, la distribución de las superficies de viñedos por región sigue siendo encabezada por el Maule con 52.822 ha (40.61%) seguido por O'Higgins con 41.539 ha (31.93%), Metropolitana con 10.599 ha (8.12%) y Ñuble con 10.369 ha (7.97%).

En cuanto a las exportaciones de vinos, actualmente Chile es el primer exportador de América y cuarto a nivel mundial, siendo superado sólo por países europeos de gran trayectoria en materias vitivinícolas, como Francia, España e Italia (ODEPA, 2022). Se estimó que, entre los meses de enero y noviembre del año 2021, las exportaciones de vino llegaron a 820 millones de litros, equivalentes a \$US 1.363,6 millones (ODEPA, 2021).

Con respecto a la superficie plantada de parronales de uva de mesa, De la Fuente (2020), estimó un total aproximado de 45.489 ha, concentrándose principalmente en la región de O'Higgins, con 14.210 ha, seguido por Valparaíso con 11.090 ha, Coquimbo con 8.813 ha, Atacama con 7.324 y Metropolitana con 7.251. Los cultivares de uva de mesa negras representan 7.6% de la superficie, distribuidas en las regiones antes mencionadas, concentrándose principalmente en Valparaíso (33%). Autumn Royal es el cultivar con mayor superficie, con 36% de las hectáreas plantadas, seguidas por Black Seedless (14%), Sable (9%) e Inia-grape-one (9%).

2.3.3 Situación en la Región del Maule

Como se mencionó anteriormente, la Región del Maule lidera en superficie de viñedos plantados con 52.822 ha (40.61% del total nacional), además de ser la región con mayor diversidad de cultivares (SAG, 2021). Las características geográficas y edafoclimáticas del Maule le confieren este enorme potencial para la viticultura; la región presenta un clima de clara influencia mediterránea, insertándose en la categoría de climas templados, correspondiente a la letra C en la clasificación de Köppen. Al mismo tiempo, existen variaciones de temperaturas y precipitaciones dentro de la región debido a la influencia marina de la costa y a la altura de la Cordillera de los

Andes. La geomorfología de la región, en términos generales, podría ser caracterizada por la presencia de cinco unidades de relieve dispuestas de este a oeste como franjas longitudinales; la Cordillera de los Andes, la Precordillera, la Depresión Intermedia o Llano central, la Cordillera de la Costa y las Planicies litorales. La distribución de los viñedos se concentra principalmente en la Depresión Intermedia o Llano central de origen fluvio glacío volcánico, y luego en las cuencas graníticas marginales de la Cordillera de la Costa (Mena y Moreno, 2013).

En cuanto a la producción de vides en la región, Mena y Moreno, (2013), identificaron 55 variedades de vides viníferas, en donde 35 correspondieron a cultivares tintos y 20 a cultivares blancos, sin embargo, el catastro elaborado por el SAG, (2021) contemplo 31 cultivares blancos, por lo que, en los últimos 10 años, se introdujeron 11 nuevas cepas blancas a la región. La producción de los cultivares tintos se concentra principalmente en las comunas de Curicó, Molina, Sagrada Familia, Penciahue, San Clemente, San Javier, Villa Alegre, Linares y Cauquenes. Los principales cultivares tintos que se producen corresponden a Cabernet Sauvignon, País, Merlot, Carmenere, Syrah, Carignan y Pinot Noir. Por otro lado, la producción de cultivares blancos se centra principalmente en dos; Sauvignon Blanc y Chardonnay, que en conjunto conforman 10.992 ha de un total de 13.746 ha de cepas blancas. La distribución de estos dos cultivares se concentra mayoritariamente en las comunas de Molina, Curicó, Sagrada Familia, Rio claro y San Clemente. (SAG, 2021).

Cuadro 2.2. Evolución de la superficie de viñas en la Región del Maule en los últimos veintiún años. Fuente: SAG (2021).

Año	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Superficie (ha)	45,050.00	46,400.00	46,877.40	47,339.90	48,272.80	49,395.80	50,314.50	50,574.10	45,317.77	49,014.17	45,850.55
Año	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Superficie (ha)	50,340.31	51,613.27	51,969.40	53,496.51	53,838.54	52,963	52,617.1	53,686.67	53,818.68	53,546.12	52,822.56

2.4 Enfermedades en vides

2.4.1 Pudrición gris de racimo

La pudrición gris del racimo o también conocida como moho gris es causado por el hongo *Botrytis cinerea*, siendo considerada una de las más importantes enfermedades que afecta a las vides en Chile y a otros países productores de uva alrededor del mundo (Wilcox et al., 2015; Latorre et al., 2015). El fitopatógeno *B. cinerea* reduce el rendimiento y la calidad del vino o de uvas de mesa en localizaciones geográficas caracterizadas por climas templados y húmedos durante los meses de primavera y verano (Latorre et al., 2015).

El moho gris en las vides afecta a los órganos aéreos, principalmente a las bayas que son altamente susceptibles desde el envero (cambio de color, bayas con > 7% sólidos solubles totales) hasta la cosecha. Además, esta enfermedad es la más importante causa de decaimiento en postcosecha de las uvas de mesa durante el almacenamiento, tránsito hacia mercado y comercialización (Latorre et al., 2015).

Además, *B. cinerea*, corresponde a un hongo necrótrofo de diversas especies, presentándose como saprofitos de órganos senescentes que pueden estar presentes dentro de los viñedos (malezas, por ejemplo), por lo que en general, es una especie con lo que habría que “aprender a convivir”. Al mismo tiempo, *B. cinerea*, es capaz de invernar como micelio o esclerocios en la corteza o yemas dormantes, para luego volver a expresar sus síntomas bajo condiciones climáticas favorables.

2.4.2 Oídio de la vid

En los últimos años, el Oídio de la vid, causado por el hongo fitopatógeno *Erysiphe necator*, ha tenido especial importancia económica en la zona central y norte de Chile. El oídio reduce los rendimientos y la calidad de la uva de mesa. En uvas para vinificar, altera considerablemente las cualidades del mosto y del vino, al disminuir los sólidos solubles totales, la intensidad de color y aumentar la acidez total (Campbell et al., 2007).

Las infecciones se desarrollan a partir del micelio latente que sobrevive en yemas infectadas en la temporada precedente y/o a partir de cleistotecios desarrollados en hojas u otros órganos infectados de la vid (Campbell et al., 2007). En zonas lluviosas es posible que las ascosporas constituyan la principal fuente de inoculo primario (Jarvis et al., 2002).

La susceptibilidad de los racimos de la vid varía a través de la estación de crecimiento, siendo muy susceptibles entre cuaja y el envero (Gadoury et al., 2001). Sin embargo, el riesgo de infección depende de la presión de oídio en el viñedo, la que se relaciona muy directamente con la temperatura y humedad ambiental (Carroll & Wilcox, 2003).

2.5 Enfermedades de la madera de la vid

El termino enfermedades de la madera (EMV) es relativamente nuevo y fue establecido por el Dr. Luigi Chiarappa junto con otros científicos de todo el mundo a finales de la década de 1990 (Mugnai 2011).

Las EMV representan una de los problemas más importantes en viticultura a lo largo del mundo, pues estas resultan en reducciones de rendimientos, perdidas de longevidad de las plantas y aumentos de costos de producción. La mayoría de las enfermedades de la madera son causadas por hongos patógenos que penetran a través de las heridas de poda e invaden la madera (Crous et al. 2006; Díaz et al., 2011a; Morales et al., 2012; Úrbez-Torres et al. 2006).

Muerte regresiva por *Eutypa*, Esca y muerte regresiva por *Botryosphaeria*, son las tres enfermedades de la madera significativas en vides que involucran uno o varios organismos fungosos que habitan en la madera (Larignon & Dubos, 1997; Mugnai et al., 1999; Larignon et al., 2009; Gramaje et al., 2018). Por lo tanto, varios hongos están asociados a las EMV a nivel mundial; en donde se incluyen principalmente especies de la división Ascomycetes como; *Botryosphaeriaceae* spp., *Diatrypaceae* spp., *Phaeoacremonium* spp., *Phaeoconiella chlamydospora*, y algunos Basidiomycetes, como *Fomitiporia punctata*, *F. mediterranea* e *Inocutis* spp. (Armengol et al., 2001; Cortesi et al., 2000; Fischer, 2006; Martin and Cobos, 2007; Rolshausen et al., 2006; Taylor et al., 2005; Úrbez-Torres et al., 2012; White et al., 2011b).

Como bien sabemos, la vid (*V. vinifera* L.) es un importante cultivo en Chile, con actualmente más de 210.000 ha plantadas, en donde la importancia de las EMV en ha sido reconocida, pues recientemente se ha estimado que un 22% de los viñedos están siendo afectados, reduciendo la productividad, calidad y longevidad de los viñedos chilenos (Díaz et al., 2011; Latorre, 2018; Morales et al., 2012).

En el caso de Chile, *Botryosphaeria dothidea*, *Cryptovalsa ampelina*, *Diplodia seriata*, *D. mutila*, *Eutypella leprosa*, *N. parvum*, *P. aleophilum*, *P. chlamydospora*, *Seimatosporium botan* y *Spencermartinsia viticola* han sido reportados asociados con EMV (Auger et al., 2004a; Auger et al., 2004b; Besoain et al., 2013; Díaz et al., 2009, 2011a, b, 2012; Latorre et al., 1986; Morales et al., 2012), Sin embargo, en nuestro país, los principales patógenos asociados a enfermedades de la madera son *Phaeomoniella chlamydospora*, *Diplodia seriata* e *Inocutis* sp., en orden de importancia (Díaz et al., 2013).

Las EMV presentan una sintomatología no muy específica ya que comprende un amplio rango de patógenos que a su vez pueden aparecer aisladamente o en combinación, por lo que la identificación de estas enfermedades no es fácil (el decaimiento es debido a uno o más organismos fungosos, además expresan sintomatologías similares, llegando a confundirse con otras fitopatologías o incluso estreses abióticos). Fundamentalmente los síntomas que observamos en campo son: clorosis intervenales, entrenudos cortos, canchales en ramas y troncos, necrosis vasculares, muerte regresiva de sarmientos y brazos, pérdidas de vigor, baja producción, madurez heterogénea, disminución de calidad de bayas (Fernández, 2019).

En cuanto a la epidemiología de las EMV responsables de Eutypa, Botryosphaeria y Esca, presentan propagación a partir de esporas de origen sexual o asexual que son dispersadas por el aire, además, en el caso de Botryosphaeria y esca, también serán fuentes de inóculo los restos de poda infectados (Gramaje et al., 2018). Dependiendo de la especie, ascosporas o conidios son liberadas a partir de peritecios o picnidios (origen sexual y asexual respectivamente) embebidos en la corteza o en la superficie de restos de madera muerta de las vides, que liberaran las esporas en

presencia de agua libre (lluvias, rocíos) y por acción del viento, incluso de insectos. (Eskalen and Gubler 2001; Úrbez-Torres et al., 2010a; van Niekerk et al., 2010).

2.6 Familia Botryosphaeriaceae

La familia Botryosphaeriaceae fue introducida por Theissen y Sydow en 1918 (Phillips et al., 2013, Zhang et al., 2021; Mondragón et al., 2021). Estudios realizados por Schoch et al. (2006) introdujeron el orden Botryosphaeriales en donde únicamente se encontraba la familia Botryosphaeriaceae, pero luego de diversos estudios, en la actualidad nueve familias constituyen este orden (Minnis et al., 2012; Wikee et al., 2013; Slippers et al., 2013; Wyka & Broders, 2016; Yang et al., 2017; Slippers et al., 2017 & Phillips et al., 2019). Específicamente esta familia pertenece al Reino Fungi, filum Ascomycota, subfilum Pezizomycota, clase Dothideomycete, sub clase incertae sedis y orden Botryosphaeriales (Crous et al., 2017).

En la última década se ha incrementado el interés por estudiar los hongos de la familia Botryosphaeriaceae debido a las enfermedades que inducen en cultivos de importancia económica, a la asociación observada entre la patogénesis y el estrés del hospedante, a su amplia distribución cosmopolita y a la gran cantidad de hospederos a los que pueden afectar, pues especies de esta familia se han reportado infectando diversidad de frutales, plantas ornamentales, forestales, plantas herbáceas e incluso algunos líquenes (Denman et al., 2000; Mohali et al., 2007; Zlatković et al., 2016). Además, las especies de esta familia son capaces de comportarse como organismos fitopatógenos, saprofitos y endófitos por lo que podrían mantenerse latentes en el hospedero sin expresar síntomas aparentes (van Niekerk et al., 2006; Urbez-Torres, 2011; Yang et al., 2017; Valencia et al., 2019). Al mismo tiempo, se han reportado más de diez especies asociadas a síntomas en diferentes partes de una misma planta, lo que indica que un número importante de especies de esta familia no presentan especificidad en rango de hospedantes. A su vez, diversos estudios han demostrado la capacidad de estos hongos para diseminarse y “saltar” de sus hospedantes nativos originales a cultivos agrícolas que se establecen en áreas cercanas, pertenecientes a la misma familia botánica o a una familia diferente (Mondragón et al., 2021), por lo que, bajo este contexto, se sugiere la posibilidad de generación de nuevos genotipos de especies de la familia en nuevas áreas del mundo (Mehl et al., 2017).

La familia Botryosphaeriaceae está constituida por al menos 23 géneros de hongos y 187 especies, que, como se ha mencionado anteriormente, afectan una gran cantidad de diferentes especies hospedantes (Phillips et al., 2013; Dissayanake et al., 2016; Díaz y Latorre, 2020). Al mismo tiempo, Los géneros con distribución geográfica mundial y que afectan a un mayor número de hospedantes son: *Diplodia*, *Dothiorella*, *Lasiodiplodia* y *Neofusicoccum*, englobando 70%, con un aproximado de 300 especies fitopatógenas (Slippers et al., 2017).

En cuanto a la identificación de los agentes causales, las sintomatologías observadas en el viñedo suelen ser poco confiables y confusas, pues las características de las enfermedades generadas por Botryosphaeria suelen parecerse a enfermedades causadas por otros hongos fitopatógenos, como *E. lata* o *Phomopsis viticola* (Phillips, 1998; Casillo-Pando et al., 2001).

Por lo tanto, la identificación de los agentes causales suele basarse principalmente en el estado anamorfo de Botryosphaeriaceae, dado que los estados “perfectos” o teleomorfos que forman peritecios raramente se encuentran en la naturaleza o se forman en cultivos artificiales (van Niekerk et al., 2006; Larignon et al., 2009). Por lo tanto, la identificación de Botryosphaeria radica en evidenciar las características morfológicas de micelio y cuerpos fructíferos asexuales como picnidios, que son utilizadas para la identificación a nivel de género y especie (Alves et al., 2006; Sandoval-Sánchez et al., 2013). Sin embargo, estas características son muy variables y en ocasiones no son distintivas, porque se comparten entre especies; además son influenciadas por la edad y el sustrato donde crecen los aislados, por lo que es necesario el uso de herramientas de identificación molecular para poder reconocerlos con exactitud. (Alves et al., 2007).

En general, existe poca información disponible sobre el ciclo biológico de Botryosphaeriaceae, pero se sabe que este organismo es capaz de formar asexualmente picnidios desarrollados en madera infectada o en brotes de poda. Estos picnidios conforman el inoculo primario que contiene las esporas o conidias que eventualmente se hincharan y reventaran durante las lluvias o durante periodos de riego de aspersion, quedando así diseminadas en el aire (Úrbez-Torres et al., 2010a). Así, se observó inoculo presente en el aire durante el invierno en California (Úrbez-Torres et al., 2010a), mientras que, en Francia, el inoculo fue detectado principalmente durante el periodo vegetativo (Kuntzmann et al., 2009). Sin embargo, la diseminación de esporas podría ocurrir en

ausencia de lluvias, sugiriendo que otros factores climáticos están involucrados (Van Niekerk et al., 2010; Úrbez-Torres et al. 2010a). En Chile, este periodo de “vuelo” de las esporas o conidias durante las lluvias, concuerda con los periodos en que se llevan a cabo las podas invernales, dejando expuestas las heridas a las fuentes de inoculo que podrían eventualmente penetrar en la madera.

La infección de las heridas de poda, hace posible que el hongo “oportunista” colonice los tejidos vasculares, afectando así el transporte de agua y nutrientes a través del xilema, además de la translocación de asimilados desde el floema, generando bloqueo y necrosis de la madera, lo que eventualmente puede conducir a la muerte regresiva de cargadores y brazos (Gramaje et al., 2018). Esta condición también puede afectar la acumulación y disponibilidad de reservas necesarias para la fructificación de la siguiente temporada, que se encuentran principalmente localizadas en el tronco y ramas, por lo que este marchitamiento y muerte regresiva podría reducir significativamente el rendimiento de los cultivos. Al mismo tiempo, la condición en que se encuentre la planta previamente, es un factor relevante que podría predisponer su infección, pues si esta se encuentra bajo algún grado de estrés, ya sea causado por algún desorden fisiológico o estrés abiótico, se verá favorecida la colonización y posterior expresión sintomatológica, incluso se ha evidenciado que el estrés puede aumentar la incidencia entre un 20% a 90% en algunos cultivos (Díaz & Latorre, 2020; Mondragón et al., 2021). Otra de las problemáticas que debemos considerar de *Botryosphaeria*, es que son especies difíciles de controlar, por ser organismos endófitos y patógenos latentes dentro de la madera, por lo que los síntomas de la enfermedad podrían aparecer y expresarse solo cuando el hospedero este bajo estrés (Slippers & Wingfield, 2007; Karličić et al., 2021).

2.7 Enfermedades de la madera por Botryosphaeriaceae en vides.

Hasta la fecha, han sido reconocidos 26 taxones de Botryosphaeriaceae en los géneros *Botryosphaeria*, *Diplodia*, *Dothiorella*, *Lasiodiplodia*, *Neofusicoccum*, *Neoscytalidium*, *Phaeobotryosphaeria* y *Spencermartinsia* que han sido asociados con muerte regresiva en vides por *Botryosphaeria* (Pitt et al. 2013a, c, 2015; Rolshausen et al. 2013; Úrbez-Torres 2011; Yang et al. 2017; Mojeremane et al., 2020), en donde la mayor representación se encuentran los géneros

Botryosphaeria, *Diplodia*, *Lasiodiplodia* y *Neofusicoccum* (Úrbez-Torres, 2011; Gramaje et al., 2018).

Como es sabido, existen diversas especies de la familia Botryosphaeriaceae capaces de infectar vides, sin embargo, el método que utilizan estos organismos fungosos para penetrar en la planta aún no está claro del todo, pero el enfoque que ha parecido más convincente es a través de las heridas de poda en las plantas y el tejido expuesto (Úrbez-torres & Gubler, 2009). Estudios realizados por Úrbez-torres y Gubler (2009), han demostrado que la susceptibilidad de las heridas de poda fue mayor cuando las inoculaciones se realizaron inmediatamente después de la poda y disminuyo significativamente a medida que aumentaba el intervalo de tiempo entre la poda y la inoculación. Cabe destacar que estos hongos también se propagan por plantas madre infectadas durante los procesos de propagación vegetal en los viveros (Halleen et al., 2003; Giménez-Jaime et al., 2006; Gramaje & Armengol, 2011).

