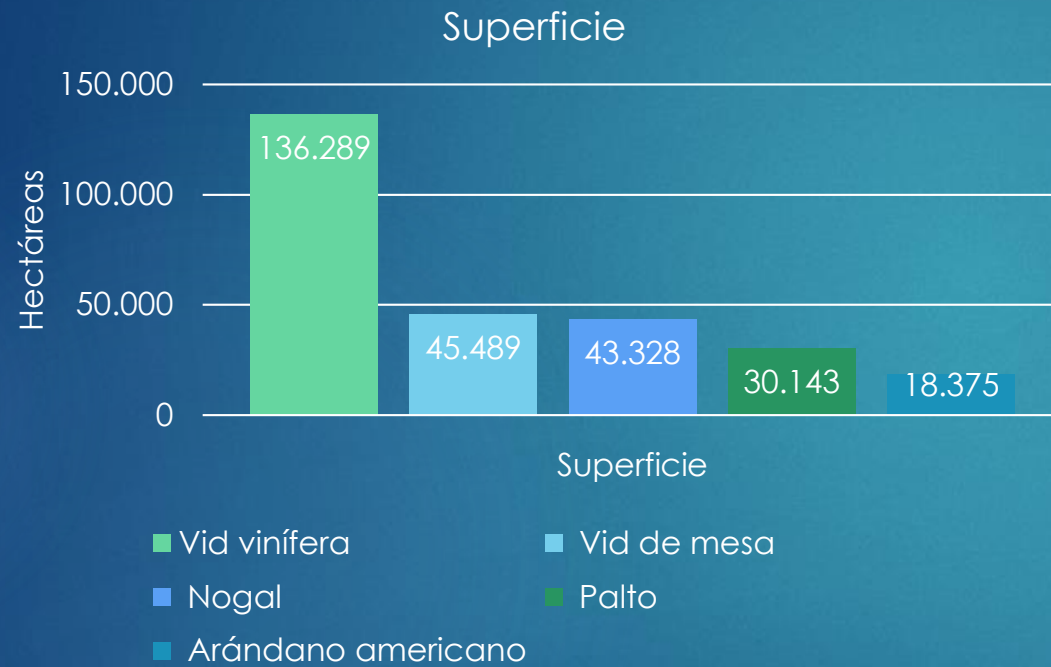


La importancia de la familia Botryosphaeriaceae como causante de enfermedades en leñosas en Chile

PROFESORA XIMENA BESOAIN, DRA.
FITOPATÓLOGA

OCTUBRE, 2021

Frutales y viñas



Principales enfermedades de la madera en vides

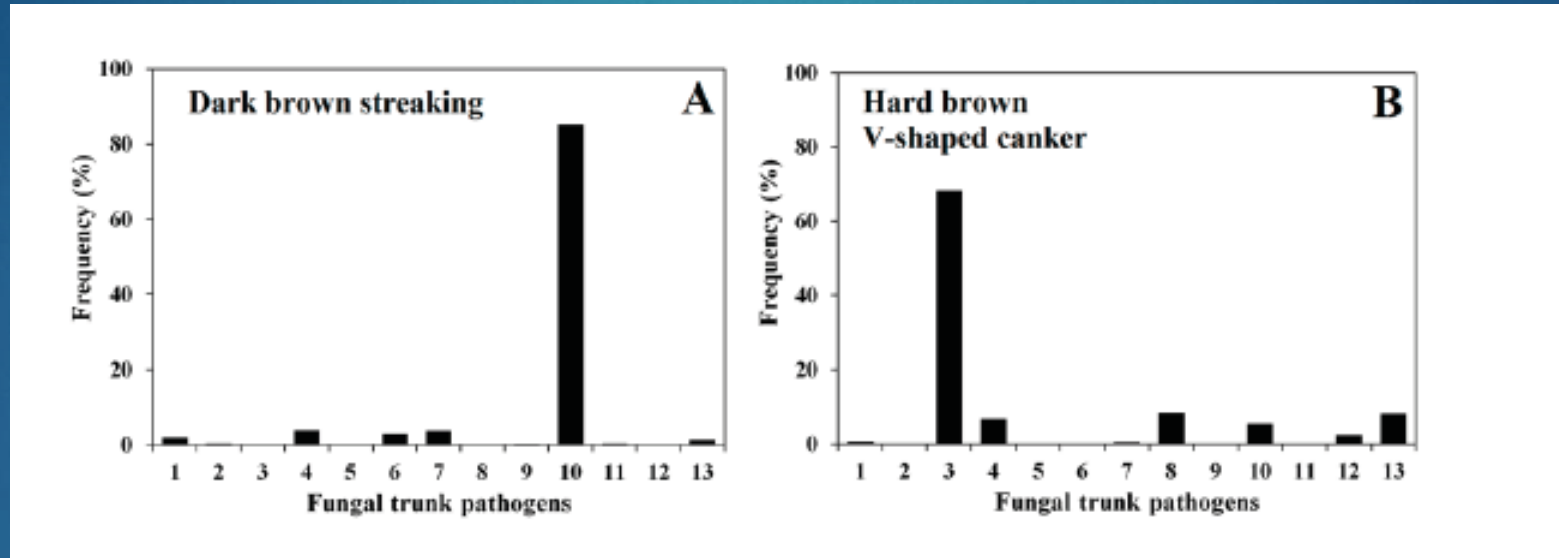
Eutypa, *Eutypa lata* (Lolas et al., 2020. Plant Disease 2020 104:7, 2024).