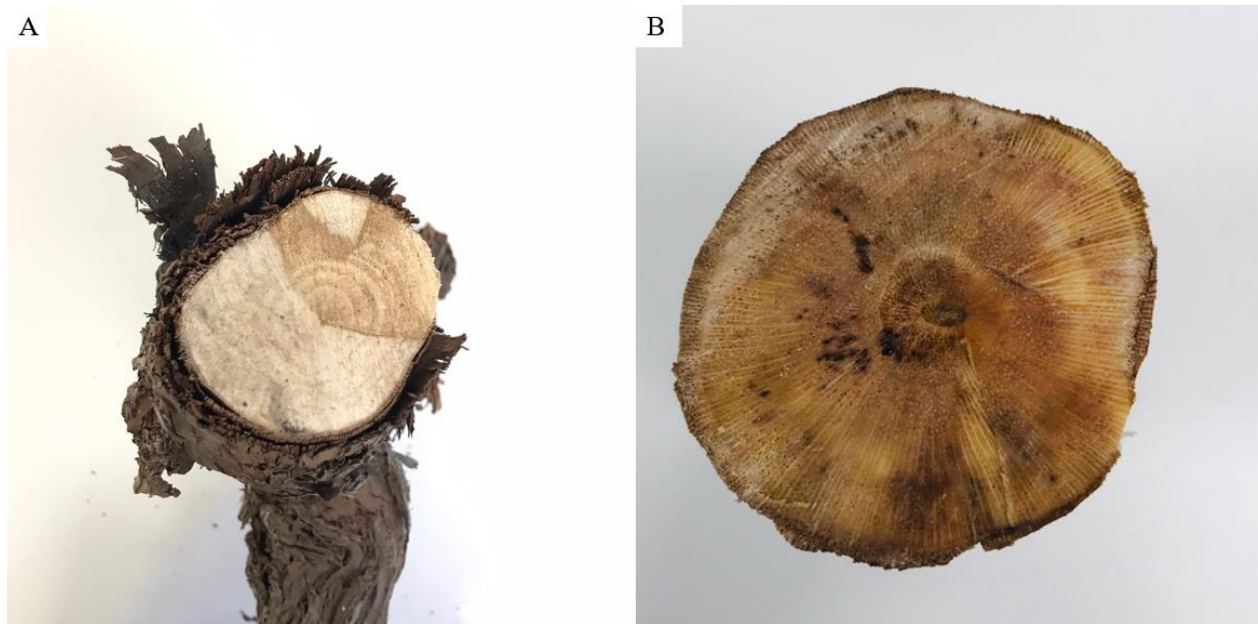
Con respecto a la patogenicidad de las diferentes especies de la familia en las plantas de vid, según estudios realizados por Phillips. (2002), van Niekerk et al. (2004) y Taylor et al. (2005), estos han variado según el país en donde se han realizados los estudios, así como la patogenicidad y virulencia de las diferentes especies que han arrojado resultados contradictorios entre países como Portugal y Australia, por lo que existen dudas sobre que especies serían los patógenos más importantes en vides. Estudios realizados entre 2003 y 2006 por Úrbez-Torres et al. (2006), en donde se realizaron muestreos de diferentes viñedos para evaluar la incidencia de los hongos asociados a canchros en las vides, encontraron nueve especies diferentes de la familia Botryosphaeriaceae, cuales fueron; *B. dothidea*, *L. theobromae*, *D. seriata*, *D. mutila*, *N. parvum*, *N. luteum*, *N. australe*, *Do. viticola*, y *Do. iberica*. Este estudio demostró que las especies de *Botryosphaeria* fueron los principales hongos asociados a canchros en vides dentro de la mayoría de los viñedos muestreados (Úrbez-Torres et al., 2006; Gramaje et al., 2018). En Italia, Carlucci et al. (2015), reporto a *L. theobromae* como un hongo responsable de muerte regresiva en vides en asociación con síntomas de esca, además de otras ocho especies; *B. dothidea*, *N. luteum*, *N. parvum*, *D. corticola*, *D. mutila*, *D. seriata*, *Do. iberica* y *Do. sarmentorum*, en donde *D. corticola* y *Do. sarmentorum* fueron descritas por primera vez infectando vides en Italia (Carlucci et al., 2009; Carlucci y Frisullo, 2009).

Por otra parte, varios estudios han evidenciado y coincidido en que *L. theobromae* (en climas tropicales y subtropicales) y especies del género *Neofusicoccum* se han comportado como los más patogénicos y virulentos en estacas, ramillas y especialmente en madera o troncos de ensayos realizados *in vitro* y a nivel de campo en viñedos. (Úrbez-Torres, 2011; Cloete et al., 2011; Amponsah et al., 2011; Díaz et al., 2013). Así mismo, diversos estudios realizados en distintas partes del mundo; han coincidido que *D. seriata* ha sido la especie con mayor predominancia o incidencia en vides (Taylor et al., 2005; Úrbez-Torres, 2006; Pitt et al., 2010, Díaz et al., 2013).

Con respecto a la sintomatología que generan las especies de *Botryosphaeria*, han demostrado diferir entre regiones y variar dependiendo del cultivar de vid en el que se encuentran (van Niekerk et al., 2004), pero en términos generales, los principales síntomas son muerte regresiva de brotes, brazos y tronco, canchros perennes y necrosis vascular café y negra que forman decoloraciones en la madera, también se ha podido observar malformaciones y leves clorosis en hojas dependiendo de las extensiones de madera colonizada (van Niekerk et al., 2006; Úrbez-Torres y Gubles, 2009; Úrbez-Torres, 2011; Ramirez et al., 2018; Larach et al., 2020; Mojeremane et al., 2020). Además, en distintas partes del mundo como Francia y Estados Unidos, se han evidenciado pudriciones de bayas asociadas a *Botryosphaeria* que podrían ser de gran importancia debido a la epidemiología de estas especies, pudiendo actuar como posibles fuentes de inóculo (Larignon & Dubos, 2001; Leavitt, 2003).

En Chile, se ha reportado principalmente canchros, necrosis interna de la madera, muerte regresiva de brotes, pitones y brazos que eventualmente desembocan en muerte regresiva de la planta completa. La muerte regresiva por *Botryosphaeria* a menudo se presenta como una falta de crecimiento primaveral de pitones afectados, con muerte regresiva de los brotes y necrosis a nivel de yemas y xilema (Úrbez-Torres 2011). La principal evidencia sintomatológica por muerte regresiva de *Botryosphaeria* son los canchros perennes en forma de cuña o “V”, fácilmente apreciables en cortes transversales de troncos infectados (**Figura 2.2**) (Gramaje et al., 2017). Estos síntomas pueden aparecer en el campo solo 1 o 2 años después de que se hayan producido las infecciones (Urbez-Torres et al., 2006) y se observan principalmente en viñedos maduros (más de 8 años), dado que las sintomatologías asociadas a estos patógenos se desarrollan lentamente generando pérdidas graduales de vigor y rendimiento, por esta razón es común encontrar los

síntomas más severos en viñedos más viejos, tanto en vides para vinificación como en uva de mesa. (Gubler et al., 2005; Morales et al., 2012; Larach et al., 2020). Aún así, se han registrado muerte regresiva, canchros y muerte de plantas en vides de uva de mesa de 3 a 5 años (Úrbez-Torres et al., 2008).



Según Úrbez-Torres. (2011), La incidencia de enfermedades asociadas a *Botryosphaeria* en el sur del estado de California, en el Valle de Coachella, se reportó ser tan alta como un 100% en viñedos de diez años o más, presentando canchros severos en las vides. Estudios realizados por Kaplan et al. (2016) indicaron que cultivares de Cabernet Sauvignon ubicados en viñedos sanos en el Valle de San Joaquín en California, presentaron rendimientos de 25 t/ha, mientras que, por otra parte, en viñedos infectados sin tratamientos, las pérdidas en el rendimiento alcanzaron un 90% en vides de al menos 20 años. Como es evidente, todas estas enfermedades terminan generando pérdidas de rendimientos y, por consiguiente, aumentos en los costos de producción, por ejemplo, Hillis et al. (2016), estimaron que en las viñas de California se gasta un promedio de \$US 477 por hectárea al año en orden de prevenir EMV. Al mismo tiempo, en el Valle de Napa, California, se estimaron pérdidas acumuladas de \$US 400.000 por hectárea en viñedos de 25 años de vida productiva debido a EMV (incluyendo *Botryosphaeria*) (Kaplan et al., 2016). Estudios realizados por Siebert. (2001), estimaron pérdidas totales en la industria del vino en California causadas por muerte regresiva asociadas a *Botryosphaeria* y *Eutypa* en valores aproximados a \$US 260 millones

al año. En la región de Burdeos en Francia, se estimaron pérdidas anuales que llegaron al 20% debido a enfermedades de muerte de brazo negro asociadas a *Botryosphaeria* (Úrbez-Torres, 2011).

En Chile, Morales et al. (2012), reportaron incidencias por muerte regresiva asociada a *Botryosphaeria* entre 22% y 69% en viñedos de uva de mesa ubicados en la región de Valparaíso y Metropolitana, además se reportaron severidades del 13% a lo largo de siete viñedos de uva de mesa. Larach et al. (2020), realizaron estudios con el objetivo de evaluar la incidencia, severidad y pérdidas productivas asociadas a muerte regresiva por *Botryosphaeriaceae* en viñedos del cultivar Cabernet Sauvignon ubicados en las regiones de O'Higgins y el Maule. Los muestreos se realizaron durante dos temporadas diferentes, una en 2010 y la siguiente en 2018, la incidencia de muerte regresiva por *Botryosphaeria* durante estas dos temporadas varió en promedio entre 78% y 99% por región, en donde la región del Maule presentó mayores porcentajes de incidencia que la región de O'Higgins, posiblemente debido a la mayor cantidad de precipitaciones que presentó el Maule, que, como bien sabemos, son causantes de la liberación de conidias desde los picnidios al ambiente (Úrbez-Torres et al., 2010a). Con respecto a la severidad evidenciada en este estudio, la región de O'Higgins presentó un promedio del 42%, mientras que el Maule un 56%, además, se evidenció que efectivamente la incidencia y severidad aumentó en función de la edad de las vides (Larach et al., 2020). Como consecuencia se demostró que plantas adultas que presentaban brazos o cordones con síntomas de muerte regresiva asociada a *Botryosphaeria* disminuyeron su productividad entre un 40% y un 49% (Larach et al., 2020).

2.8 Enfermedades de la madera por *Botryosphaeriaceae* en otras especies frutales.

Como se ha mencionado con anterioridad, la familia *Botryosphaeriaceae* es capaz de infectar a una gran diversidad de hospederos, ya sean árboles ornamentales, urbanos o frutales; pudiendo causar severos daños en los cultivos y, por ende, aumento en los costos de producción.

Estudios realizados en Chile por Díaz et al. (2022), indicaron que, en huertos comerciales de manzanos ubicados entre las regiones de O'Higgins, el Maule y la Araucanía, presentaron entre un 5% y 45% de incidencia de enfermedades por *Botryosphaeria*, específicamente se obtuvieron 238 aislados identificados como *D. seriata*, *N. arbuti*, *D. mutila* y *L. theobromae*. Según la información

obtenida a través de este estudio, se dedujo que los agentes causales de cancrrosis y muerte regresiva del manzano en la zona central de Chile corresponden a estas 4 especies antes mencionadas, en donde *D. mutila* resulto ser la especie más frecuente (65%) y *N. arbuti* la especie más virulenta en ramillas.

Según la investigación realizada por Sessa et al (2016), en Uruguay, en 5 plantaciones comerciales de manzanos, perales y durazneros, se realizaron muestreos de madera que presentaran síntomas como canchros, brotes muertos, gomosis, necrosis interna y muerte regresiva. Un total de 247 aislados mostraron signos de pertenecer a *Botryosphaeria*, al mismo tiempo, las tres especies de *Botryosphaeria* mayormente aisladas en este estudio fueron; *D. seriata* (29%), *N. parvum* (27%) y *B. dothidea* (24%). La mayoría de los aislados de *D. seriata* y *B. dothidea* (51% y 77% respectivamente) fueron aislados desde manzanos, mientras que *N. parvum* se aislaron principalmente desde perales (54%). En cuanto a los síntomas que se asociaron a estas especies fitopatógenas, *B. dothidea* en manzano se evidencio canchros papiráceos en ramas y troncos, chancros marrones en brotes, necrosis en ramas en forma de cuña. Igualmente, *N. parvum* se asoció en manzanos presentando síntomas como necrosis marrón interna, necrosis en formas de cuña y canchros papiráceos. *D. seriata* se encontró en manzanos, perales y durazneros causando necrosis marrón interna, chancros de ramas y muerte de brotes apicales.

De acuerdo a estudios realizados en Chile por Díaz et al (2021), se menciona que se han evidenciado enfermedades en kiwi cv. Hayward causadas por miembros de la familia *Botryosphaeriaceae*; de 246 aislados, 89 (36.17%) correspondieron a especies de la familia, específicamente *D. seriata* y *N. parvum*. Al mismo tiempo, estos hongos fueron los patógenos más virulentos; causando las lesiones necróticas más largas en brotes verdes, cañas lignificadas y también en frutos pequeños de kiwi inoculados, en comparación con los síntomas generados por otros patógenos de la madera aislados desde este frutal, tales como *Diaporthe* spp. y *Cadophora* spp.

En la investigación de Valencia et al (2019), se realizó un muestreo en 16 huertos de paltos cv. Hass, ubicados entre Illapel y Peumo durante la primavera de la temporada 2015-2016 desde donde se recolectaron ramas o discos de madera y frutos desde arboles aleatorios aparentemente sanos o

enfermos. De los 16 huertos muestreados, 6 de ellos presentaron sintomatología asociada a especies de *Botryosphaeria*; canchros en ramas y muerte regresiva en plantas jóvenes usadas para replante y plantas adultas, además, se evidenciaron frutos con crecimientos anormales y hojas e inflorescencias marchitas. Con respecto al aislamiento de los patógenos y a su caracterización morfológica y molecular, se obtuvieron 36 provenientes desde las muestras de madera y 88 desde los frutos. Las especies aisladas correspondieron a *D. mutila*, *D. seriata*, *D. ibérica*, *L. theobromae*, *N. australe*, *N. nonquaesitum* y *N. parvum*. En cuanto a la virulencia de las especies, los aislados del género *Neofusicoccum* fueron los más agresivos en plantas de palto luego de 8 semanas después de ser inoculadas. Con respecto a la virulencia en los frutos, los aislados de *L. theobromae* y aislados del género *Neofusicoccum* fueron los más agresivos, generando severos daños en la pulpa.

Estudios realizados por Moral et al (2010) en huertos de olivos ubicados en España y California, evidenciaron la presencia de sintomatología asociada a *Botryosphaeria*, desde donde se obtuvieron 150 aislados de la familia a partir de frutos podridos y ramas con presencia de muerte regresiva en olivos y otros hospederos, como fresno y nogal. Las especies caracterizadas morfológica y molecularmente en el estudio fueron *B. dothidea*, *D. seriata* y *N. mediterraneum*, siendo este último aislado por primera vez descrito atacando olivos. En cuanto a las pruebas de patogenicidad y virulencia, las inoculaciones de los patógenos en frutos mostraron que los aislados del género *Neofusicoccum* fueron los más virulentos seguidos por *B. dothidea*, mientras que *D. seriata* no causó daños. Las inoculaciones en ramas de olivos a nivel de campo evidenciaron que los aislados de *N. mediterraneum* fueron más agresivos que *B. dothidea*, generando canchros luego de 4 semanas después de ser inoculadas y eventualmente muerte regresiva. Por otro lado, aislados de *B. dothidea* obtenidos a partir de frutos no fueron patogénicos en ramas de olivos a nivel de campo. Trabajos realizados por van Dyk et al (2021) en Sud África, enfocados en pruebas de patogenicidad de aislados obtenidos a partir de enfermedades de la madera, evidenciaron la presencia de especies de la familia *Botryosphaeriaceae*, específicamente del género *Neofusicoccum*, tales como; *N. sp.* *N. australe*, *N. stellenboschiana* y *N. vitifusiforme*. Junto con especies como *Cytospora pruinosa*, *Diaporthe foeniculina* y *Pseudophaeomoniella globosa*, los aislados del género *Neofusicoccum* fueron clasificados como altamente virulentos, causando lesiones en estacas de olivos de 2 años. Además, estudios realizados por Mojeremane et al (2020) en diversas especies de plantas, tales como; manzano, vid, olivos, pimiento peruano y ciruelos, demostraron que *N. australe* y *N.*

stellenboschiana son especies patogénicas capaces de colonizar y necrosar el tejido lignificado, en donde el crecimiento de la lesión creció hacia arriba y abajo a partir del punto de inoculación. Los tratamientos con ciruelo como hospedero resultaron presentar las lesiones más largas en comparación con el resto de especies frutales, lo que podría indicar mayor susceptibilidad por parte de este hacia estas especies del género *Neofusicoccum*. Al mismo tiempo, este estudio determino por primera vez que *N. australe* y *N. stellenboschiana* son agentes patogénicos para el pimiento peruano, pues anteriormente, solo se había evidenciado a *N. ribis* causando enfermedades en esta especie, en estudios realizados en Hawái por Stevens y Shear en 1929.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del estudio:

La primera fase del experimento se llevó a cabo en las dependencias del Laboratorio de Patología Frutal perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Talca en donde se desarrollaron principalmente las labores de aislamientos y re-aislamientos de las diferentes especies de hongos. Posteriormente, el ensayo en donde se dispusieron las estacas inoculadas se ubicó en un invernadero de la Universidad.

3.2. Obtención de aislados fungosos:

Se utilizaron 12 aislados de hongos que representan a seis especies de la familia Botryosphaeriaceae, estas son: *Diplodia seriata*, *D. mutila*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum arbuti*, *N. parvum* y *Dothiorella sarmentorum*. (**Cuadro 3.1**). Estos aislados fueron obtenidos de diferentes hospederos frutales (manzano, nogal, arándano y vid) causando síntomas de muerte regresiva (Tabla 1). Todos los aislamientos de Botryosphaeriaceae fueron aislados e identificados morfológica y molecularmente en estudios realizados previamente en los laboratorios de Patología Frutal (Díaz et al., 2013, 2016, 2018, 2019; Espinosa et al., 2009). Cada aislado se activó y se mantuvo en el laboratorio en placas de Petri (90 mm de diámetro) que contienen 2% de agar papa dextrosa (APD), se incubaron durante 9 días a 20 °C con un ciclo de luz/oscuridad de 12h/12h (**Figura 3.1**).

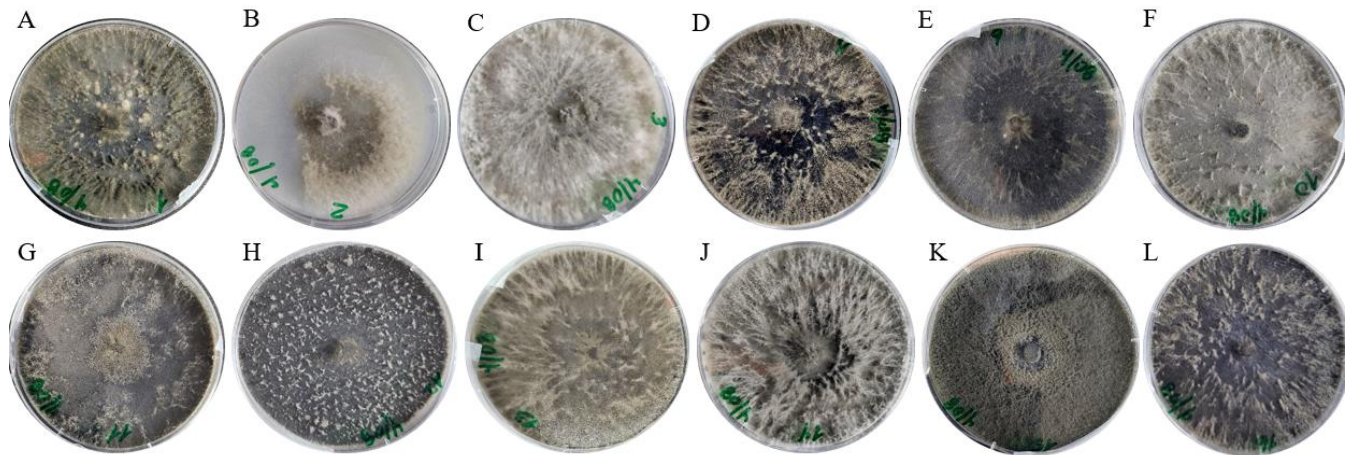


Figura 3.1. Colonias de aislados de Botryosphaeriaceae en medio APD al 2% que fueron incubadas durante 13 días a una temperatura de 20 °C con régimen de 12h/12h luz/ oscuridad. (A) *Lasiodiplodia theobromae* (LT6-Mz), (B) *Diplodia seriata* (DS3-Mz), (C) *Neofusicoccum arbuti* (NA32-Mz), (D) *Diplodia mutila* (DM2-Mz), (E) *Diplodia seriata* (DS1-Vid), (F) *Neofusicoccum parvum* (NP10-Vid), (G) *Diplodia mutila* (Dmnog-4), (H) *Dothiorella sarmentorum* (Dsar-2-Nog), (I) *Neofusicoccum parvum* (NP-9-Nog), (J) *Neofusicoccum parvum* (NP-7-Ara), (K) *Diplodia mutila* (DM-11-Ara), (L) *Diplodia mutila* (DM-4-Ave).