Petri, *Phaeomoniella* and *Phaeoacremonium*, **plantas jóvenes** (Díaz et al., 2009. Cien. Inv. Agr. 36:381-390)

Esca-like, *Diatrypaceae* asociado con Basidiomycete, **> 7 años** (Díaz y Latorre et al. 2014. Plant Dis. 98:351-360)

Botryosphaeria dieback, *Botryosphaeriaceae* **> 7 años** (Latorre et al, 1986. Phytopathology 76: 1112; Morales et al 2012, Ciencia e Investigación Agraria ; Díaz et al., 2013; Larach et al Phytopathología Mediterranea 2020)

Frecuencia de especies fúngicas obtenidas de muestras según tipo de cancro de la madera



Botryosphaeria dieback

5

Agentes causales

Ascomycete

Botryosphaeriaceae

26 species

Diplodia seriata

Lasiodiplodia theobromae

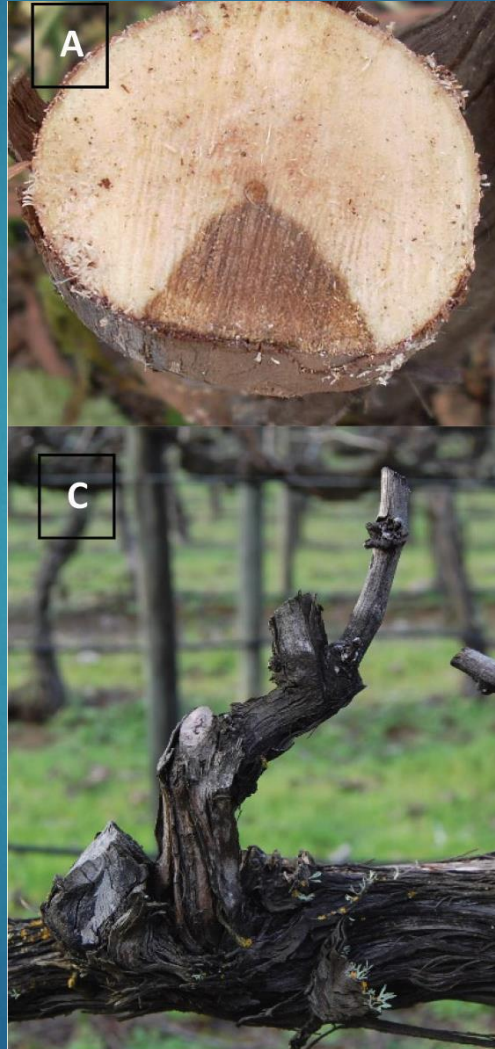
Neofusicoccum parvum



Phillips et al., 2013. Studies in Mycology 76: 51–167

Principales enfermedades de la madera

Botryosphaeria dieback



Falta de
brotación

Besoain, 2018. In: Grapes and Wines-
Advances in Production. 43-58

Principales enfermedades de la madera

Botryosphaeria dieback

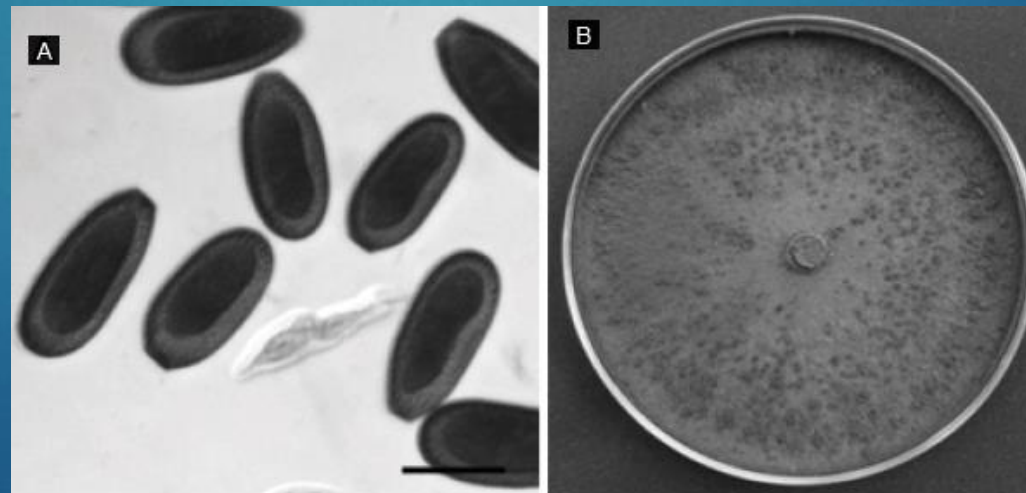
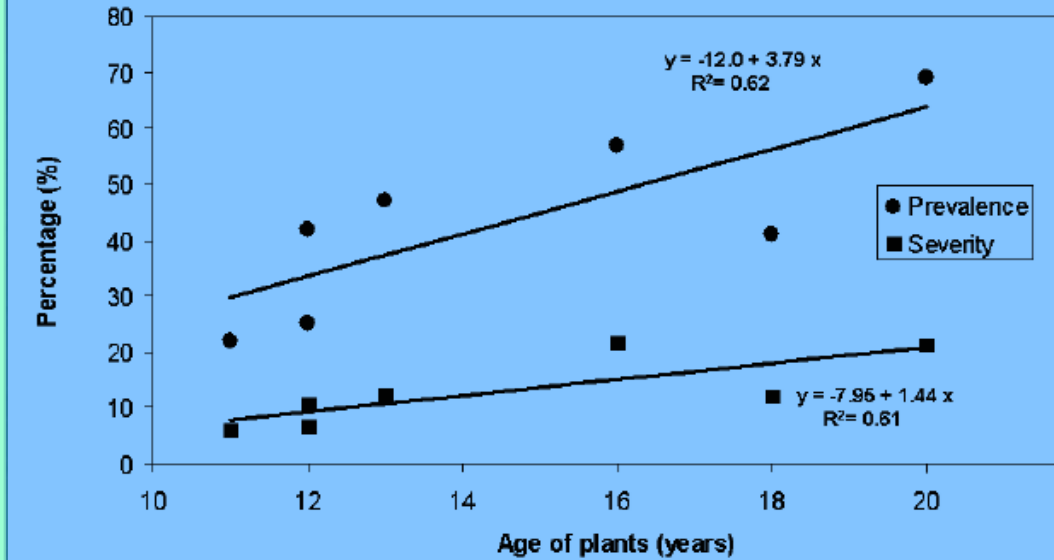


Botryosphaeria dieback en Chile

Uva de mesa

Locations	Cultivars	Plantation Year	Incidence ¹ (%)	Severity ² (%)
Champa	Thompson Seedless	1989	69	21.3
San Bernardo	Thompson Seedless	1991	41	12.3
Mallarauco	Thompson Seedless	1993	57	21.8
San Bernardo	Thompson Seedless	1996	47	12.5
Paine	Redglobe	1997	25	6.5
Melipilla	Crimson	1997	42	10.8
Los Andes	Redglobe	1998	22	6.0

¹The incidence was determined in a 100 plant sample per vineyard. ² The severity was estimated according to a damage index (see text).



Diplodia seriata

Botryosphaeria dieback en Chile Cabernet Sauvignon

Otoño y primavera (2010 y 2018)

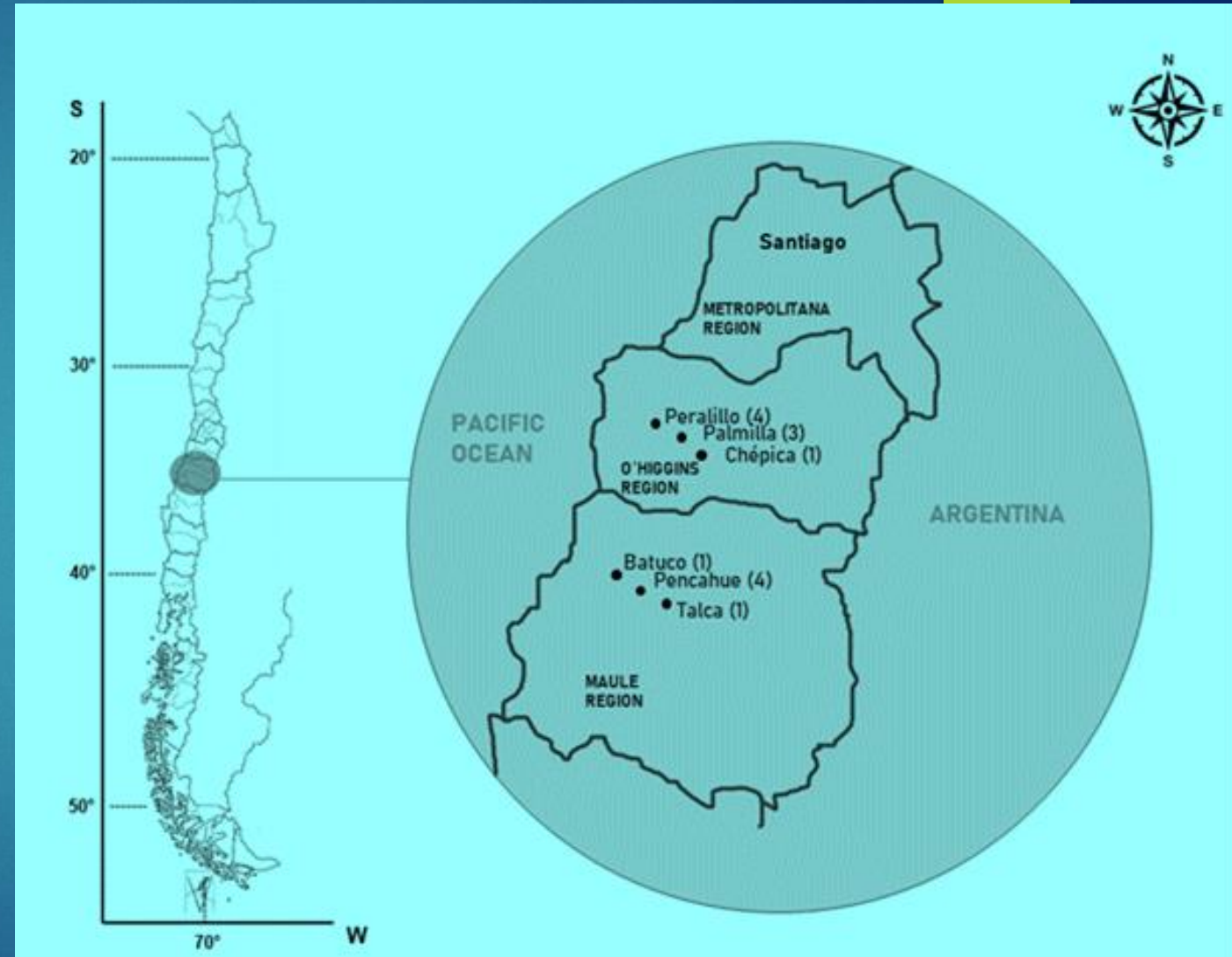
Región de O'Higgins

8 cuarteles de 5 viñedos

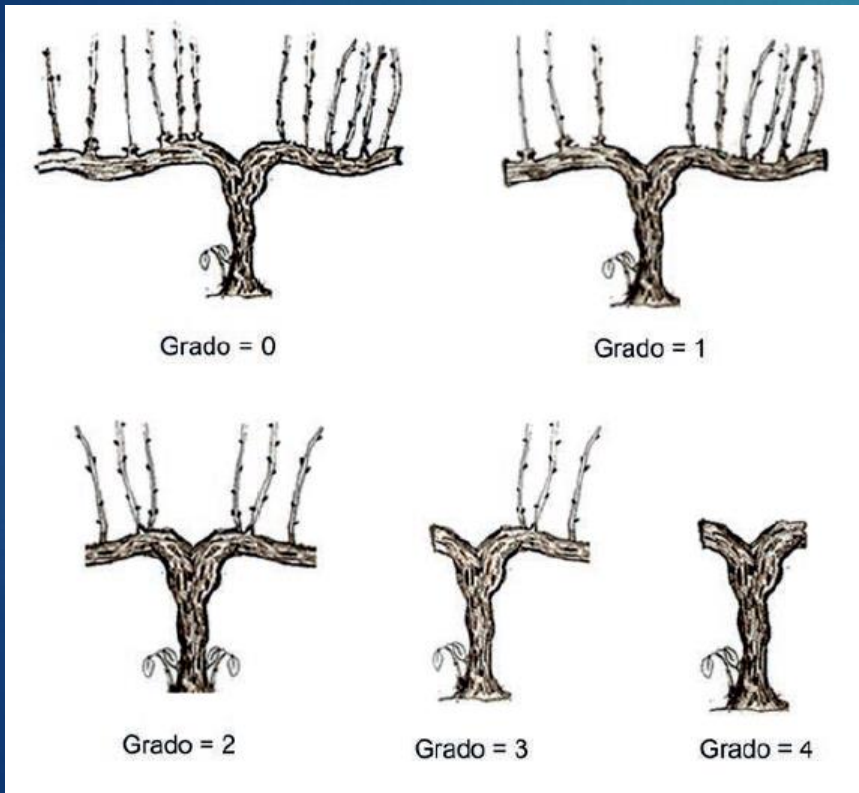
Región del Maule :

6 cuarteles de 3 viñedos

Viñedos de distintas edades (> 5 años)



Severidad: escala de daño



Larach et al., 2021. Red
Agrícola Marzo/Abril.



Larach et al., 2020.
Phytopathologia
Mediterranea 59: 53-548

Identificación patógenos

- ▶ Otoño y primavera (2010 y 2018)
- ▶ 2 plantas sintomáticas desde cada bloque