Cuadro 3.1. Aislados de Botryosphaeriaceae detallando las especies, hospedero y localidad.

Fuente: Elaboración propia.

Tratamiento	Especie Botryosphaeria	Aislado	Hospedero origen	Localidad-Año
1	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	LT6-Mz	Manzano	Los Niches-2017
2	<i>Diplodia seriata</i>	DS3-Mz	Manzano	Molina-2018
3	<i>Neofusicoccum arbuti</i>	NA32-Mz	Manzano	Parral-2018
4	<i>Diplodia mutila</i>	DM2-Mz	Manzano	Talca-2017
5	<i>Diplodia seriata</i>	DS1-Vid	Vid	San Clemente-2017
6	<i>Neofusicoccum parvum</i>	NP10-Vid	Vid	Curicó-2018
7	<i>Diplodia mutila</i>	Dmnog-4	Nogal	Parral-2015
8	<i>Dothiorella sarmentorum</i>	Dsar-2-Nog	Nogal	San Rafael-2019
9	<i>Neofusicoccum parvum</i>	NP-9-Nog	Nogal	San Rafael-2017
10	<i>Neofusicoccum parvum</i>	NP-7-Ara	Arándano	Longaví-2018
11	<i>Diplodia mutila</i>	DM-11-Ara	Arándano	Linares-2018
12	<i>Diplodia mutila</i>	DM-4-Ave	Avellano Europeo	Camarico-2020

3.3. Preparación y establecimiento de las estacas

Cargadores lignificados en receso fueron podados y colectados (1 año de edad, n=100) desde plantas adultas sanas de vid cvs. Cabernet Sauvignon, Syrah, Sauvignon Blanc, Malbec y Aspirant Bouschet (**Figura 3.2**), desde viñedos comerciales de Pencahue, Panguilemo y San Clemente. Los cargadores fueron cortados para dejar estacas de 30 cm de largo, las cuales se desinfectaron superficialmente sumergiéndolas durante 10 segundos en una solución de cloro comercial al 5% (0,05 L de cloro comercial + 10 L de agua), posterior a esto las estacas se sumergieron en agua durante 1 minuto y se dejaron secar durante 30 min aproximadamente sobre papel absorbente. A continuación, cada estaca se podó en bisel en su zona distal (ángulo de 45°) con tijeras manuales a un ángulo de 45°. Posteriormente se sumergieron en enraizante comercial (Anasac) y se colocaron en forma vertical (ángulo 90°) al interior de camas de perlita húmeda estéril en cajas de polietileno de dimensiones 60 x 30 cm (**Figura 3.3**).



Figura 3.2. Estacas ya desinfectadas y secas de los cinco cultivares utilizados en el ensayo, (A) estacas de cv. Cabernet Sauvignon, (B) estacas de cv. Malbec, (C) estacas de cv. Syrah, (D) estacas de cv. Sauvignon Blanc, (E) estacas de cv. Aspirant Bouschet.



Figura 3.3. Ensayo bajo condiciones de invernadero montado; estacas de los cinco cultivares, Cabernet Sauvignon, Syrah, Malbec, Sauvignon Blanc y Aspirant Bosuchet sumergidas en camas de perlita estéril dispuestas en cajas de polietileno de dimensiones 60 x 30 cm.

3.4. Inoculación de las estacas con las diferentes especies de Botryosphaeriaceae

Después de 24 h, las estacas en receso fueron inoculadas, para esto se cortarían tapones fúngicos (4 mm de diámetro) de los márgenes de las colonias (zonas de crecimiento activo) con un sacabocado (Mojeremane et al., 2020). Como tratamiento control se utilizaron tapones de APD no colonizados. Las estacas fueron heridas en la zona del entrenudo con un bisturí, generando una lesión en forma de cuña lo suficientemente profunda como para llegar al tejido del xilema, pero no lo suficientemente profunda como para llegar a la médula. A continuación, los tapones miceliales de agar de 4 mm se insertaron en las heridas y se envolvieron con Parafilm (**Figura 3.4**). Una vez establecido el ensayo con las estacas inoculadas, se dejó en condiciones de invernadero semicontroladas por un total de 116 días, a una temperatura promedio de 24.4 ° C y 47% de humedad relativa, con un ciclo de luz/oscuridad de 12h/12h en primavera y 14h/10h en verano, con riegos de 2 a 3 veces por semana dependiendo de las temperaturas diarias.

Pasados 112 días se procedió a evaluar las estacas del cultivar Cabernet Sauvignon, 113 días Syrah, 114 días Malbec y Sauvignon Blanc, y, finalmente, 116 días para Aspirant Bouschet, por lo que pasado este tiempo se midieron las lesiones necróticas (mm) desde el punto de inoculación con un calibrador digital Vernier (serie 500 Absolute digimatic, Mitutoyo America Corporation).

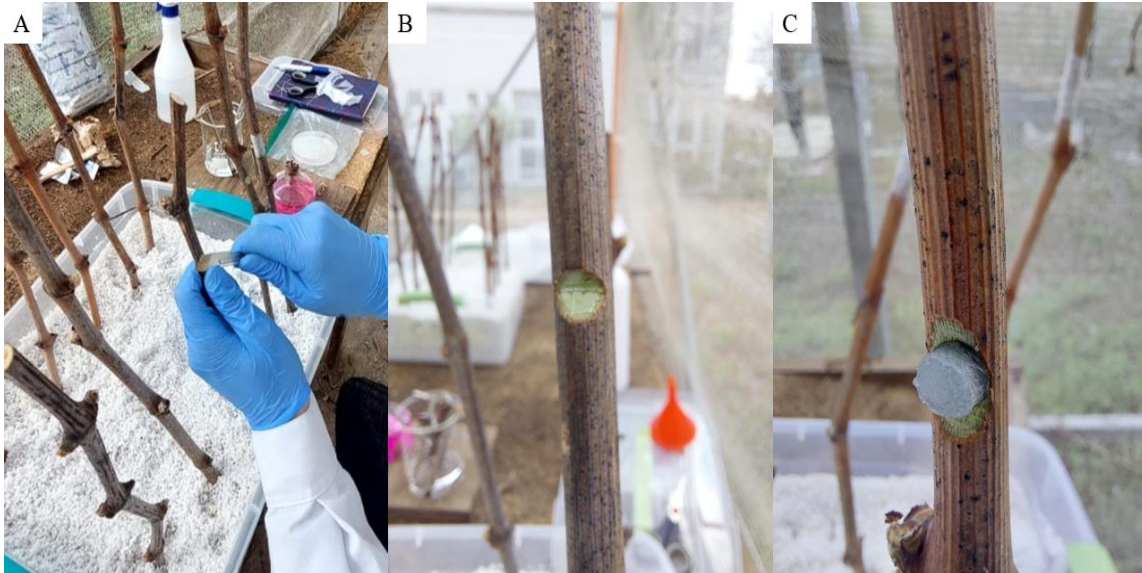


Figura 3.4. Preparación e inoculación de las estacas. (A) realización de corte en forma de cuña sobre la estaca para posterior inoculación, (B) herida en forma de cuña lista para ser inoculada, (C) inoculación mediante postura de tapón micelial de 4 mm de aislado de *Botryosphaeria* sobre la herida generada en la estaca.



Figura 3.5. Ensayo bajo condiciones de invernadero luego de un mes de ser inoculadas las estacas. (A) estacas de Cabernet Sauvignon, (B) estacas de Syrah, (C) estacas de Malbec, (D) estacas de Sauvignon Blanc, (E) estacas de Aspirant Bouschet.

3.5. Re-aislamientos

Para asegurar que el necrosamiento de la madera fue provocado por la inoculación de los aislados de especies de la familia Botryosphaeriaceae utilizados y cumplir con los Postulados de Koch, una vez medido el avance, se realizó el re-aislamiento de los agentes causales mediante la siembra de trocitos de estaca con necrosis, que previamente se desinfecto superficialmente con alcohol 75% por 15 segundos y luego se colocaron en placas de Petri con medio APD al 2%.

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

3.6. Diseño experimental y análisis estadístico

Para analizar las medias de las lesiones necróticas obtenidas a partir del ensayo bajo condiciones de invernadero, se utilizó un diseño completamente al azar (DCA). La unidad experimental corresponde a 1 estaca y se utilizaron 5 repeticiones. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA; $P < 0.05$), y como existieron diferencias significativas, estos fueron separados por una Prueba de rangos Múltiples de Tukey ($P < 0.05$) usando el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics Technologies, Inc. Virginia, E.E.U.U).

4. RESULTADOS

4.1 Virulencia en estacas de vid inoculadas bajo condiciones de invernadero.

Los cinco cultivares inoculados con las doce especies de hongos de la familia Botryosphaeriaceae aislados desde diferentes hospederos frutales, desarrollaron lesiones necróticas visibles tanto hacia arriba como hacia abajo a partir de la herida generada en forma de cuña en condiciones de invernadero.

4.1.1. Virulencia en estacas de Cabernet Sauvignon

Todas las estacas del cultivar Cabernet Sauvignon presentaron lesiones necróticas visibles y estadísticamente significativas tanto hacia arriba como hacia abajo desde el punto de inoculación generadas por las diferentes especies de la familia Botryosphaeriaceae aislados desde distintos hospederos frutales (**Cuadro 4.1**) (**Figura 4.3**).

Las lesiones necróticas más largas (**Figura 4.1**) fueron generadas por los aislados NP-9-Nog, correspondiente a la especie *Neofusicoccum parvum*, aislado desde nogal, con un promedio de 253.5 mm, seguido por el aislado NP10-Vid, correspondiente a la especie *N. parvum*, aislado desde vid, con un promedio de 232.8 mm y el aislado NA32-Mz, correspondiente a la especie *N. arbuti*, aislado desde manzano, con un promedio de 171.8 mm. Por otra parte, las lesiones necróticas más cortas (**Figura 4.2**), sin contar el control de APD, fueron generadas por los aislados DM-11-Ara, correspondiente a la especie *Diplodia mutila*, aislado desde arándano, con un promedio de 26.7 mm, seguido por Dmnog-4, correspondiente a la especie *D. mutila*, aislado desde nogal, con un promedio de 34.3 mm y el aislado LT6-Mz, correspondiente a la especie *Lasidiplodia thebromae*, aislado desde manzano, con un promedio de 43.3 mm. Las estacas control, inoculadas con tapones de APD presentaron las lesiones más cortas, con un promedio de 11.3 mm, siendo no significativas.

En cuanto a los re-aislamientos, todos los aislados cumplieron con los postulados de Koch basados en análisis de caracteres culturales, demostrando características morfológicas 100%

compatibles en el medio APD y confirmado de esta forma a los agentes causales inoculados en un principio correspondientes a las especies específicas de *Botryosphaeria* (Úrbez-Torres et al., 2006).

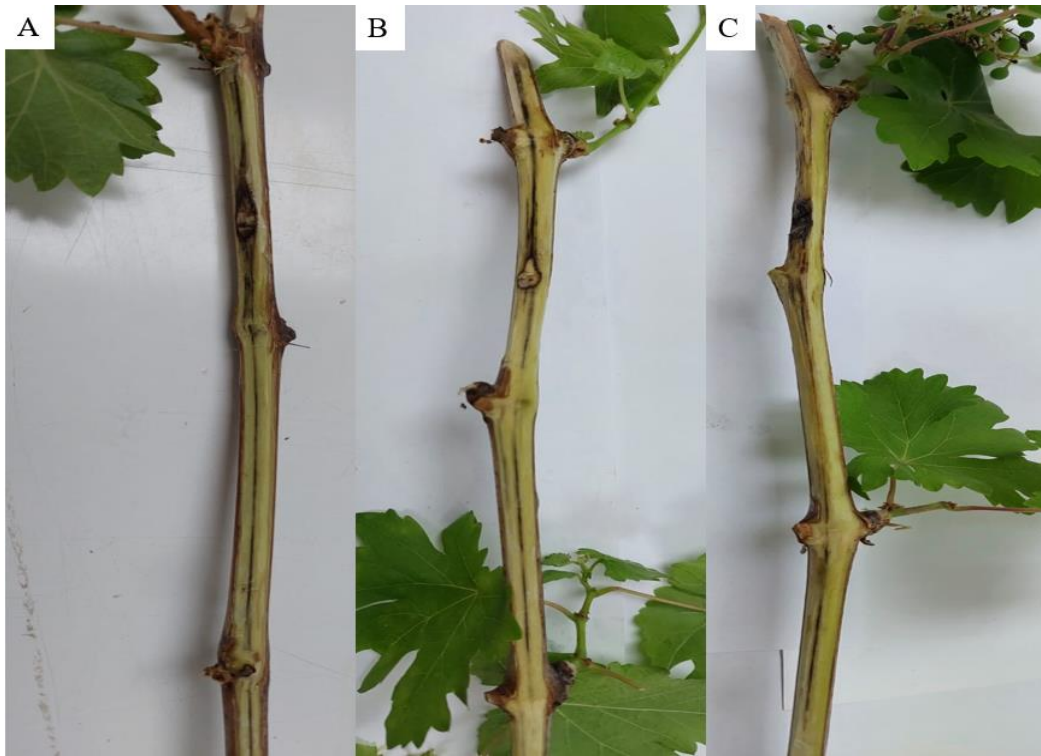


Figura 4.1. Estacas de Cabernet Sauvignon inoculadas con aislados NP-9-Nog, NP10-Vid y NA32-Mz, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Cabernet Sauvignon inoculado con aislado NP-9-Nog, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Cabernet Sauvignon inoculada con aislado NP10-Vid, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Cabernet Sauvignon inoculada con aislado NA32-Mz, con lesión necrótica longitudinal.

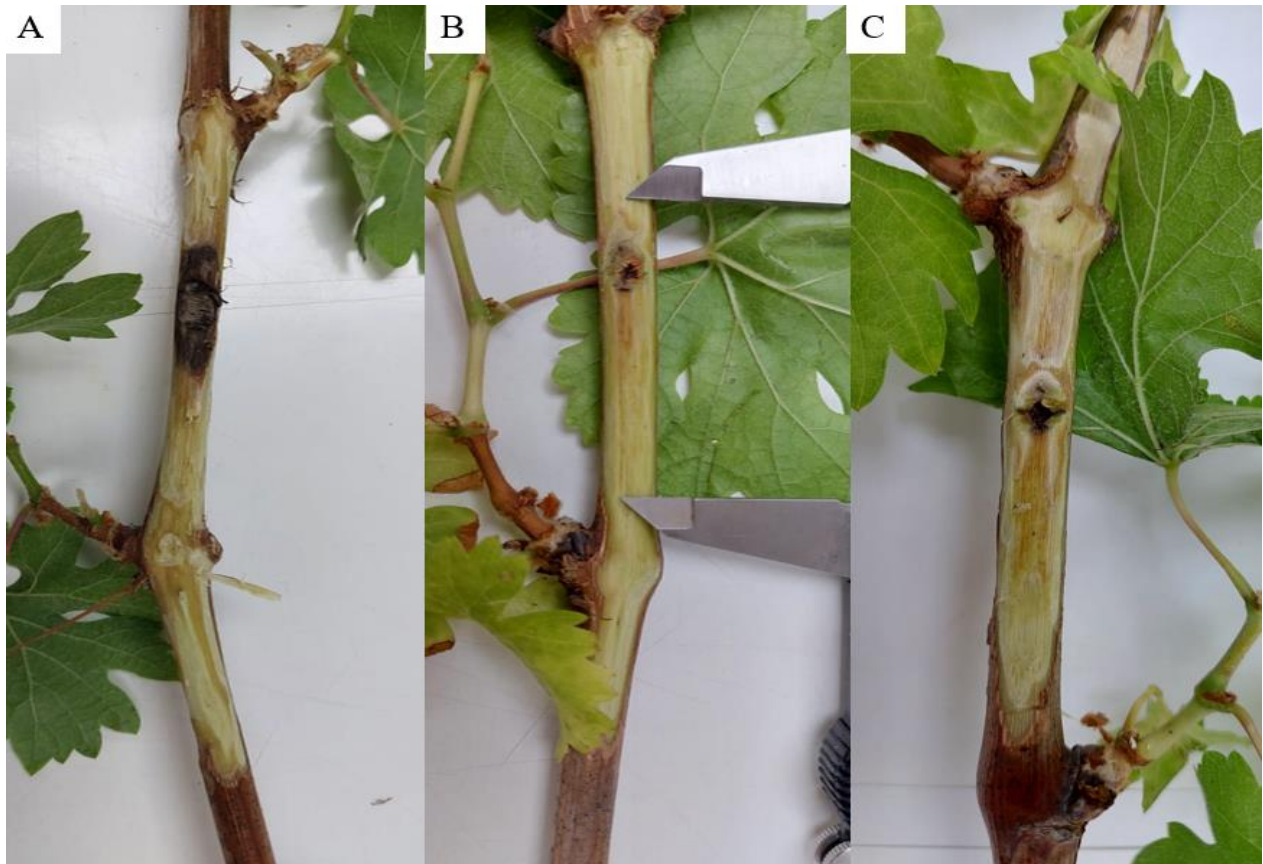


Figura 4.2. Estacas de Cabernet Sauvignon inoculadas con aislados DM-11-Ara, Dmnog-4 y LT6-Mz, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Cabernet Sauvignon inoculado con aislado DM-11-Ara, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Cabernet Sauvignon inoculada con aislado Dmnog-4, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Cabernet Sauvignon inoculada con aislado LT6-Mz, con lesión necrótica longitudinal.

Cuadro 4.1. Análisis de varianza (ANOVA) para LOG (largo de lesión (mm)) por cada tratamiento de Botryosphaeria en cultivar Cabernet Sauvignon.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	49,3579	12	4,11316	18,59	0,0000
Intra grupos	11,5039	52	0,221229		
Total (Corr.)	60,8618	64			

* Dado a que el Valor-p es menor a 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de largo de lesión (mm), entre un nivel de tratamiento y otro, por lo que al menos uno difiere del resto con un nivel del 95.0% de confianza.