Molecularmente (ITS y β -tubulin, FE)

Incidencia y severidad de Botryosphaeria dieback en viñedos chilenos cv. Cabernet Sauvignon O'Higgins y Maule

Región/Localidad/ Viñedo-Block	Año plantación	Primavera 2010			Primavera 2018	
		Incidencia (%)	Severidad (%)	Dardos muertos (Nº□)	Incidencia (%)	Severidad (%)
O'Higgins/Chépica 1-1	1996	64	27,3	2,5	73	29,0
O'Higgins/Palmilla 2-2	1991	71	36	3,6	94	66,0
O'Higgins/Pamilla 2-3	2005	22	7,8	0,6	63	18,5
O'Higgins/Palmilla 3-4	1995	99	62,3	6,5	84	52,0
O'Higgins/Peralillo 4-5	1991	100	70,5	7,7	83	47,0
O'Higgins/Peralillo 5-6	1996	83	31,3	2,8	94	49,3
O'Higgins/Peralillo 5-7	1996	84	30,3	2,8	88	48,3
O'Higgins/Peralillo 5-8	1995	98	55,0	5,6	80	38,5
Promedio O'Higgins		77,6	40,1	4,0	82,4	43,6
Maule/Batuco 6-9	1997	100	66,8	6,9	82	43,0
Maule/Pencahue 7-10	1997	100	60,3	6,2	88	46,5
Maule/Pencahue 7-11	2002	99	61,3	6,5	92	59,0
Maule/Pencahue 8-12	1997	99	54,0	5,7	86	54,5
Maule/Pencahue 8-13	1997	94	47,0	4,6	88	54,0
Maule/Talca 9-14	2003	100	71,3	7,7		
Promedio Maule		98,7	60,1	6,3	87,2	51,4