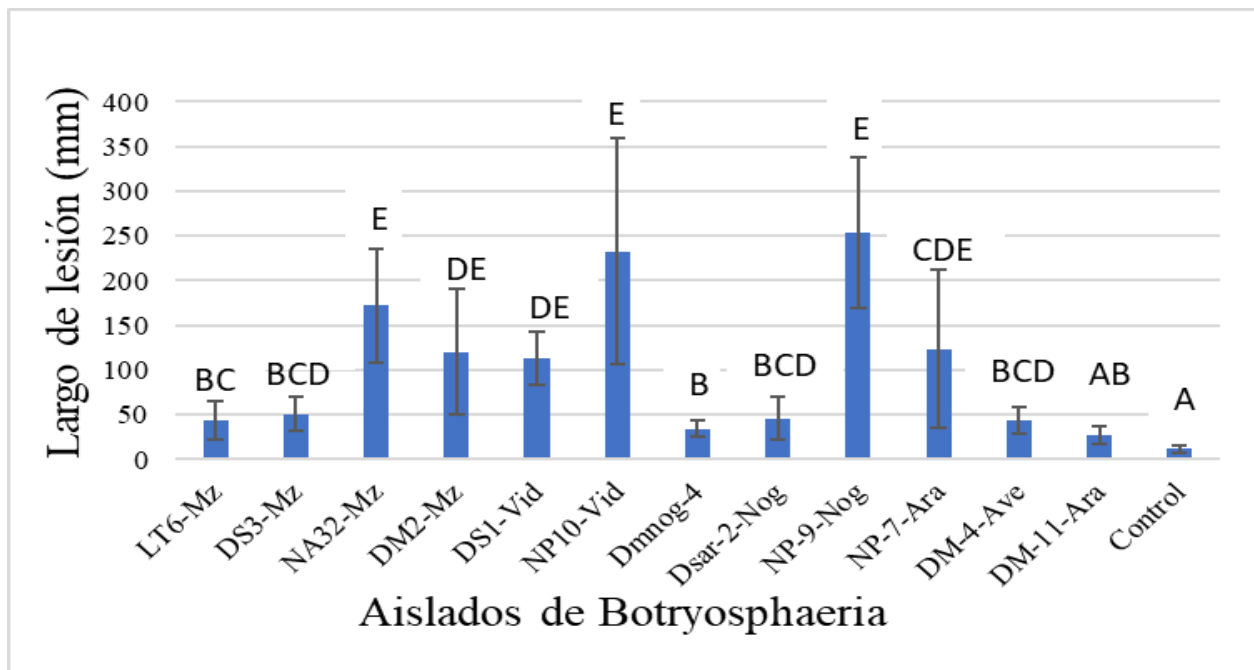


Figura 4.3. Largo de lesión necrótica en estacas de vid cv. Cabernet Sauvignon después de 112 días en condiciones de invernadero, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR, inoculadas con doce especies de la familia Botryosphaeriaceae, que fueron aisladas a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva.

4.1.2. Virulencia en estacas de Syrah

Todas las estacas del cultivar Syrah presentaron lesiones necróticas visibles y estadísticamente significativas tanto hacia arriba como hacia abajo desde el punto de inoculación generadas por las diferentes especies de la familia Botryosphaeriaceae aislados desde distintos hospederos frutales (**Cuadro 4.2**) (**Figura 4.6**).

Las lesiones necróticas más largas (**Figura 4.4**) fueron generadas por los aislados NP-7-Ara, correspondiente a la especie *Neofusicoccum parvum*, aislado desde arándano, con un promedio de 103.4 mm, seguido por el aislado NP10-Vid, correspondiente a la especie *N. parvum*, aislado desde vid, con un promedio de 100.4 mm y el aislado NP-9-Nog, correspondiente a la especie *N. parvum*, aislado desde nogal, con un promedio de 93.4 mm. Por otra parte, las lesiones necróticas más cortas (**Figura 4.5**), sin contar el control de APD, fueron generadas por los aislados DS3-Mz, correspondiente a la especie *Diplodia seriata*, aislado desde manzano, con un promedio de 20.5 mm, seguido por LT6-Mz, correspondiente a la especie *Lasiodyplodia theobormae*, aislado desde manzano, con un promedio de 32.8 mm y el aislado DS1-Vid, correspondiente a la especie *Diplodia seriata*, aislado desde vid, con un promedio de 37.5 mm. Las estacas control, inoculadas con tapones de APD presentaron las lesiones más cortas, con un promedio de 11.7 mm, siendo no significativas.

En cuanto a los re-aislamientos, todos los aislados cumplieron con los postulados de Koch basados en análisis de caracteres culturales, demostrando características morfológicas 100% compatibles en el medio APD y confirmado de esta forma a los agentes causales inoculados en un principio correspondientes a las especies específicas de Botryosphaeria (Úrbez-Torres et al., 2006).



Figura 4.4. Estacas de Syrah inoculadas con aislados NP-7-Ara, NP10-Vid y NP-9-Nog, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Syrah inoculado con aislado NP-7-Ara, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Syrah inoculada con aislado NP10-Vid, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Syrah inoculada con aislado NP-9-Nog, con lesión necrótica longitudinal.

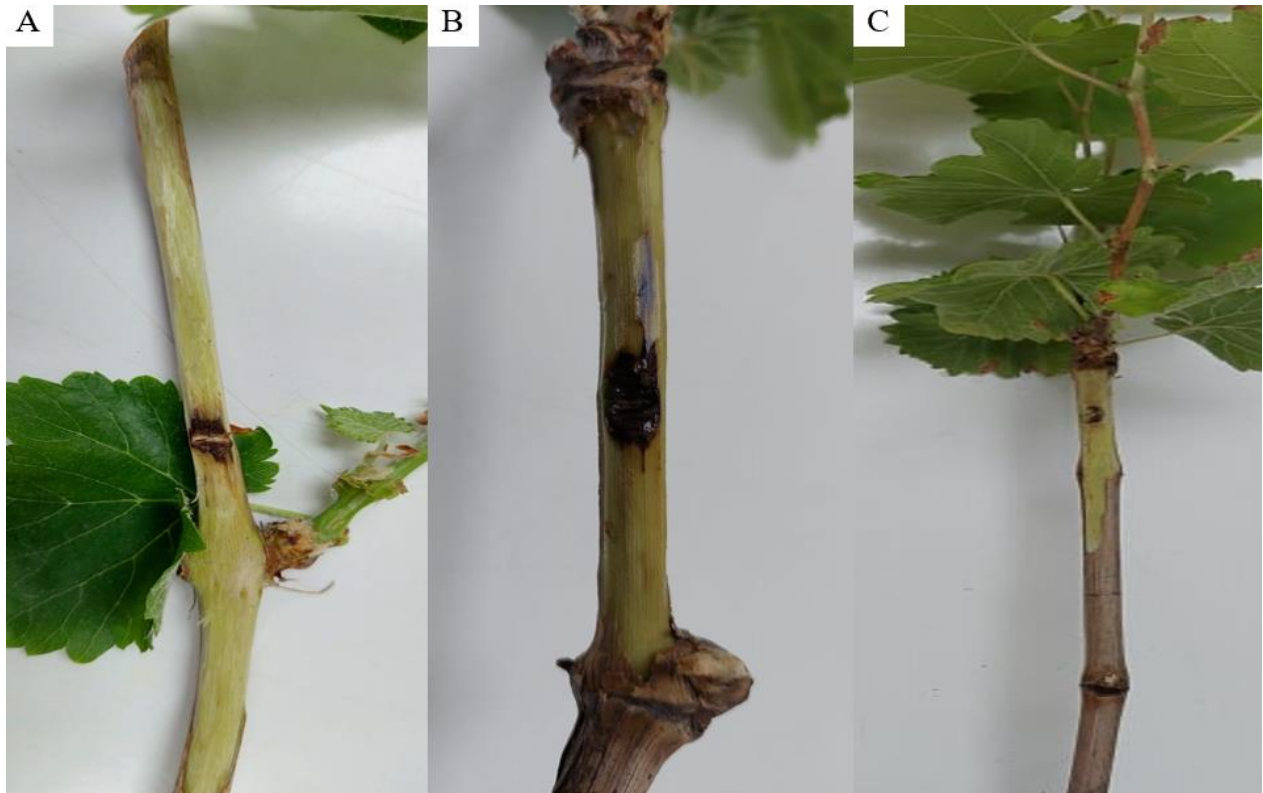


Figura 4.5. Estacas de Syrah inoculadas con aislados DS3-Mz, LT6-Mz y DS1-Vid, evidenciando necrosis interna luego de 113 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Syrah inoculado con aislado DS3-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Syrah inoculada con aislado LT6-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Syrah inoculada con aislado DS1-Vid, con lesión necrótica longitudinal.

Cuadro 4.2. Análisis de varianza (ANOVA) para 1/LOG (largo de lesión (mm)) por cada tratamiento de *Botryosphaeria* en cultivar Syrah.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,165893	12	0,0138244	10,29	0,0000
Intra grupos	0,0698553	52	0,00134337		
Total (Corr.)	0,235748	64			

* Dado a que el Valor-p es menor a 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de largo de lesión (mm), entre un nivel de tratamiento y otro, por lo que al menos uno difiere del resto con un nivel del 95.0% de confianza.

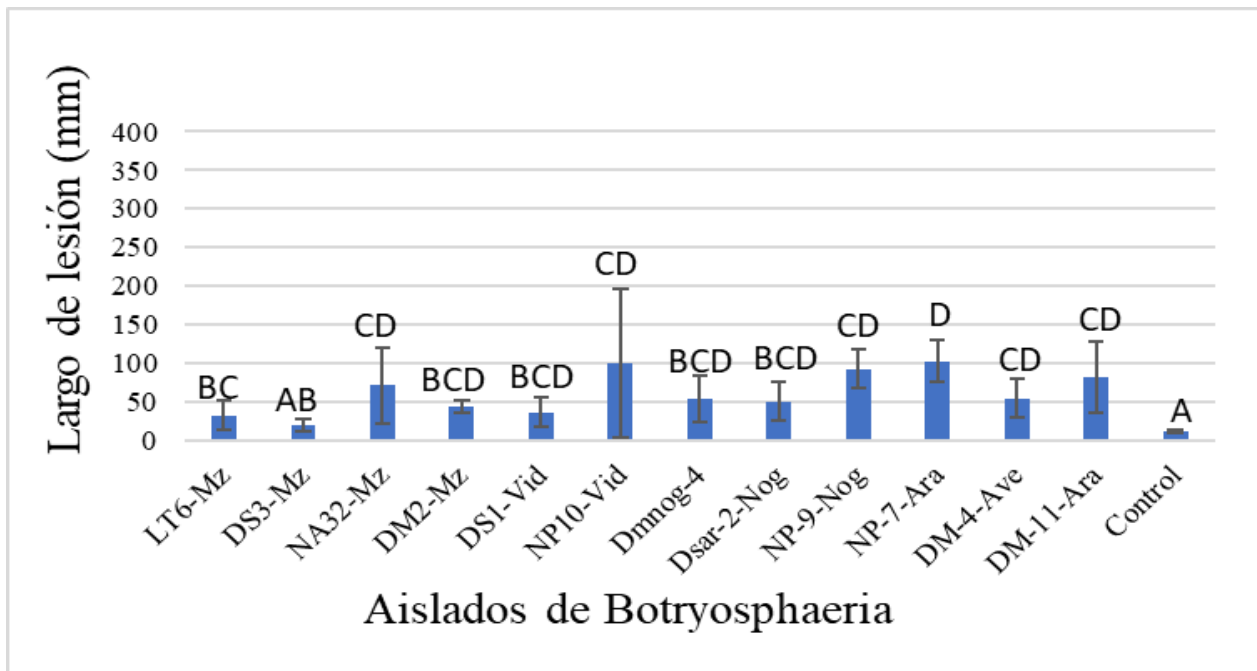


Figura 4.6. Largo de lesión necrótica en estacas de vid cv. Syrah después de 112 días en condiciones de invernadero, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR, inoculadas con doce especies de la familia Botryosphaeriaceae, que fueron aisladas a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva.

4.1.3. Virulencia en estacas de Malbec

Todas las estacas del cultivar Malbec presentaron lesiones necróticas visibles y estadísticamente significativas tanto hacia arriba como hacia abajo desde el punto de inoculación generadas por las diferentes especies de la familia Botryosphaeriaceae aislados desde distintos hospederos frutales (**Cuadro 4.3**) (**Figura 4.9**).

Las lesiones necróticas más largas (**Figura 4.7**) fueron generadas por los aislados NP-7-Ara, correspondiente a la especie *Neofusicoccum parvum*, aislado desde arándano, con un promedio de 196.6 mm, seguido por el aislado DM-11-Ara, correspondiente a la especie *Diplodia mutila*, aislado desde arándano, con un promedio de 123.3 mm y el aislado DM-2-Mz, correspondiente a la especie *D. mutila*, aislado desde manzano, con un promedio de 95.8 mm. Por otra parte, las lesiones necróticas más cortas (**Figura 4.8**), sin contar el control de APD, fueron generadas por los aislados DS3-Mz, correspondiente a la especie *Diplodia seriata*, aislado desde manzano, con un promedio de 20.8 mm, seguido por LT6-Mz, correspondiente a la especie *Lasioidiplodia theobormae*, aislado desde manzano, con un promedio de 27 mm y el aislado Dmnog-4, correspondiente a la especie *Dothiorella sarmentorum*, aislado desde nogal, con un promedio de 29 mm. Las estacas control, inoculadas con tapones de APD presentaron las lesiones más cortas, con un promedio de 8.4 mm, siendo no significativas.

En cuanto a los re-aislamientos, todos los aislados cumplieron con los postulados de Koch basados en análisis de caracteres culturales, demostrando características morfológicas 100% compatibles en el medio APD y confirmado de esta forma a los agentes causales inoculados en un principio correspondientes a las especies específicas de Botryosphaeria (Úrbez-Torres et al., 2006).

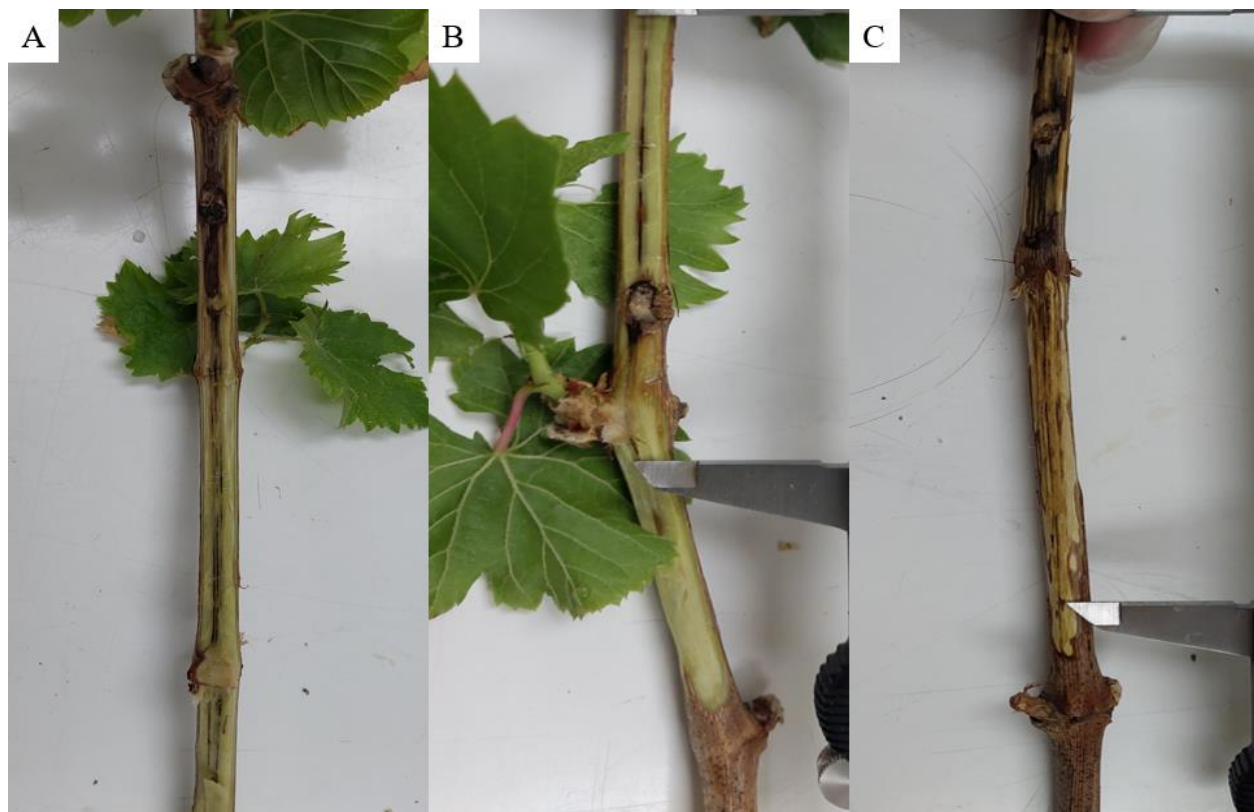


Figura 4.7. Estacas de Malbec inoculadas con aislados NP-7-Ara, DM-11-Ara y DM-2-Mz, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Malbec inoculado con aislado NP-7-Ara, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Malbec inoculada con aislado DM-11-Ara, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Malbec inoculada con aislado DM-2-Mz, con lesión necrótica longitudinal.

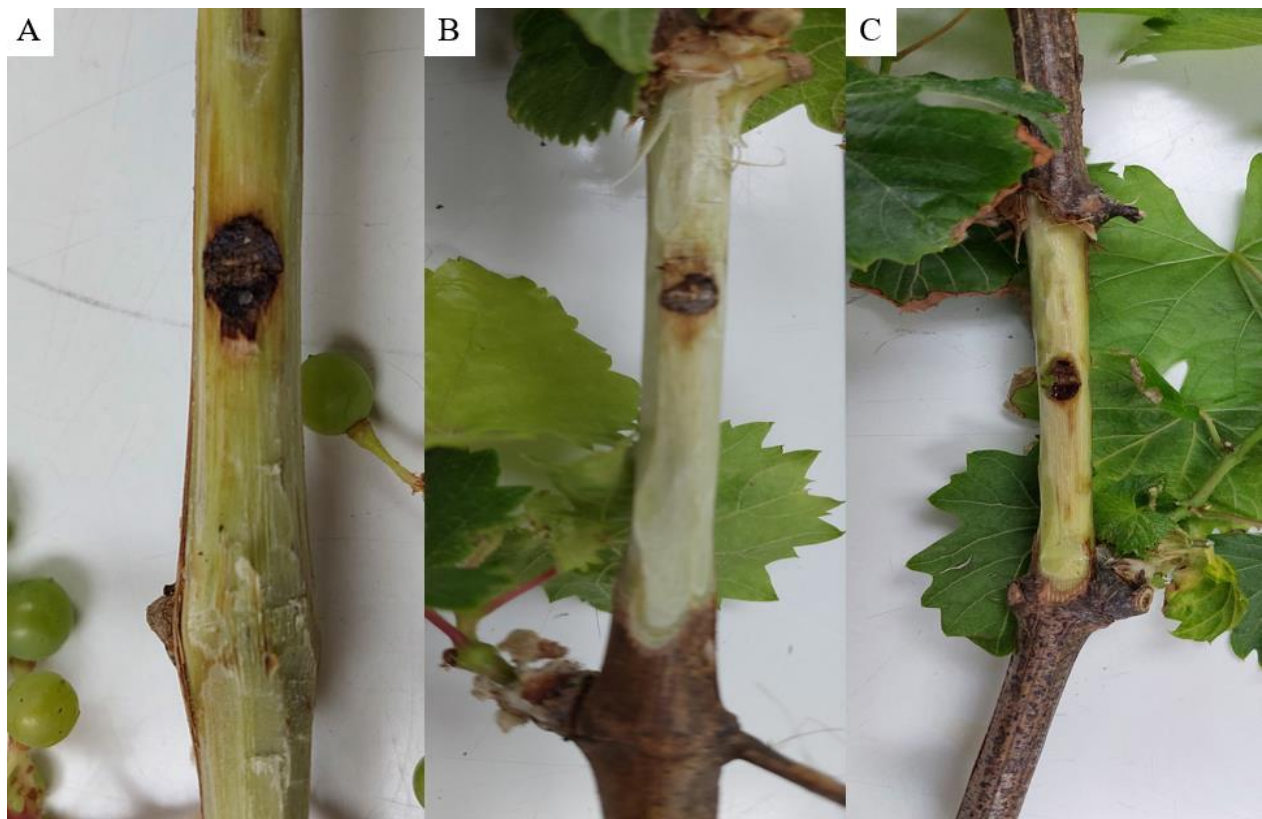


Figura 4.8. Estacas de Malbec inoculadas con aislados DS3-Mz, LT6-Mz y Dmnog-4, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Malbec inoculado con aislado DS3-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Malbec inoculada con aislado LT6-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Malbec inoculada con aislado Dmnog-4, con lesión necrótica longitudinal.

Cuadro 4.3. Análisis de varianza (ANOVA) para (largo de lesión (mm)) por cada tratamiento de Botryosphaeria en cultivar Malbec.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	164613,	12	13717,7	3,96	0,0002
Intra grupos	180317,	52	3467,64		
Total (Corr.)	344930,	64			

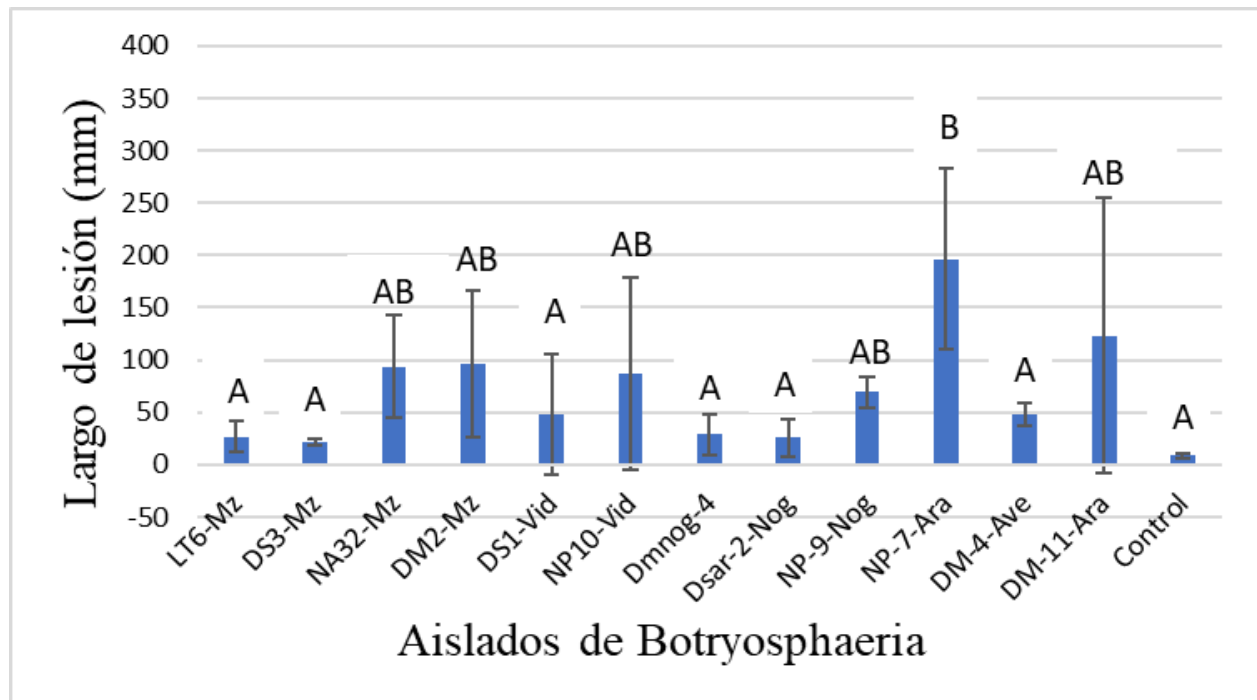


Figura 4.9. Largo de lesión necrótica en estacas de vid cv. Malbec después de 112 días en condiciones de invernadero, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR, inoculadas con doce especies de la familia Botryosphaeriaceae, que fueron aislados a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva.

4.1.4. Virulencia en estacas de Sauvignon Blanc

Todas las estacas del cultivar Sauvignon Blanc presentaron lesiones necróticas visibles y estadísticamente significativas tanto hacia arriba como hacia abajo desde el punto de inoculación generadas por las diferentes especies de la familia Botryosphaeriaceae aislados desde distintos hospederos frutales (**Cuadro 4.4**) (**Figura 4.12**).

Las lesiones necróticas más largas (**Figura 4.10**) fueron generadas por los aislados NP-10-Vid, correspondiente a la especie *Neofusicoccum parvum*, aislado desde vid, con un promedio de 142.2 mm, seguido por el aislado NA32-Mz, correspondiente a la especie *N. arbuti*, aislado desde manzano, con un promedio de 94.4 mm y el aislado NP-7-Ara, correspondiente a la especie *N. parvum*, aislado desde arándano, con un promedio de 84.1 mm. Por otra parte, las lesiones necróticas más cortas (**Figura 4.11**), sin contar el control de APD, fueron generadas por los aislados LT6-Mz, correspondiente a la especie *Lasiodiplodia theobormae*, aislado desde manzano, con un promedio de 27.3 mm, seguido por DS1-Vid, correspondiente a la especie *Diplodia seriata*, aislado desde vid, con un promedio de 30.2 mm y el aislado Dmnog-4, correspondiente a la especie *Dothiorella sarmentorum*, aislado desde nogal, con un promedio de 34.3 mm. Las estacas control, inoculadas con tapones de APD presentaron las lesiones más cortas, con un promedio de 11.7 mm, siendo no significativas.

En cuanto a los re-aislamientos, todos los aislados cumplieron con los postulados de Koch basados en análisis de caracteres culturales, demostrando características morfológicas 100% compatibles en el medio APD y confirmado de esta forma a los agentes causales inoculados en un principio correspondientes a las especies específicas de Botryosphaeria (Úrbez-Torres et al., 2006).



Figura 4.10. Estacas de Sauvignon Blanc inoculadas con aislados NP-10-Vid, NA32-Mz y NP-7-Ara, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Sauvignon Blanc inoculado con aislado NP-10-Vid, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Sauvignon Blanc inoculada con aislado NA32-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Sauvignon Blanc inoculada con aislado NP-7-Ara, con lesión necrótica longitudinal.

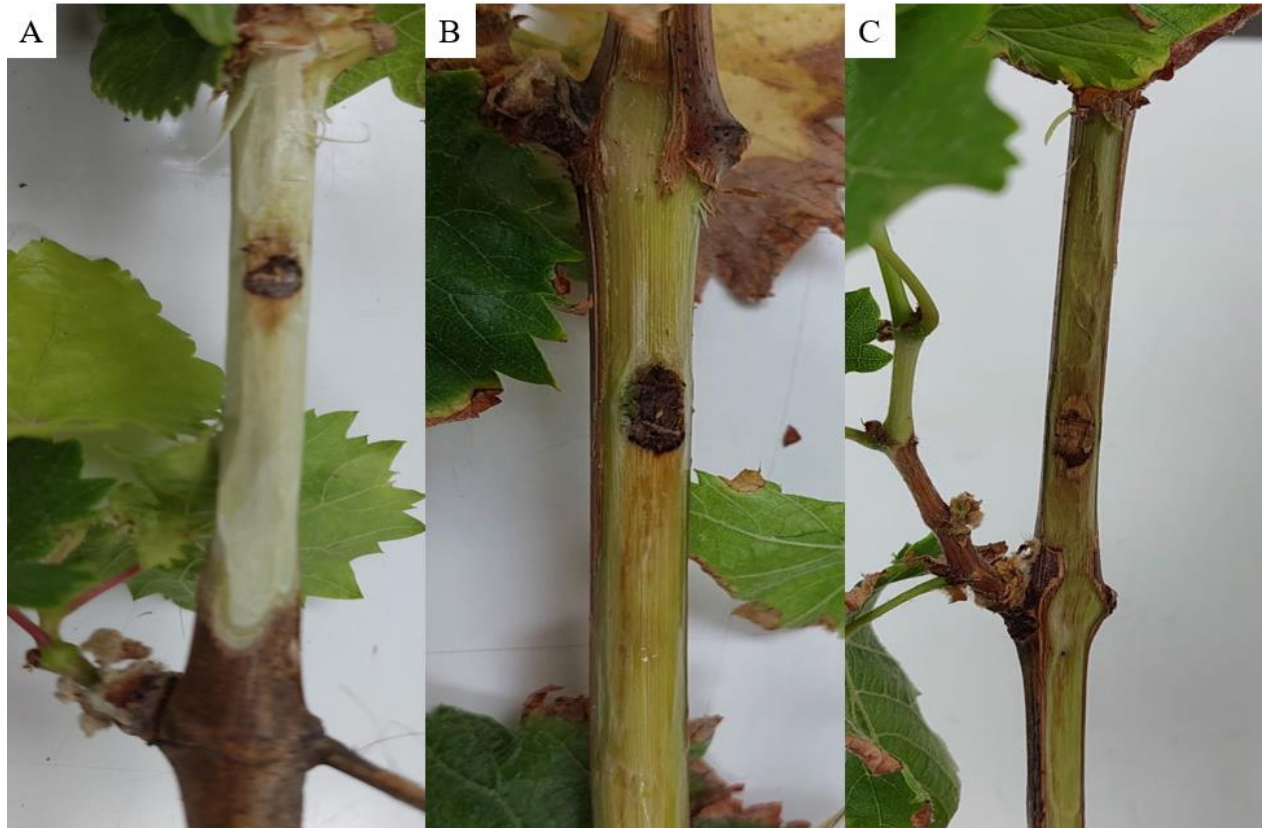


Figura 4.11. Estacas de Sauvignon Blanc inoculadas con aislados LT6-Mz, DS1-Vid y Dmnog-4, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Sauvignon Blanc inoculado con aislado LT6-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Sauvignon Blanc inoculada con aislado DS1-Vid, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Sauvignon Blanc inoculada con aislado Dmnog-4, con lesión necrótica longitudinal.

Cuadro 4.4. Análisis de varianza (ANOVA) para (largo de lesión (mm)) por cada tratamiento de Botryosphaeria en cultivar Sauvignon Blanc.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	74029,3	12	6169,11	3,10	0,0023
Intra grupos	103393,	52	1988,34		
Total (Corr.)	177423,	64			

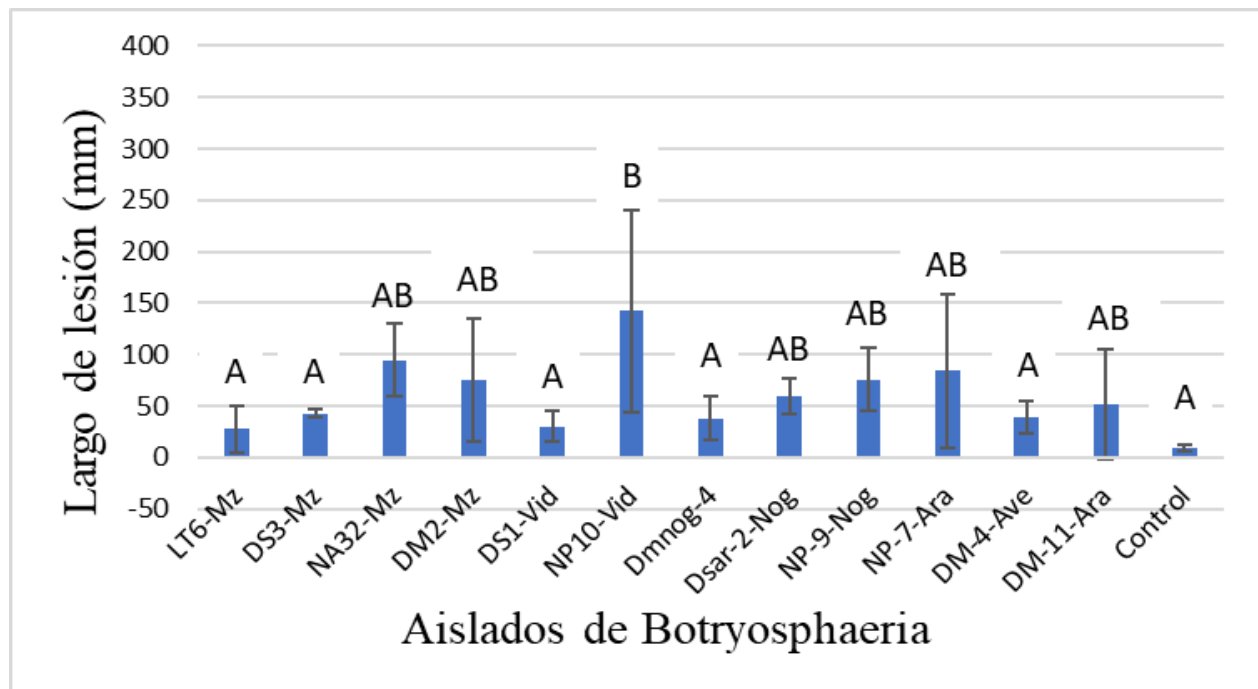


Figura 4.12. Largo de lesión necrótica en estacas de vid cv. Sauvignon Blanc después de 112 días en condiciones de invernadero, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR, inoculadas con doce especies de la familia Botryosphaeriaceae, que fueron aislados a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva.

4.1.5. Virulencia en estacas de Aspirant Bouschet

Todas las estacas del cultivar Aspirant Bouschet presentaron lesiones necróticas visibles y estadísticamente significativas tanto hacia arriba como hacia abajo desde el punto de inoculación generadas por las diferentes especies de la familia Botryosphaeriaceae aislados desde distintos hospederos frutales (**Cuadro 4.5**) (**Figura 4.15**).

Las lesiones necróticas más largas (**Figura 4.13**) fueron generadas por los aislados NP-9-Nog, correspondiente a la especie *Neofusicoccum parvum*, aislado desde nogal, con un promedio de 174.8 mm, seguido por el aislado DS3-Mz, correspondiente a la especie *Diplodia seriata*, aislado desde manzano, con un promedio de 135 mm y el aislado LT6-Mz, correspondiente a la especie *Lasiodiplodia theobromae*, aislado desde manzano, con un promedio de 75.8 mm. Por otra parte, las lesiones necróticas más cortas (**Figura 4.14**), sin contar el control de APD, fueron generadas por los aislados DS1-Vid, correspondiente a la especie *Diplodia seriata*, aislado desde vid, con un promedio de 35.6 mm, seguido por DM-11-Ara, correspondiente a la especie *Diplodia mutila*, aislado desde arandano, con un promedio de 34.5 mm y el aislado Dmnog-4, correspondiente a la especie *Dothiorella sarmentorum*, aislado desde nogal, con un promedio de 36.2 mm. Las estacas control, inoculadas con tapones de APD presentaron las lesiones más cortas, con un promedio de 11.7 mm, siendo no significativas.

En cuanto a los re-aislamientos, todos los aislados cumplieron con los postulados de Koch basados en análisis de caracteres culturales, demostrando características morfológicas 100% compatibles en el medio APD y confirmado de esta forma a los agentes causales inoculados en un principio correspondientes a las especies específicas de Botryosphaeria (Úrbez-Torres et al., 2006).

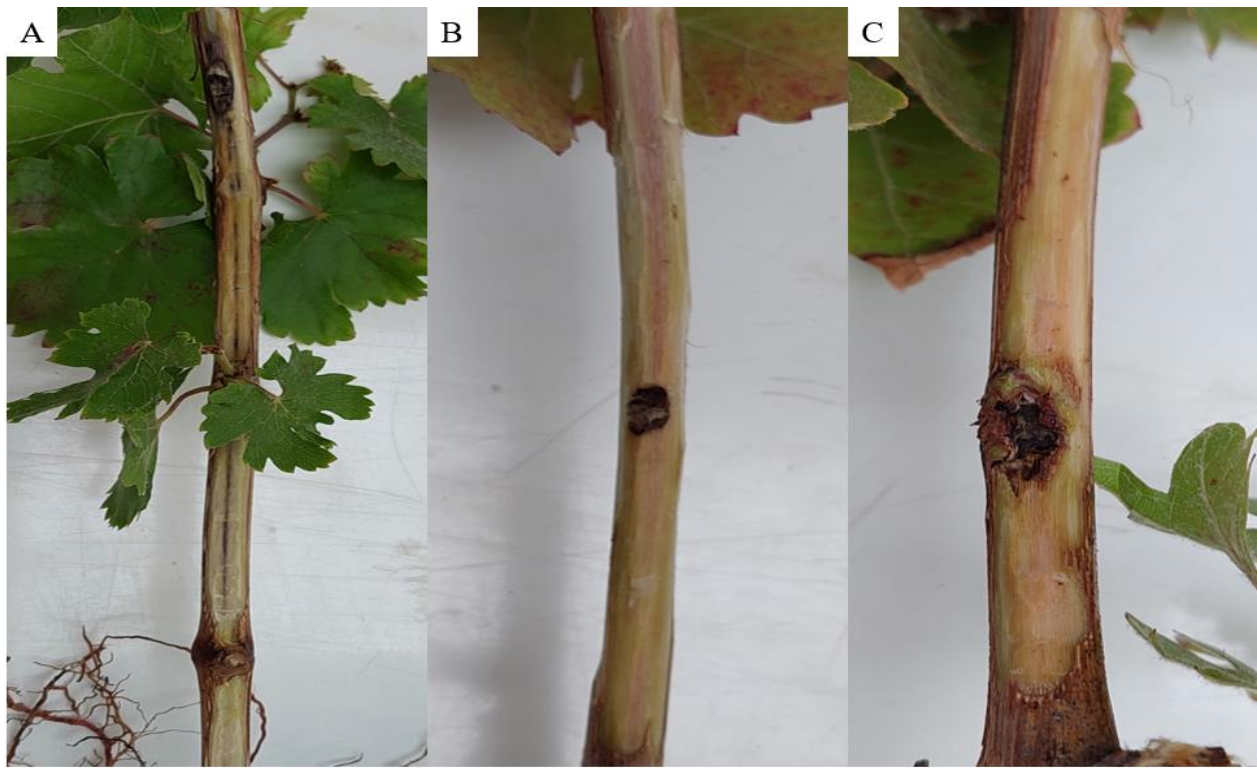


Figura 4.13. Estacas de Aspirant Bouschet inoculadas con aislados NP-9-Nog, DS3-Mz y LT6-Mz, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Aspirant Bouschet inoculado con aislado NP-9-nog, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Aspirant Bouschet inoculada con aislado DS3-Mz, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Aspirant Bouschet inoculada con aislado LT6-Mz, con lesión necrótica longitudinal.