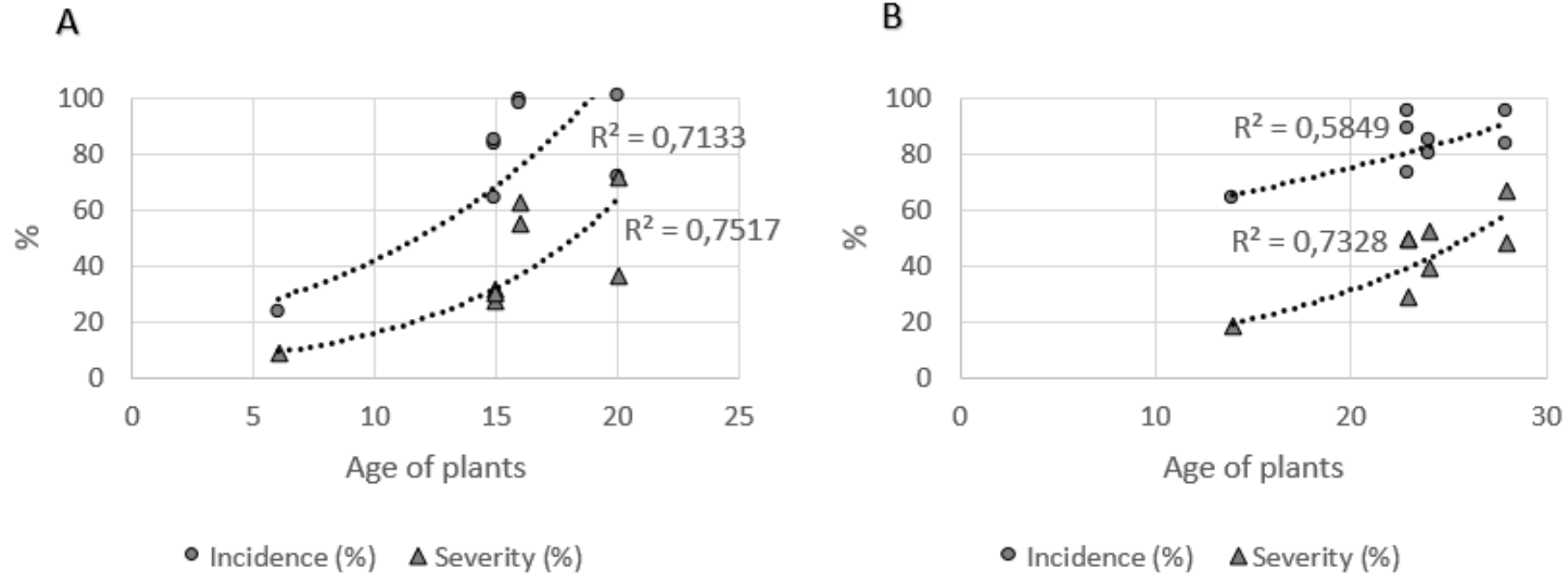
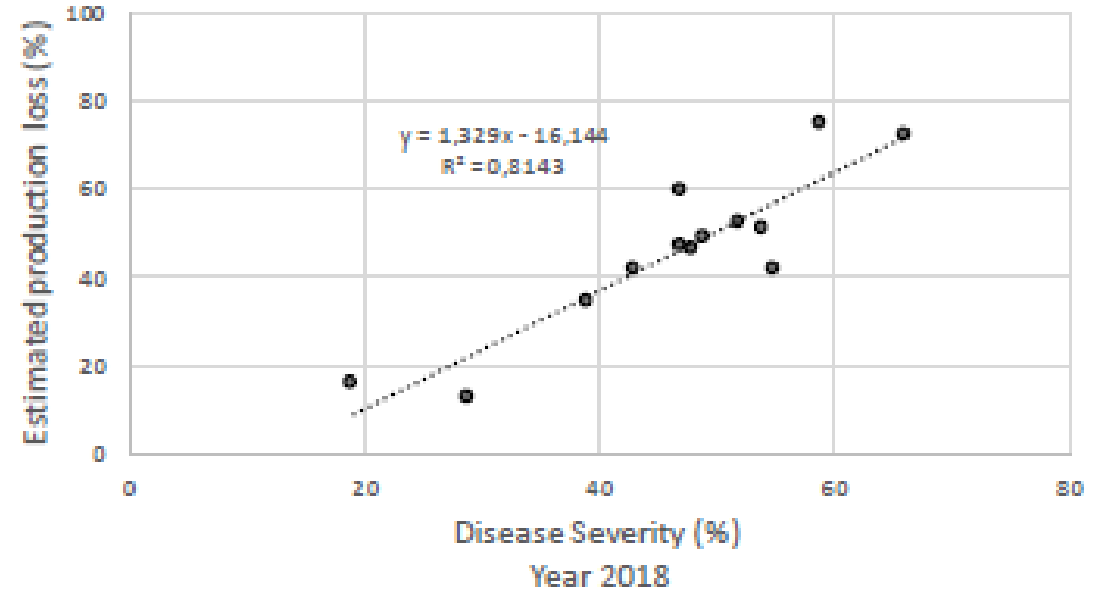
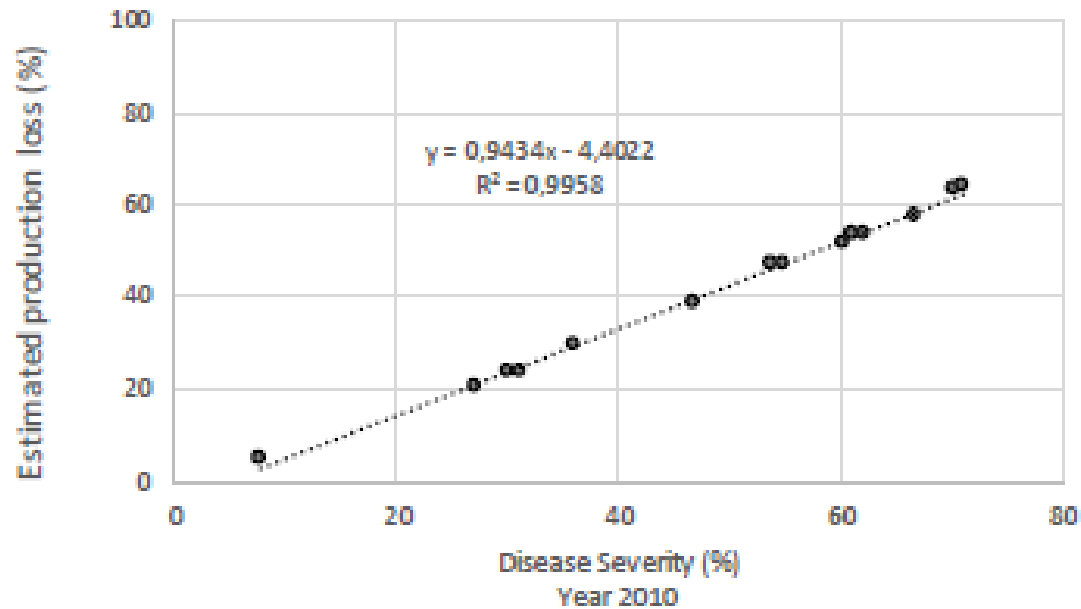


Figure 3. Relationships between the age of vineyards cv. Cabernet Sauvignon (O'Higgins Region) and the incidence and severity of Botryosphaeria dieback in **A)** spring 2010; and **B)** spring 2018.

Relación entre la severidad del daño y la pérdida de producción



Estimación de pérdidas de producción

Región/temporada	2010-2011		2018-2019	
	Pérdida promedio de producción de fruta			
Región O'Higgins	4,5 t ha ⁻¹	30,7%	10,7 t ha ⁻¹	42,0%
Región Maule	6,2 t ha ⁻¹	52,9%	11,9 t ha ⁻¹	52,3%

Identificación de patógenos

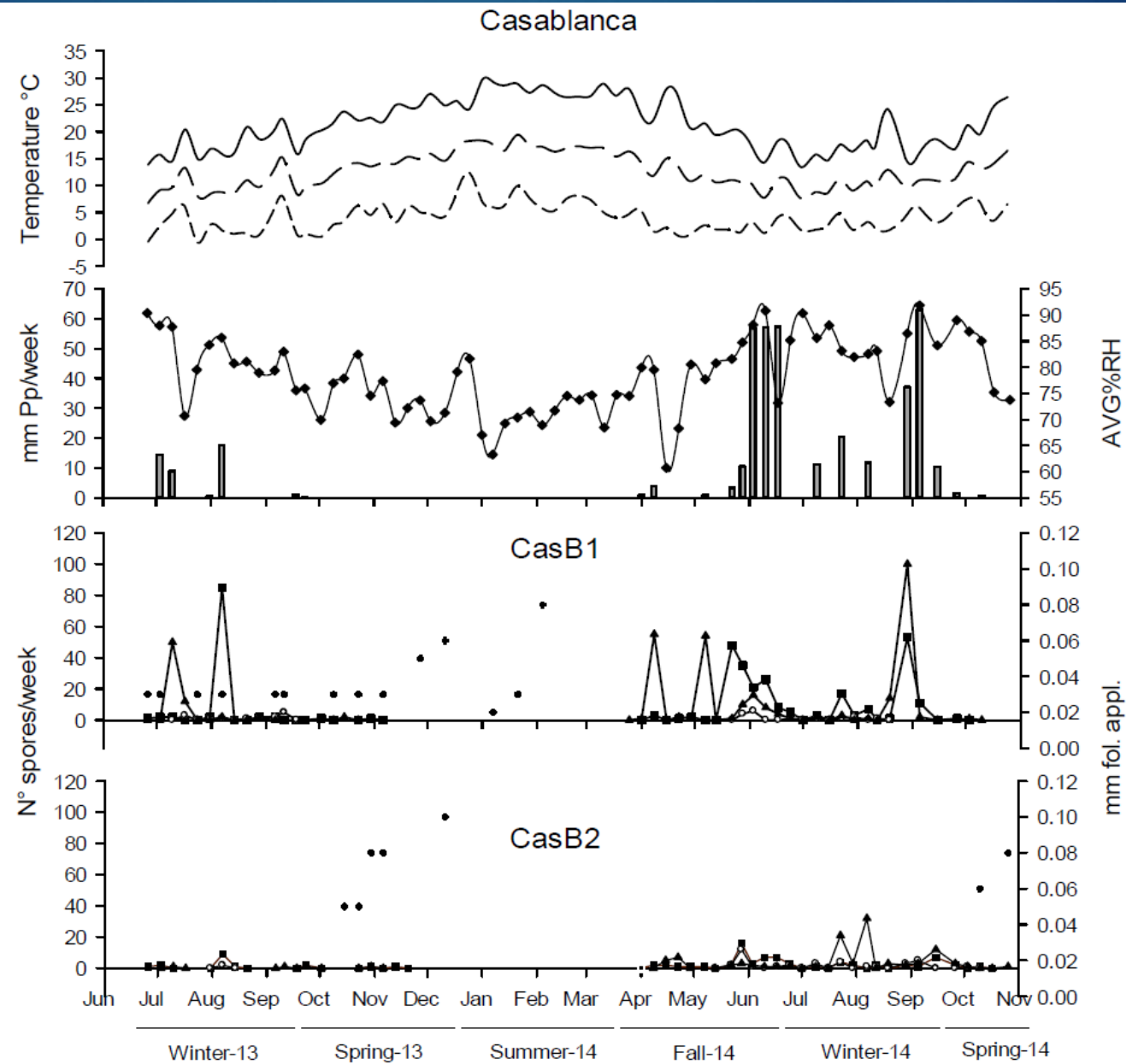
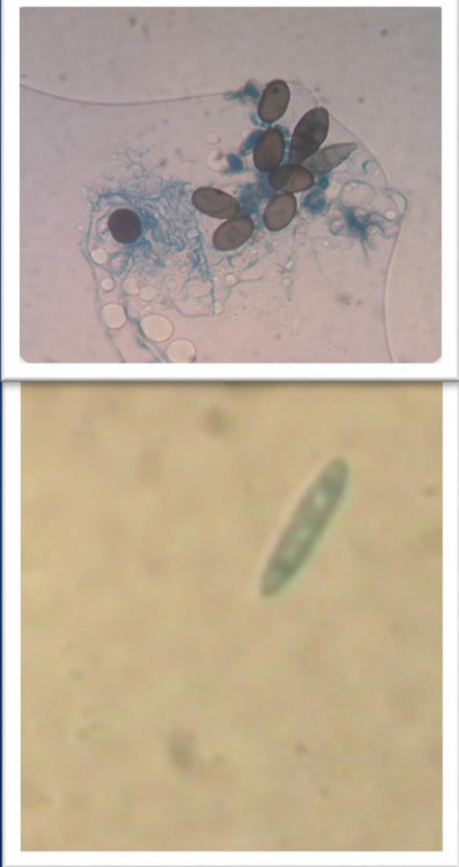
108 muestras desde plantas enfermas

- ▶ 70 Botryosphaeriaceae
- ▶ Comparación de secuencias identificadas usando BLASTn (NCBI)
- ▶ **Ambos años de muestreo *Diplodia seriata* fue la especie más prevalente**
- ▶ *D. mutila*, *Neofusicoccum parvum*, *N. australe*, *Spencermartinsia viticola*

Epidemiología

Dispersión de conidios de Botryosphaeriaceae en 4 viñedos de clima templado mediterráneo semiárido en Chile

- ▶ Selección de viñedos en Casablanca y Panquehue
- ▶ Se seleccionaron 5 hileras continuas dentro de un sector con antecedentes de BDA en cada viña. Se instaló una trampa de esporas por hilera completando 10 trampas de esporas por localidad





Trabajo sobre fungicidas para el control de muerte de brazos