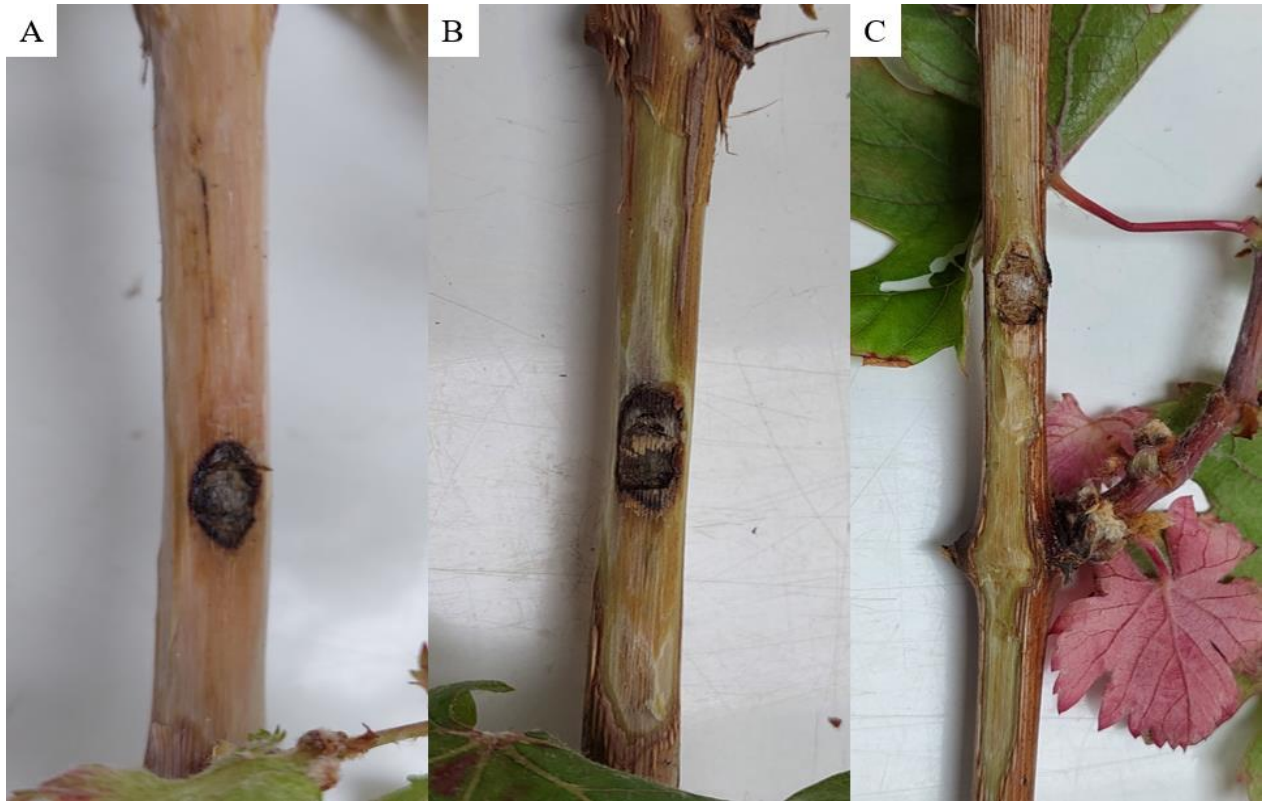


Figura 4.14. Estacas de Aspirant Bouschet inoculadas con aislados DS1-Vid, DM-11-Ara y Dmnog-4, evidenciando necrosis interna luego de 112 días en condiciones de invernadero a un promedio de temperatura de 24.4 °C y 47% HR. (A) estaca de cultivar Aspirant Bouschet inoculado con aislado DS1-Vid, con lesión necrótica longitudinal, (B) estaca de cultivar Aspirant Bouschet inoculada con aislado DM-11-Ara, con lesión necrótica longitudinal, (C) estaca de cultivar Aspirant Bouschet inoculada con aislado Dmnog-4, con lesión necrótica longitudinal.

Cuadro 4.5. Análisis de varianza (ANOVA) para LOG (largo de lesión (mm)) por cada tratamiento de Botryosphaeria en cultivar Aspirant Bouschet.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor -P
Entre grupos	20,7319	12	1,72766	6,86	0,0000
Intra grupos	13,0946	52	0,25182		
Total (Corr.)	33,8265	64			

* Dado a que el Valor-p es menor a 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de largo de lesión (mm), entre un nivel de tratamiento y otro, por lo que al menos uno difiere del resto con un nivel del 95.0% de confianza.

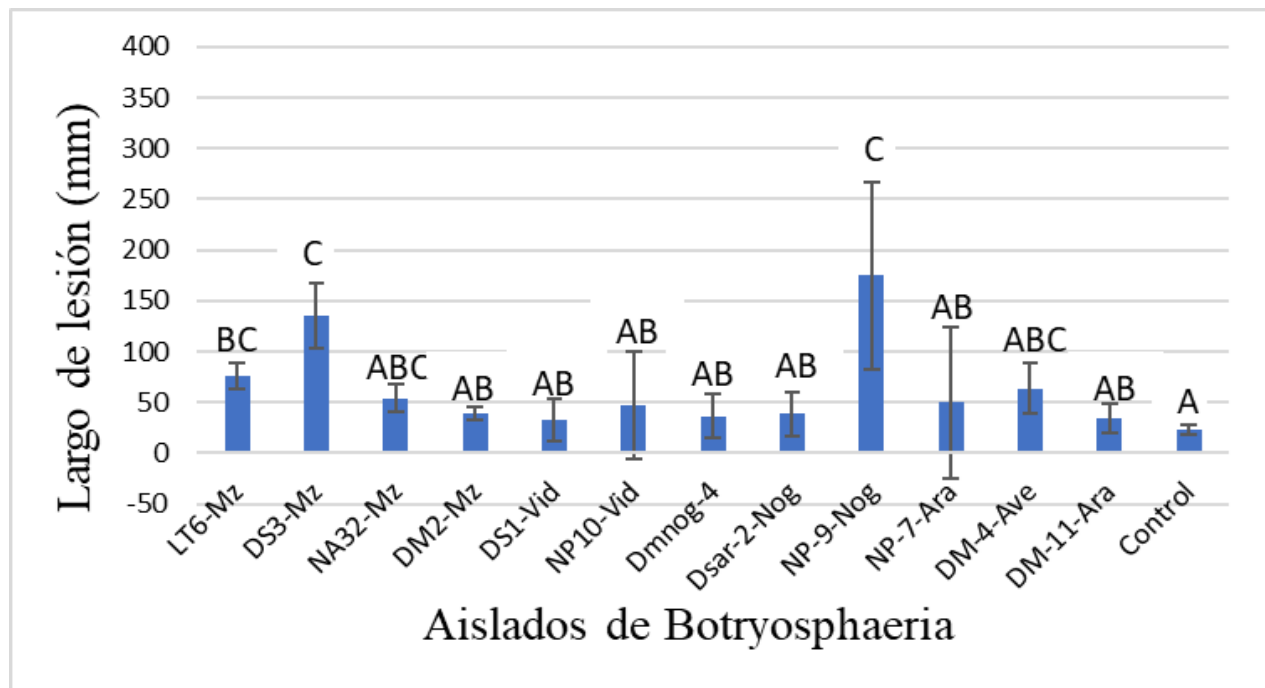


Figura 4.15. Largo de lesión necrótica en estacas de vid cv. Aspirant Bouschet después de 112 días en condiciones de invernadero, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR, inoculadas con doce especies de la familia Botryosphaeriaceae, que fueron aisladas a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva.

4.2 Virulencia promedio de las doce especies de la familia Botryosphaeriaceae

Se demostró que todas las especies inoculadas fueron patogénicas en las estacas de los difentes cultivares de vid, generando lesiones necróticas en la madera bajo condiciones de invernadero (**Figura 4.16**). Al mismo tiempo, se pudo evidenciar que las especies de Botryosphaeria que estadísticamente en promedio causaron lesiones necróticas más largas fueron los aislados NP-9-Nog, NP10-Vid, NP-7-Ara y NA32-Mz, correspondientes a las especies *Neofusicoccum parvum* y *N. arbuti*, aislados desde nogal, vid, arándano y manzano respectivamente, cuales generaron lesiones en promedio de hasta 116 mm. Por otro lado, los aislados que en promedio causaron las lesiones necróticas más cortas fueron LT6-Mz, Dmnog-4, Dsar-2-Nog y DM-4-Ave, correspondientes a las especies *Lasiodiplodia theobromae*, *Diplodia mutila* y *Dothiorella sarmentorum*, aislados desde manzano, nogal y avellano respectivamente.

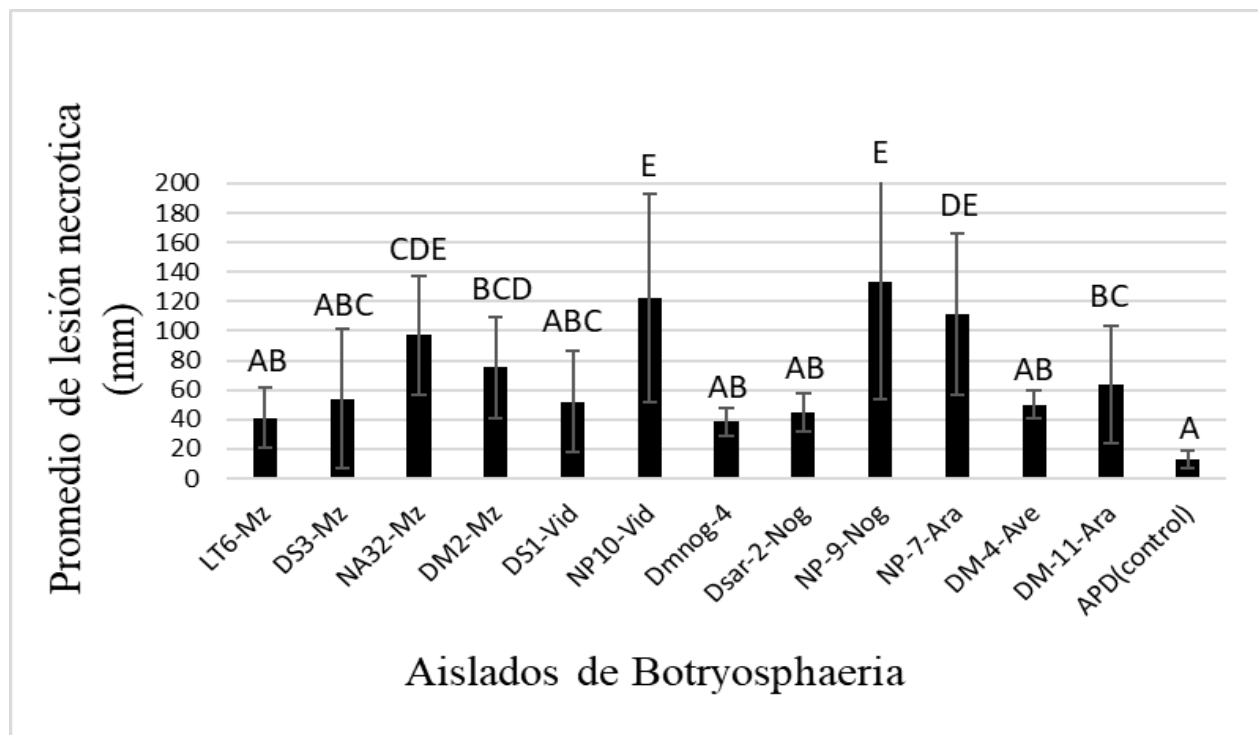


Figura 4.16. Largo de lesión necrótica promedio generado por especies de hongo de la familia Botryosphaeriaceae que fueron aislados a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva. Inoculados en cinco cultivares diferentes de vid, después de 112 días en condiciones de invernadero, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR.

4.3 Susceptibilidad promedio de cada cultivar a los aislados de la familia Botryosphaeriaceae

Se pudo evidenciar la susceptibilidad de los diferentes cultivares de vid hacia las doce especies de la familia Botryosphaeriaceae (**Figura 4.17**). Estadísticamente se ha demostrado que el cultivar Cabernet Sauvignon fue el más susceptible a los aislados de hongos, con lesiones necróticas promedio de casi 100 mm. Por otro lado, el resto de cultivares no presentó diferencias significativas en las medias de los tratamientos.

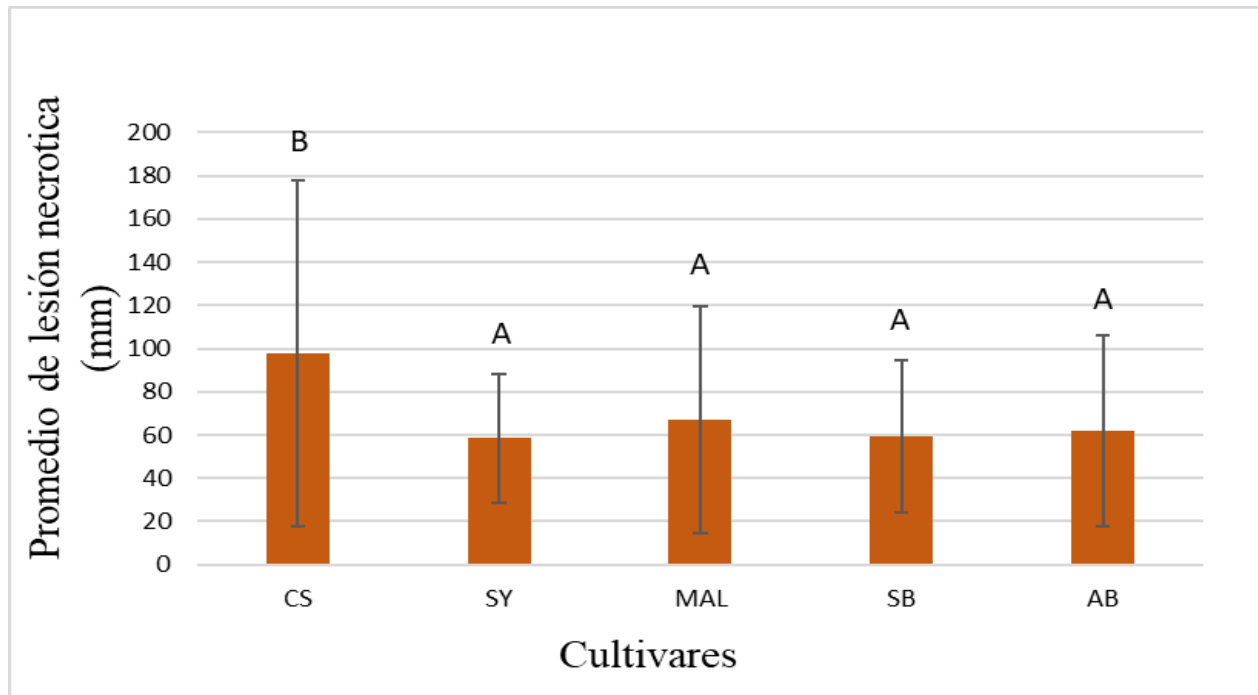


Figura 4.17. Susceptibilidad promedio para cada cultivar de vid; Cabernet Sauvignon (CS), Syrah (SY), Malbec (MAL), Sauvignon Blanc (SB) y Aspirant Bouschet (AB) inoculado con las doce especies de la familia Botryosphaeriaceae que fueron aislados a partir de diferentes hospederos frutales como manzano, nogal, arándano, avellano y vid con síntomas de muerte regresiva. Inoculados en condiciones de invernadero después de 112 días, con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de HR.

4.4 Re-aislamientos a partir de madera necrosada de cultivares inoculados con *Botryosphaeria*

Como se ha mencionado con anterioridad, todos los re-aislamientos cumplieron con los postulados de Koch; basados en análisis de caracteres culturales, demostrando características morfológicas 100% compatibles en el medio APD y confirmado de esta forma a los agentes causales inoculados en un principio correspondientes a las especies específicas de *Botryosphaeria* (Figura 4.18) (Úrbez-Torres et al., 2006).

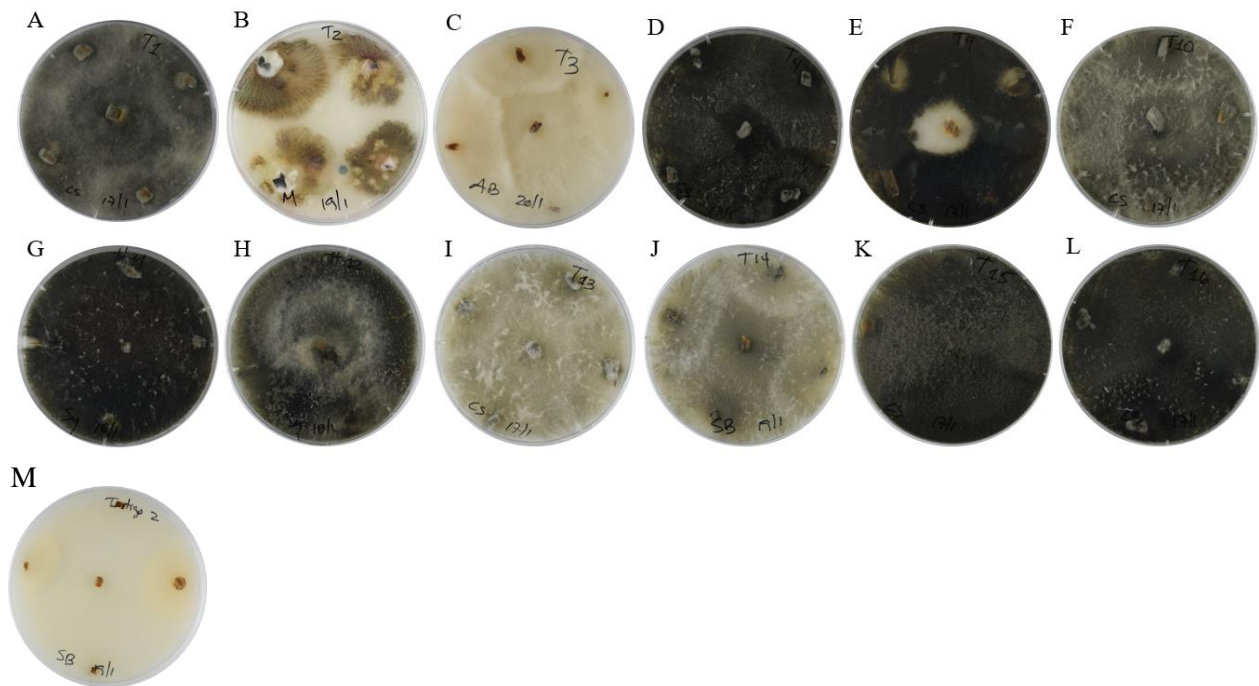


Figura 4.18. Colonias de re-aislados de Botryosphaeriaceae en medio APD al 2% que fueron incubadas durante 10 días a una temperatura de 20 °C con régimen de 12h/12h luz/ oscuridad. (A) *Lasiodiplodia theobromae* (LT6-Mz), (B) *Diplodia seriata* (DS3-Mz), (C) *Neofusicoccum arbuti* (NA32-Mz), (D) *Diplodia mutila* (DM2-Mz), (E) *Diplodia seriata* (DS1-Vid), (F) *Neofusicoccum parvum* (NP10-Vid), (G) *Diplodia mutila* (Dmnog-4), (H) *Dothiorella sarmentorum* (Dsar-2-Nog), (I) *Neofusicoccum parvum* (NP-9-Nog), (J) *Neofusicoccum parvum* (NP-7-Ara), (K) *Diplodia mutila* (DM-11-Ara), (L) *Diplodia mutila* (DM-4-Ave), (M) tratamiento control o testigo de Sauvignon Blanc.

5. DISCUSIÓN.

Numerosos y diversos estudios, tanto nacionales como internacionales, han descrito y reportado a especies de la familia Botryosphaeriaceae generando enfermedades como canchros, síndrome de declinamiento y muerte regresiva de brazos y plantas en una amplia gama de especies vegetales de importancia económica alrededor del mundo, tales como; diferentes árboles y plantas frutales (van Niekerk et al., 2004; Moral et al., 2010; Valencia et al., 2019), especies urbanas (Pelleteret et al., 2017), especies de producción forestal (Suarez, 2016), plantas ornamentales (Zlatković et al., 2016) e incluso arboles nativos (Zapata y Schafer, 2019). Así, en Sud África, España y California se evidenciaron síntomas de canchros y muerte regresiva asociados a Botryosphaeria en plantaciones de olivos (Moral et al., 2010; van Dyk et al., 2021). En Uruguay, se reportó muerte regresiva por especies de la familia Botryosphaeriaceae en pomáceas (Sessa et al., 2016). Zlatković et al. (2016) en los Balcanes Occidentales y Mojeremane et al. (2020) en Sud África, reportaron muerte regresiva y canchros por Botryosphaeria en arboles ornamentales. En Italia, Gusella et al. (2021) reportaron canchros y muerte regresiva asociada a Botryosphaeria en nogales y en la planta ornamental *Brachychiton populneus* o árbol botella. Santiago et al. (2015), en México, identificaron molecularmente a complejos de *Botryosphaeria* sp. asociado a canchros y secamiento de yemas en *Eucalyptus* sp.