Efecto de fungicidas IBE sobre *D. mutila* y *D. seriata*

Table 2. Effectiveness of demethylation inhibiting (DMI) fungicides *in vitro* against isolates of *Diplodia mutila* and *D. seriata* from grapevine.

Fungicides	Median effective concentrations (EC ₅₀), mg L ⁻¹							
	<i>D. mutila</i>				<i>D. seriata</i>			
	Vid 1476	Vid 1265	Vid 1510	Mean ¹	Vid 1472	Vid 1468	Vid 1270	Mean ¹
Conidial germination inhibition								
Difeconazole	1.3 a ²	-	5.0 b ²	3.2±2.6	ne	ne	ne	
Epoxiconazole	ne	-	ne		8.1 a ²	1.7 a ²	>100 b ²	36.6±55.0
Fenbuconazole	ne	-	ne		ne	ne	ne	
Myclobutanil	0.4 a	-	1.6 a	1.0±0.8	0.5 a	2.2 a	1.0 a	1.2±0.9
Prochloraz	1.2 a	-	1.4 a	1.3±0.1	5.5 a	0.4 a	0.2 a	2.0±3.0
Prochloraz+epoxiconazole	0.4 a	-	0.2 a	0.3±0.1	0.8 a	0.1 a	1.0 a	0.6±0.5
Tebuconazole	0.5 a	-	1.0 a	0.8±0.4	0.3 a	0.3 a	0.5 a	0.4±0.1
Mycelial growth inhibition								
Difeconazole	0.1 a ²	0.2 a ²	0.1 a ²	0.1±0.1	0.2 a ²	0.7 a ²	8.0 a ²	3.0±4.4
Epoxiconazole	1.0 a	7.0 b	0.5 a	2.8±3.6	1.0 a	0.3 a	0.7 a	0.7±0.4
Fenbuconazole	2.0 a	2.0 a	5.5 b	3.2±2.0	40.2 b	>100 c	10.0 a	50.1±45.8
Myclobutanil	0.5 a	0.6 a	1.0 a	0.7±0.3	1.0 a	0.8 a	1.1 a	1.0±0.2
Prochloraz	<0.1 a	1.0 a	0.1 a	0.4±0.5	<0.1 a	<0.1 a	<0.1 a	0.1±0.0
Prochloraz + epoxiconazole	<0.1 a	0.1 a	0.1 a	0.1±0.0	0.6 a	0.4 a	0.5 a	0.5±0.1
Tebuconazole	0.1 a	0.1 a	0.1 a	0.1±0.0	0.3 a	0.3 a	0.3 a	0.3±0.0