En el caso de Chile, Suarez (2016) reportó Botryosphaeria asociada a muerte de ramillas en *Eucalyptus globulus*, en las regiones del Biobío y la Araucanía. También se han reportado especies de Botryosphaeria causando enfermedades en vides, manzanos y kiwis (Díaz et al., 2013; Díaz y Latorre, 2020; Díaz et al., 2021), en paltos (Valencia et al., 2019), nogales (Luna et al., 2022), arándanos (Latorre et al., 2013) y avellanos (Pávez, 2021). Reconocer que las especies de hongos de la familia Botryosphaeriaceae puedan infectar a una variedad tan alta de diferentes plantas y árboles de importancia comercial, tanto en Chile como en el resto del mundo, deja en absoluta claridad el porqué del gran número de investigaciones que se llevan a cabo para ampliar el conocimiento con respecto a esta gran problemática.

En cuanto al presente estudio, las especies de hongos de la familia Botryosphaeriaceae; *Lasiodiplodia theobromae* (LT6-Mz), *Diplodia seriata* (DS3-Mz, DS1-Vid), *D. mutila* (DM2-Mz, DM-4-Ave, DM-11-Ara, Dmnog-4), *Neofusicoccum arbuti* (NA32-Mz), *N. parvum* (NP10-Vid, NP-9-Nog, NP-7-Ara) y *Dothiorella sarmentorum* (Dsar-2-Nog), aislados desde diferentes hospederos frutales (manzano, vid, avellano, arándano y nogal) asociados a muerte regresiva, fueron patogénicos y por tanto, generaron diferentes grados de lesiones necróticas (tanto hacia arriba como hacia abajo a partir del punto de inoculación) estadísticamente significativas en las estacas de los cinco cultivares de vid; Cabernet Sauvignon (CS), Syrah (SY), Malbec (MAL), Sauvignon Blanc (SB) y Aspirant Bouschet (AB) en condiciones de invernadero (112 días), con una temperatura promedio de 24.4 °C y 47% de humedad relativa. Según lo expresado anteriormente, podemos reportar de manera efectiva que los hospederos de origen de los diferentes aislados de hongos de la familia Botryosphaeriaceae no significan una limitante al momento de comportarse como agentes patógenos e infectar y causar lesiones necróticas en estacas de diferentes cultivares de vid en condiciones de invernadero.

Estudios realizados por Mojeramane et al. (2020) en Sudáfrica demostraron que aislados del género *Neofusicoccum*, específicamente las especies; *Neofusicoccum australe* y *N. stellenboschiana* que fueron aislados desde diferentes hospederos (vid, higuera, ciruelo, olivos, manzano y pimiento peruano), fueron patogénicos en vides bajo ensayos realizados a nivel de laboratorio muy similares a las ejecutadas en este estudio. Así mismo, estudios realizados por Cloete et al. (2011), reportaron resultados similares, en donde ensayos dispuestos bajo condiciones de laboratorio como las anteriormente expuestas, evidenciaron que especies de la familia Botryosphaeriaceae como *N. vitifusiforme*, *N. australe*, *Diplodia* sp. y *D. seriata* que fueron aisladas a partir de manzanos y perales con síntomas de muerte regresiva, resultaron ser patogénicos en estacas de vides. La misma situación ocurrió en trabajos realizados en Nueva Zelanda, en donde se inocularon brotes verdes de vid con especies de la familia Botryosphaeriaceae como *Neofusicoccum luteum*, *N. parvum*, *N. australe*, *Diplodia mutila* y *D. seriata* que fueron aislados desde distintos hospederos, tales como; arándano, enebro, sauce, cerezo, roble, limonero, pino, olivo, manzano, ciruelo y vid. Las pruebas de patogenicidad de este estudio demostraron que todos los aislados de hongos a excepción de *D. seriata*, causaron lesiones necróticas en los brotes sin importar el hospedero de origen (Amponsah et al., 2011).

En relación a la virulencia generadas por las especies de la familia Botryosphaeriaceae evaluadas en este estudio, se pudo evidenciar que los aislados que produjeron las heridas más largas correspondieron a especies del género *Neofusicoccum*, específicamente los aislados NP10-Vid, NP-9-Nog, NP-7-Ara y NA32-Mz, sin importar su hospedero de origen (vid, nogal, arándano y manzano respectivamente), cuales en promedio generaron lesiones de 116 mm, llegando a producir lesiones de hasta 253 mm en cv. Cabernet Sauvignon. En concordancia con estos resultados, diversos estudios han descrito que especies del género *Neofusicoccum* han sido las más virulentas, como van Niekerk et al. (2004), Úrbez-Torres & Gubler. (2009), Úrbez-Torres et al. (2009), Cloete et al. (2011) y Amponsah et al. (2011), que reportaron a las especies *N. luteum*, *N. australe* y *N. parvum* como las más virulentas en ensayos de inoculación de brotes verdes y estacas en condiciones de laboratorio o invernadero y en ensayos a nivel de campo. Según Martos et al. (2008), la alta virulencia de este género podría deberse a la gran cantidad de metabolitos fitotóxicos que produce en comparación con especies de otros géneros como *D. seriata* que ha sido reportada en diferentes lugares del mundo como poco agresiva, produciendo las lesiones más cortas (Taylor et al., 2005; Úrbez-Torres et al., 2006; Ramirez et al., 2018). En el caso de este estudio, los aislados de *D. seriata* (DS3-Mz, DS1-Vid) generaron lesiones medias, con un promedio de 53 mm, produciendo lesiones más largas en cv. Aspirant Bouschet, llegando a los 134 mm y lesiones cortas en Syrah y Malbec, llegando a 20 mm. Por otro lado, los aislados menos virulentos o que produjeron las lesiones más cortas, fueron *Diplodia mutila* aislado desde nogal (Dmnog-4), *Lasiodiplodia theobromae* (LT6-Mz) y *Dothiorella sarmentorum* (Dsar-2-Nog), con promedios de lesión de 38.4 mm, 41.2 mm y 44.3 mm respectivamente. Si bien, en diversos estudios se ha reportado a *L. theobromae* como una especie de alta virulencia en ensayos realizados sobre brotes o estacas en la planta a nivel de campo (Carlucci et al., 2015; van Niekerk et al., 2004; Úrbez-Torres & Gubler, 2009; Pitt et al., 2013), por otro lado, se ha evidenciado que en ensayos *in vitro* se ha comportado como una de las especies menos virulentas (van Nieker et al., 2004). Esto podría deberse a las diferencias en condiciones medio ambientales que afectan el desarrollo de la enfermedad, pues según Dissanayake et al. (2016), esta especie corresponde a un clima subtropical a tropical.

En cuanto a la susceptibilidad de los cinco cultivares de vid evaluados; Cabernet Sauvignon, Syrah, Malbec, Sauvignon Blanc y Aspirant Bouschet, según la prueba de múltiples rangos de Tukey (95% confianza), el cultivar más susceptible resultó ser Cabernet Sauvignon, con un promedio de largo de lesión de 97 mm, mientras que el resto de cultivares no presentó diferencias significativas en las medias de los tratamientos. Estudios realizados en Nueva Zelanda por Amponsah et al. (2011) en donde se evaluó la virulencia de distintos aislados de la familia Botryosphaeriaceae en cinco diferentes cultivares de vid; Cabernet Sauvignon, Pinot Noir, Sauvignon Blanc, Riesling y Chardonnay, en donde como resultado, no hubo diferencias significativas en las medias de los tratamientos, por lo que todos los cultivares resultaron igual de susceptibles a los agentes fitopatógenos, específicamente a *Nefusicoccum luteum*, *N. parvum*, *N. australe* y *Diplodia mutila*. Por otro lado, según estudios realizados por Ramírez et al. (2018), en Chile, en donde se evaluó la virulencia de *Diplodia mutila* y *D. seriata* en diferentes cultivares de vid; Cabernet Franc, Sauvignon Blanc, Syrah, Merlot y Malbec, en primera instancia, se reportó que *D. mutila* fue significativamente más virulento en todos los cultivares en comparación con *D. seriata*, además los cultivares más susceptibles fueron Cabernet Franc y Syrah, mientras que los menos susceptibles fueron Malbec y Merlot. En contraste con lo anterior, trabajos realizados en Nueva Zelanda por Billones-Baaijens et al. (2014), quienes evaluaron la virulencia de *Nefusicoccum luteum*, *N. parvum*, *N. australe* (Botryosphaeria más comunes en este país) sobre los portainjertos y cultivares comerciales más utilizados en el país, en donde se reportó que los seis portainjertos y los seis cultivares evaluados fueron susceptibles a los aislados de hongos; los portainjertos 5C y SO4 fueron los que tuvieron las lesiones más largas y a diferencia de los estudios antes mencionados, Merlot y Pinot Noir fueron los cultivares con las lesiones más largas. Un factor fundamental que podría explicar las diferencias en susceptibilidad de los distintos cultivares o portainjertos de vid, es la variabilidad en diámetro o grosor de los haces vasculares de cada uno, así se reportó por estudios de Pouzoulet et al. (2014), que realizaron comparaciones de susceptibilidad basadas en este concepto sobre cultivares de Malbec, Merlot, Cabernet Sauvignon y Thompson Seedless a enfermedades de la madera asociadas a Esca y Botryosphaeria, obteniendo como resultados que la menor susceptibilidad de ciertos cultivares como Malbec o Merlot, estaría relacionado al menor diámetro de sus haces vasculares, en comparación con Thompson Seedless, que presentó lesiones más largas, teniendo haces vasculares de mayor diámetro. Otro factor relevante que viene de la mano con el anterior, es el hecho de que las dimensiones de los haces

vasculares xilemáticos son capaces de cambiar su forma en función de la disponibilidad de agua, por lo que las diferencias en el régimen hídrico que generan cambios a niveles vasculares podría ser una explicación de la variabilidad sintomática en vid (Pouzoulet et al., 2014).

Este estudio aporta como uno más reportando a especies de la familia Botryosphaeriaceae aislados a partir de diferentes hospederos (manzano, nogal, arándano, avellano) siendo patogénicas y virulentas en vides, por lo tanto se ratifica aún más la importancia del conocimiento de las características epidemiológicas de las especies de esta familia, aun más sabiendo que en Chile y en otras partes del mundo como Sud África, España o California se suelen cultivar especies potencialmente susceptibles en áreas cercanas, pudiendo actuar como fuentes de inóculo (Díaz y Latorre, 2020). Al mismo tiempo, como bien sabemos, hasta la fecha no existen productos curativos para estas enfermedades, solo preventivos, por lo que será de vital importancia llevar a cabo planes de manejo integrado, enfocándose en primera instancia en prácticas culturales, como el óptimo manejo de las posibles fuentes de inóculo, ya sean frutos podridos, malezas que podrían actuar como hospederos y principalmente restos de poda, retirándolos inmediatamente para quemarlos, o bien, picar todo para integrarlo posteriormente como enmienda orgánica al suelo. Además, las aplicaciones de pasta podan inmediatamente después de realizar estas labores serán esenciales, ya sean de origen químico (tebuconazole, mancozeb, fluazinam) o biológico (trichodermas, bacillus) nos ayudarán a prevenir la infección de las plantas, pues varios estudios han validado la eficacia de estos productos en orden de prevenir estas enfermedades (Sosnowski et al., 2019; Silva-Valderrama et al., 2020).

Considerando los diversos estudios descritos y analizados, sumados a la actual investigación, evidenciamos la importancia de las especies de Botryosphaeriaceae causantes de enfermedades de la madera y se torna fundamental ampliar el conocimiento con respecto a esta familia, con el fin de desarrollar limitantes que logren mermar los daños producidos, ya sea mediante el desarrollo de nuevos productos químicos o biológicos de caracteres preventivos y curativos, o bien, la obtención de nuevos cultivares con menor susceptibilidad a estos hongos.

6. CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos a partir de este estudio podemos concluir que:

1. Se acepta la hipótesis planteada, dado que todas las especies de la familia Botryosphaeriaceae evaluadas que fueron aisladas desde diferentes hospederos frutales, fueron patogénicas y virulentas en estacas de vid, siendo *Neofusicoccum* los aislados más virulentos, causando las lesiones más largas, sin importar su origen.

2. Cabernet Sauvignon resulto ser el cultivar de mayor susceptibilidad hacia los aislados inoculados de la familia Botryosphaeriaceae.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Auger, J., M. Esterio, G. Ricke, and I. Pérez. (2004) a. Black dead arm & basal canker of *Vitis vinifera* cv. Red Globe caused by *Botryosphaeria obtusa* in Chile. *Plant Dis.* 88:1286-1286.
- Auger, J., I. Pérez, M. Esterio, W.D. Gubler, & A. Eskalen. (2004) b. First report of *Phaeomoniella chlamydospora* on *Vitis vinifera* and French American hybrids in Chile. *Plant Dis.* 88:1285- 1285.
- Bertsch, C., Ramirez-Suero, M., Magnin-Robert, M., Larignon, P., Chong, J., AbouMansour, E., Spagnolo, A., Clement, C., & Fontaine, F. (2013). Grapevine trunk ´ diseases: complex and still poorly understood. *Plant Pathol.* 62:243-265.
- Billones-Baaijens, R., Jones, E. E., Ridgway, H. J., & Jaspers, M. V. (2014). Susceptibility of common rootstock and scion varieties of grapevines to *Botryosphaeriaceae* species. *Australasian Plant Pathology: APP*, 43(1), 25–31. <https://doi.org/10.1007/s13313-013-0228-9>
- Carlucci, A., & Frisullo, S. (2009). First report of *Diplodia corticola* on grapevines in Italy. *J. Plant Pathol.* 91:233.
- Carlucci, A., Lops, F., Raimondo, M. L., Gentile, V., Mucci, M., & Frisullo, S. (2009). The *Botryosphaeria* species from vineyards of Apulia. *Phytopathol. Mediterr.* 48:180
- Carlucci, A., Cibelli, F., Lops, F., & Raimondo, M. L. (2015). Characterization of *Botryosphaeriaceae* species as causal agents of trunk diseases on grapevines. *Plant Dis.* 99:1678-1688.

- Catania, C., & Avagnina, S. (2007). Malbec. Curso superior de Degustación de Vinos. INTA. Mendoza. Argentina. 11 p. Recuperado desde: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-20_malbec.pdf consultado el 17 de febrero del 2023.
- Castillo-Pando, M., Somers, A., Green, C. D., Priest, M., and Sriskanthades, M. 2001. Fungi associated with dieback of Semillon grapevines in the Hunter Valley of New South Wales. Aust. Plant Pathol. 30:59-63.
- Christenhusz, M., Fay, M & Chase, M. (2017). Plants of the World: an illustrated encyclopedia of vascular plants. Royal Botanical Kew/ Univ. Chicago Press. China. 816 pp.
- Chomé, P., et al. (2006). Variedades de vid. Registro de variedades comerciales. Coordinador: Chomé, P.M. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Recuperado de: <https://www.mapa.gob.es/app/MaterialVegetal/fichaMaterialVegetal.aspx?idFicha=486>
- Cloete, M., Fouri, P., Damm, U., Crous, P.W., & Mostert, L. (2011). Fungi associated with die-back symptoms of apple and pear trees, a possible inoculum source of grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathologia mediterranea* 50:176–190.
- Cortesi, P., Fischer, M., & Milgroom M. (2000). Identification and spread of *Fomitiporia punctata* associated with wood decay of grapevine showing symptoms of esca. *Phytopathology* **90**, 967– 72.
- Crous, PW., Slippers, B., Wingfield, MJ et al., (2006). Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. *Studies in Mycology* **55**, 235– 53.
- Crous, P., Slippers, B., Groenewald, J., & Wingfield, M. (2017). Botryosphaeriaceae: Systematics, pathology, and genetics. *Fungal Biology* 121(4), 305-306.

- Denman S, Crous PW, Taylor JE, et al. (2000). An overview of the taxonomic history of *Botryosphaeria* and a re-evaluation of its anamorphs based on morphology and ITS rDNA phylogeny. *Studies in Mycology* 45: 129–140.
- De la Fuente, M. (2021). Análisis de exportaciones de uva de mesa negra Inia-grape-one (Maylen®). Santiago, Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA.
- Díaz, G., Auger, J., Besoain, X., Bordeu, E., & Latorre, B. (2013). Prevalence and pathogenicity of fungi associated with grapevine trunk diseases in Chilean vineyards. *Cien. Inv. Agr.* 40(2): 327-339
- Díaz, G & Latorre, B. (2020). Cancrosis y muerte regresiva en manzanos: etiología y aspectos epidemiológicos en Chile. *Revista Frutícola* 43(3): 30-36.
- Díaz, G., Zoffoli, J., Ferrada, E., & 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., Lolas, M., and Latorre, B. A. 2022. Characterization and Pathogenicity of *Diplodia*, *Lasiodiplodia*, and *Neofusicoccum* Species Causing *Botryosphaeria* Canker and Dieback of Apple Trees in Central Chile. *Plant Disease* 106(3), 925–937.
- Dissanayake, A. J., Phillips, A. J. L., Li, X. H., & Hyde, K. D. (2016). *Botryosphaeriaceae*: Current status of genera and species. *Mycosphere*, 7(7), 1001–1073. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/si/1b/13>
- Eland, Y. & Pertot, I. (2014). Climate change impacts on plant pathogens and plant diseases. *J. Crop Improv.* 28(1):99-139. Doi: 10.1080/15427528.2014.865412.

- Eskalen, A., & Gubler, W.D., (2001). Association of spores of *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium inflatipes*, and *Pm. aleophilum* with grapevine cordons in California. *Phytopathol. Mediterr* 405, 429-432. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-1613.

- Fischer, M. (2006). Biodiversity and geographic distribution of basidiomycetes causing esca-associated white rot in grapevine: a worldwide perspective. *Phytopathol. Mediterr.* 45: S30-S42.

- Gil, G. & Ph. Pszczółkowski. (2015). *Viticultura, fundamentos para optimizar producción y calidad*. 2da edición, ampliada y actualizada. Santiago, Ediciones Universidad Católica de Chile.

- Giménez-Jaime, A., Aroca, A., Raposo, R., García-Jiménez, J., & Armengol, J. (2006). Occurrence of fungal pathogens associated with grapevine nurseries and the decline of young vines in Spain. *Journal of Phytopathology* 154, 598-602.

- Gramaje, D., & Armengol, J. (2011). Fungal trunk pathogens in the grapevine propagation process: potential inoculum sources, detection, identification, and management strategies. *Plant disease* 95, 1040-55.

- Gramaje, D., Urbez-Torres, J. R., & Sosnowski, M. R. (2018). Managing grapevine trunk diseases with respect to etiology and epidemiology: Current strategies and future prospects. *Plant Disease*, 102(1), 12–39. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-17-0512-FE>

- Gubler, W., Rolshausen, P, Trouillas, F, Úrbez-Torres, J., Voegel, T., & Weber E. (2005). Grapevine trunk diseases in California. *Practical Winery Vineyard* (Jan/Feb): 6-25.

- Gusella, G., Giambra, S., Conigliaro, G., Burrmano, S., & Polizzi, G. (2021). Botryosphaeriaceae species causing canker and dieback of English walnut (*Juglans regia*) in Italy. *Forest Pathology*, 51(1). <https://doi.org/10.1111/efp.12661>
- Hallen, F., Crous, P., & Petrini, O. (2003). Fungi associated with healthy gapevine cuttings in nurseries, with special reference to pathogens involved in the decline of young vines. *Australasian Plant Pathology* 32, 47-52.
- Hillis V., Lubell M., Kaplan J., Doll D., Baumgartner K., (2016). The role of pest control advisers in preventative management of grapevine trunk diseases. *Phytopathology* 106: 339–347
- Informe de Variedad: Aspirant Bouschet. (2018). Instituto Nacional de Viticultura. Argentina.gob.ar. <https://www.argentina.gob.ar/noticias/informe-de-variedad-aspirant-bouschet>
- Informe de Variedad: Merlot. (2018). Instituto Nacional de Viticultura. Argentina.gob.ar. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/merlot_2017.pdf
- Informe de Variedad: Malbec. (2021). Instituto Nacional de Viticultura. Argentina.gob.ar. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2018/10/malbec_2021_final.pdf
- Ipinza, A. (2021). Boletín del vino. ODEPA | Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. <https://www.odepa.gob.cl/publicaciones/boletines/boletin-del-vino-diciembre-2021>
- Kaplan, J., Travadon, R., Cooper, M., Hillis, V., Lubell, M., & Baumgartner, K., (2016). Identifying economic hurdles to early adoption of preventative practices: the case of trunk diseases in California winegrape vineyards. *Wine Econ. Pol.* 5, 127-141. <https://doi.org/10.1016/j.wep.2016.11.001>.

- Kuntzmann, P., Villaume, S., & Bestch, C. (2009). Conidia dispersal of *Diplodia* species in a French vineyard. *Phytopathologia Mediterranea* 48, 150-4
- Labadie, J. (2005). Evaluación técnico-economica de plantación de 27 hectareas de viñedos en la localidad de San Francisco de Mostazal, VI regio Libertador Bernardo O'Higgins. Santiago, Chile, Facultad de Ciencias Silvoagropecuarias, Universidad Mayor.
- Larach, A., Torres, C., Riquelme, N., Valenzuela, M., Salgado, E., Seeger, M., & Canales, X. A. B. (2020). Yield loss estimation and pathogen identification from *Botryosphaeria* dieback in vineyards of Central Chile over two growing seasons. *Phytopathologia Mediterranea*, 59(3), 537–548. <https://doi.org/10.14601/Phyto-11235>
- Larignon, Philippe & Dubos, B. (1997). Fungi associated with Esca disease in grapevine. *European Journal of Plant Pathology*. 103. 147-157. 10.1023/A:1008638409410.
- Larignon P. & B. Dubos, (2001). The villainy of Black Dead Arm. *Wines & Vines* 82, 86–89.
- Larignon, P., Dame, G., Menard, E., Desache, F., & Dubos, B., (2008). cómo actúa arsenito de sodio en esca en la vid prog. *agricola vítico* 125, 642-651.
- Larignon, P., Fontaine, F., Farine, S., Clément, C., & Bertsch, C. (2009). Esca y brazo muerto negro: dos grandes actores en las enfermedades del tronco de la vid. *Informes de la Academia de Ciencias III-Vie* 333, 765– 83.
- Latorre, Bernardo A, Torres, René, Silva, Tatiane, & Elfar, Karina. (2013). Evaluation of the use of wound-protectant fungicides and biological control agents against stem canker

(*Neofusicoccum parvum*) of blueberry. *Ciencia e investigación agraria*, 40(3), 547-557. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202013000300007>

- Leavitt G., (2003). The occurrence, distribution, effects and control of *Botryodiplodia theobromae* on *Vitis vinifera* in California, Arizona and Northern Mexico. *Phytopathologia Mediterranea* 43, 155 (abstract).
- Luna, J., Besoain, X., Saa, S., Peach, E., Morales, C., Riquelme, N., & Rolshausen, P. (2022). Identity and pathogenicity of *Botryosphaeriaceae* and *Diaporthaceae* from *Junglans regia* in Chile. *Phytopathologia Mediterranea* 61(1): 79-94.
- Martin, M. T., & Cobos, R. (2007). Identification of fungi associated with grapevine decline in Castilla y León (Spain). *Phytopathol. Mediterr.* 46:18-25
- Martos, S., Andolfi, A., Luque, J., Mugnai, L., Surico, G., & Evidente, A. (2008). Production of phytotoxic metabolites by five species of *Botryosphaeriaceae* causing decline on grapevines, with special interest in the species *Neofusicoccum luteum* and *N. parvum*. *European Journal of Plant Pathology*, 121, 451–461.
- Maturana, V. (2012). Cultivar Syrah. Recuperado desde: <http://agro-start.blogspot.com/2011/12/cultivar-syrah.html>
- Matus, M., & Rodríguez, J. (1998). Caracterización Ampelográfica de la Variedad Syrah, cultivada en Mendoza Argentina según el método de la OIV. *Variedades de Vid Cultivadas en Mendoza, Argentina*. Tomo XXIX N° 2, 1997.
- Mehl, J., Slippers, B., Roux, J., & Wingfield, M. (2017) Overlap of latent pathogens in the *Botryosphaeriaceae* on a native and agricultural host. *Fungal Biology* 121(4):405-419.
- Mena, C., & Moreno, Y. (2013). *Geomática en la Vitivinicultura*. Universidad de Talca.

- Minnis A, Kennedy A, Grenier D, et al. (2012). Phylogeny and taxonomic revision of the Planistromellaceae including its coelomycetous anamorphs: contributions towards a monograph of the genus *Kellermania*. *Persoonia* 29: 11–28
- Mohali S, Slippers B, Wingfield MJ. (2007). Identification of Botryosphaeriaceae from Eucalyptus, Acacia and Pinus in Venezuela. *Fungal Diversity* 25: 103–125.
- Mojeremane, K., Lebenya, P., du Plessis, I., van der Rijst, M., Mostert, L., Armengol, J., & Halleen, F. (2020). Cross pathogenicity of *Neofusicoccum australe* and *Neofusicoccum stellenboschiana* on grapevine and selected fruit and ornamental trees. *Phytopathologia Mediterranea* 59(3): 581-593. doi: 10.14601/Phyto-11609
- Mondello, V., Spagnolo, A., Larignon, P., Clement, C., & Fontaine, F., (2019). Phytoprotection potential of *Fusarium proliiferatum* for control of *Botryosphaeria dieback* pathogens in grapevine. *Phytopathol. Mediterr.* 58, 293-306. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-10617.
- Mondragón-Flores, A., Rodríguez-Alvarado, G., Gómez-Dorantes, N., Guerra-Santos, J & Fernández-Pavía, S. (2021). Botryosphaeriaceae: una familia de hongos, compleja, diversa y cosmopolita. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(4), 643-654. Epub 21 de febrero de 2022. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i4.2620>
- Morales, A., Latorre, B.A., Piontelli, E., & Besoain. X. (2012). Botryosphaeriaceae species affecting table grape vineyards in Chile and cultivar susceptibility. *Cien. Inv. Agr.* 39(3): 445-458.
- Moral, J., Muñoz-Díez, C., González, N., Trapero, A., & Michailides, T. J. (2010). Characterization and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species collected from olive and other hosts in Spain and California. *Phytopathology* 100:1340-1351.

- Moreno, Y., & Vallarino, J. (2011). Manual de consulta de Cultivares & Portainjertos de Vides para Vinificación. Talca: Universidad de Talca.
- Mugnai, L., Graniti, A., & Surico, G., (1999). Esca (black measles) and brown wood streaking: two old and elusive diseases of grapevines. *Plant Disease* 83, 404– 17.
- Mugnai, L. (2011). Editor's note and dedication. *Phytopathol. Mediterr.* 50s: S3-S4
- Müller, K. (2004). Chile vitivinícola en pocas palabras. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Agroindustria y Enología. Santiago, Chile. 8 p.
- Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). (2022). Boletín del Vino, avance febrero del 2022. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en: <<http://www.odepa.gob.cl>>. Consultado el 12 de diciembre del 2022.
- Organización internacional de la viña y el vino. (2017). Distribución mundial de variedades de vid. Recuperado desde: <https://www.oiv.int/public/medias/5888/en-distribution-of-the-worlds-grapevine-varieties.pdf>
- Organización internacional de la viña y el vino. (2022). Actualidad de la coyuntura del sector vitivinícola mundial en 2021. ABRIL DE 2022. Recuperado desde: <https://www.oiv.int/public/medias/8780/es-state-of-the-world-vine-and-wine-sector-abril-2022.pdf>
- Ortiz, M. (2022). Perú supera a Chile y se convierte en primer exportador mundial de uva de mesa. Red agrícola Perú. <https://www.redagricola.com/pe/peru-supera-a-chile-y-se-convierte-en-primer-exportador-mundial-de-uva-de-mesa/>
- Pávez, F. (2021). Eficacia de fungicidas comerciales en la protección de heridas de poda en avellano contra infecciones asociadas a *Neofusicoccum parvum*. Talca, Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. 39p.

- Pelleteret, P., Crovadore, J., Cochard, B., Pasche, S., Bovigny, P.-Y., Chablais, R., & Lefort, F. (2017). Urban London plane tree dieback linked to fungi in the Botryosphaeriaceae. *Urban Forestry & Urban Greening*, 22, 74–83. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2017.01.014>
- Pérez, G. (2004). Cultivos y prácticas agrarias. In: Rodríguez, A. (ed.) El edificio protohistórico de “La Mata” (Campanario, Badajoz) y su estudio territorial, 1: 385-422.
- Phillips, A. J. L. 1998. Botryosphaeria dothidea and other fungi associated with excoriose and dieback of grapevines in Portugal. *J. Phytophatol.* 146:327-332.
- Phillips A.J.L., (2002). Botryosphaeria species associated with diseases of grapevines in Portugal. *Phytopathologia Mediterranea* 41, 3–18.
- Phillips, A. J. L., Alves, A., Abdollahzadeh, J., Slippers, B., Wingfield, M. J., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2013). The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Studies in Mycology*, 76(1), 51–167. <https://doi.org/10.3114/sim002>
- Phillips AJL, Hyde KD, Alves A, et al. (2019). Families in Botryosphaeriales: a phylogenetic, morphological and evolutionary perspective. *Fungal Diversity* 94: 1–22.
- Pitt W. M., Huang R., Steel C.C., & Savocchia S. (2010). Identification, distribution and current taxonomy of Botryosphaeriaceae species associated with grapevine decline in New South Wales and South Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16: 258–271
- Pitt, W., Huang, R., Steel, C. & Savocchia, S. (2013). Pathogenicity and epidemiology of Botryosphaeriaceae species isolated from grapevine in Australia. *Australasian Plant Pathology* 42:573-582

- Pouzoulet, J., Pivovarov, A. L., Santiago, L. S., & Rolshausen, P. E. (2014). Can vessel dimension explain tolerance toward fungal vascular wilt diseases in woody plants? Lessons from Dutch elm disease and esca disease in grapevine. *Frontiers in Plant Science*, 5, 253. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00253>
- Pszczólkowski, P. (2016). La Côte o Malbec en Chile y Argentina. <https://www.redalyc.org/journal/4695/469546448005/html/>
- Ramírez, M., Pérez, L., & Montealegre, J. (2018). Susceptibility of different grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars to *Diplodia seriata* and *Diplodia mutila*. *Ciencia E Investigacion Agraria*, 45(1), 93-98. <https://doi.org/10.7764/rcia.v45i1.1818>
- Reynier, A. (2012). *Manual de Viticultura*. Sexta Edición. Madrid, España: Mundi Prensa.
- Rodríguez-Gálvez, E., Hilário, S., López, A., & Alves, A. (2020). Diversity and pathogenicity of *Lasiodiplodia* and *Neopestalotipsis* species associated with stem blight and dieback of blueberry plants in Peru. *European Journal of Plant Pathology* 157 (1): 89-102.
- Rolshausen, P., N.E. Mahoney, R.J. Molyneux, & W.D. Gubler. (2006). A reassessment of the species concept in *Eutypa lata*, the causal agent of eutypa dieback of grapevine. *Phytopathology* 96:369-377.
- SAG. (2021). Catastro Vitivinícola. Recuperado el 20 de febrero de 2023, de Servicio Agrícola y Ganadero: <https://www.sag.gob.cl/noticias/sag-presenta-catastro-viticola-nacional-2021>
- Santiago, G., Valadez, E., & Cibrián, D. (2015). Identificación molecular del complejo *Botryosphaeria* sp. asociado a canchales y secamiento de yemas en *Eucalyptus* sp. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 6(32), 93–106. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322015000600093

- Sessa, L., Abreo, E., Bettucci, L. & Lupo, S. (2016). Botryosphaeriaceae species associated with wood diseases of stone and pome fruits trees: symptoms and virulence across different hosts in Uruguay. *Eur. J. Plant Pathol.* 146:519– 530.
- Siebert J.B., 2001. Eutypa: the economic toll on vineyards. *Wines & Vines* 4, 50–56
- Silva-Valderrama, I., Toapanta, D., Miccono, M. de L. A., Lolas, M., Díaz, G. A., Cantu, D., & Castro, A. (2020). Biocontrol potential of grapevine endophytic and rhizospheric fungi against trunk pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 11, 614620. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.614620>
- Siri, F. & Pszczolkowski, P. (1996). Una interesante oportunidad para Chile: la variedad Syrah. *Chile Agrícola*, Vol. 21, N ° 219. p 358-363.
- Slippers, B., & Wingfield, MJ. (2007). Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. *Fungal Biology Reviews* 21, 90– 106.
- Slippers B, Boissin E, Phillips AJ, et al. (2013). Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriales: a systematic and evolutionary framework. *Studies in Mycology* 76: 31–49.
- Slippers, B., Crous, P. W., Jami F., Groenewald, J. Z. & Wingfield, M. J. (2017). Diversity in the botryosphaeriales: looking back, looking forward. *Fungal Biol.* 121(4):307-321. Doi: 10.1016/j.funbio.2017.02.002.
- Slippers, B., Crous, P. W., Jami F., Groenewald, J. Z. & Wingfield, M. J. (2017). Diversity in the botryosphaeriales: looking back, looking forward. *Fungal Biol.* 121(4):307-321. Doi: 10.1016/j.funbio.2017.02.002

- Sosnowski, M., & McCarthy, G., (2017). Economic impact of grapevine trunk disease management in Sauvignon Blanc vineyards of New Zealand. *Wine Vitic. J.* 32, 42-48.
- Sosnowski, M. R., & Mundy, D. C. (2019). Pruning wound protection strategies for simultaneous control of *Eutypa* and *Botryosphaeria* dieback in New Zealand. *Plant Disease*, 103(3), 519–525. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0728-RE>
- Stevens, N & Shear, C. (1929). *Botryosphaeria* and *Physalospora* in the Hawaiian Islands. *Mycologia* 21: 313–320.
- Suarez, G. (2016). *Botryosphaeriaceae* asociadas a la muerte de ramas en plantaciones de *Eucalyptus globulus* Labill. en la región del Biobío y de La Araucanía (Chile). Concepción, Chile, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Concepción. 76p.
- Taylor, A., G.E. St.J. Hardy, P. Wood & T. Burgess, (2005). Identification and pathogenicity of *Botryosphaeria* species associated with grapevine decline in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 34, 187–195.
- Úrbez-Torres, J. R., Leavitt, G. M., Voegel, T. M., & Gubler, W. D. (2006). Identification and distribution of *Botryosphaeria* spp. associated with grapevine cankers in California. *Plant Disease*, 90(12), 1490–1503. <https://doi.org/10.1094/PD-90-1490>
- Úrbez-Torres, J. R. (2011). The status of *Botryosphaeriaceae* species infecting grapevines. *Phytopathol. Mediterr.* 50: S5-S45.
- Úrbez-Torres, J., & Gubler, W. (2009). Pathogenicity of *Botryosphaeria* species isolated from grapevine cankers in California. *Plant disease* 93, 584-92.

- Úrbez-Torres, J., Leavitt, G., Guerrero, J., Guevara, J., & Gubler, W. (2008). Identification and pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Diplodia seriata*, the causal agents of bot canker disease of grapevines in Mexico. *Plant disease*. 92:519-529.
- Valencia, A., Gil, P., Latorre, B., & Rosales, M. (2019). Characterization and Pathogenicity of Botryosphaeriaceae Species Obtained from Avocado Trees with Branch Canker and Dieback and from Avocado Fruit with Stem End Rot in Chile. *Plant disease*. 103:996-1005.
- van Dyk, M., Spies, C. F. J., Mostert, L., van der Rijst, M., du Plessis, I. L., Moyo, P., van Jaarsveld, W. J., & Halleen, F. (2021). Pathogenicity testing of fungal isolates associated with Olive trunk diseases in South Africa. *Plant Disease*, 105(12), 4060–4073. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1837-RE>
- van Niekerk, J., Crous, P., Groenewald, J., Fourie, P., & F, Halleen. (2004). DNA phylogeny, morphology and pathogenicity of *Botryosphaeria* species on grapevines. *Mycologia* 96, 781–798.
- van Niekerk, J., Fourie, P. H., Halleen, F., & Crous, P. W. (2006). *Botryosphaeria* spp. as grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, 45, S43-S54.
- van Niekerk, J., Frikkie, J., Hallen, F., & Fourie, P. (2010). Temporal spore dispersal patterns of grapevine trunk pathogens in South Africa. *European journal of plant pathology* 127, 375-90
- Wan, Y., Schwaninger, H.R., Baldo, A.M., Labate, J.A., Zhong, G.Y. & Simon, C.J. (2013). A phylogenetic analysis of the grape genus (*Vitis* L.) reveals broad reticulation and concurrent diversification during neogene and quaternary climate change. *BMC Evolutionary Biology*, 13: 141 ([http:// www.biomedcentral.com/1471-2148/13/141](http://www.biomedcentral.com/1471-2148/13/141))

- White, C. L., F. Halleen, & L. Mostert. (2011) b. Symptoms and fungi associated with esca in South African vineyards. *Phytopathol. Medirerr.* 50: S236-S246.
- Wikee, S., Lombard, L., Nakashima, C., et al. (2013). A phylogenetic re-evaluation of *Phyllosticta* (Botryosphaerales). *Studies in Mycology* 76: 1–29.
- Wyka, S & Broders, K. (2016). The new family Septorioideaceae, within the Botryosphaerales and Septorioides strobi as a new species associated with needle defoliation of *Pinus strobus* in the United States. *Fungal Biology* 120: 1030–1040.
- Yang T, Groenewald JZ, Cheewangkoon R, et al. (2017). Families, genera, and species of Botryosphaerales. *Fungal Biology* 121: 322–346.
- Zapata, M., & Schafer, M. (2019). *Diplodia africana* causing twig death on *Araucaria Araucana*, a new host and first record for Chile. *New Disease Reports* 40(1), 2.
- Zhang, W., Groenewald, J. Z., Lombard, L., Schumacher, R. K., Phillips, A. J. L., & Crous, P. W. (2021). Evaluating species in Botryosphaerales. *Persoonia*, 46, 63–115. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2021.46.03>
- Zúñiga, M. (2016). Evaluación de diferentes fungicidas para el control de *Phaeomoniella chlamydospora* en heridas de poda en *Vitis vinifera* cvs. Cabernet Sauvignon y Sauvignon Blanc, Talca, Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. 42p
- Zlatković M, Keča N, Wingfield MJ, Jami F & Slippers B. (2016) Botryosphaeriaceae associated with the die-back of ornamental trees in the Western Balkans. *Antonie Van Leeuwenhoek.* Apr;109(4):543-64. doi: 10.1007/s10482-016-0659-8. Epub 2016 Feb 18. PMID: 26891906