¹ Mean ± standard deviation.

² Means of the three replicates followed by the same letters are not significantly different according to Tukey's tests (P ≤ 0.05). ne: not effective at the fungicide concentrations tested. -: not tested.

Ensayo en campo

Trabajo efectuado para empresa SummitAgro

Ubicación: Viñedo en Isla de Maipo
Diseño estadístico: DCA



5 repeticiones y 10 sarmientos
como unidad experimental.
Poda 48 hr antes de aplicación



Cuadro 1: Identificación de los tratamientos y dosis de producto aplicados

Tratamiento	Producto	Dosis/ha (L/ha)	Método aplicación
T1	Sin tratar		-
T2	Vitiseal	5 L/ha	Aspersión
T3	BSP-100	5 L/ha	Aspersión

Ensayo en campo

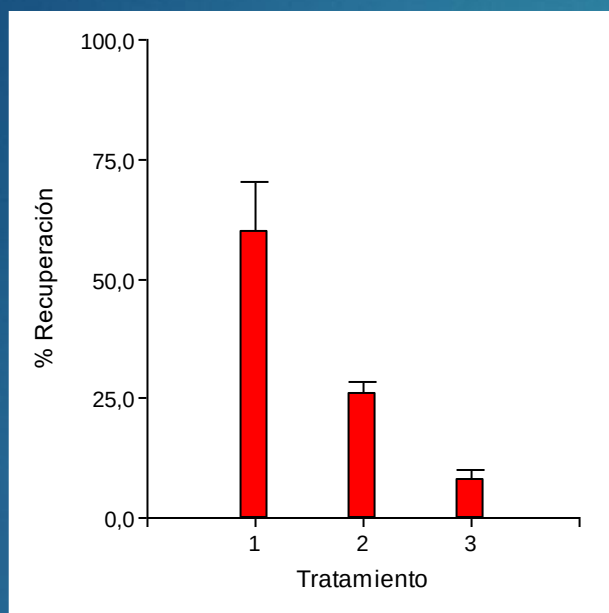
Aplicación de los tratamientos



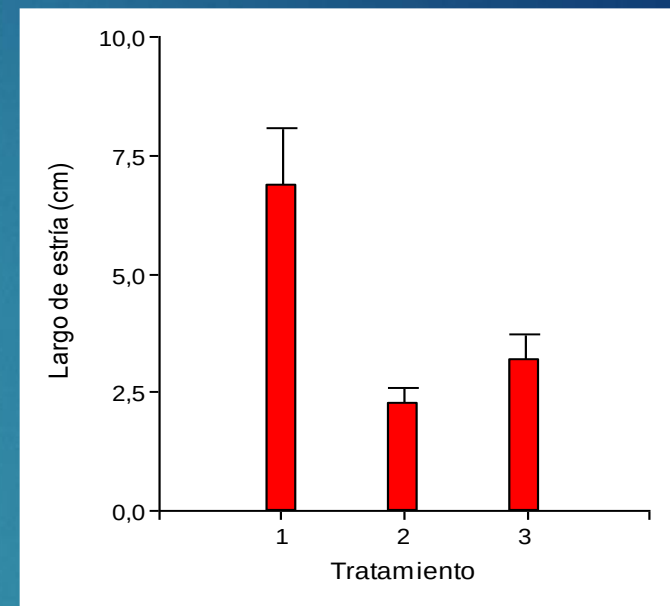
Inoculación (24 hrs Después)



Resultados



Longitud de la estría provocada por el complejo de Botryosphaeriaceae causante de *Black dead arm*, en vides (T1: Testigo inoculado, T2: VITISEAL en aspersión y T3: SPUR SHIELD (BSP-100) en aspersión)



Porcentaje de recuperación del complejo de Botryosphaeriaceae causante de *Black dead arm*, compuesto por *Diplodia seriata*, *D. mutila* y *N. parvum*. (T1: Testigo inoculado, T2: VITISEAL en aspersión y T3: SPUR SHIELD (BSP-100) en aspersión).

Conclusiones

Botryosphaeria dieback

- ▶ ***D. seriata***, consistentemente la especie más prevalente tanto en vid de mesa como vinífera (C. Sauvignon)
- ▶ Incidencia y severidad aumenta con la edad de las plantas
- ▶ Alta incidencia y causa importantes daños a los viñedos (C. Sauvignon)
- ▶ La enfermedad se ha mantenido en un lapso de 8 años
- ▶ Pérdida de producción ~ **40%**

Conclusiones

Botryosphaeria dieback

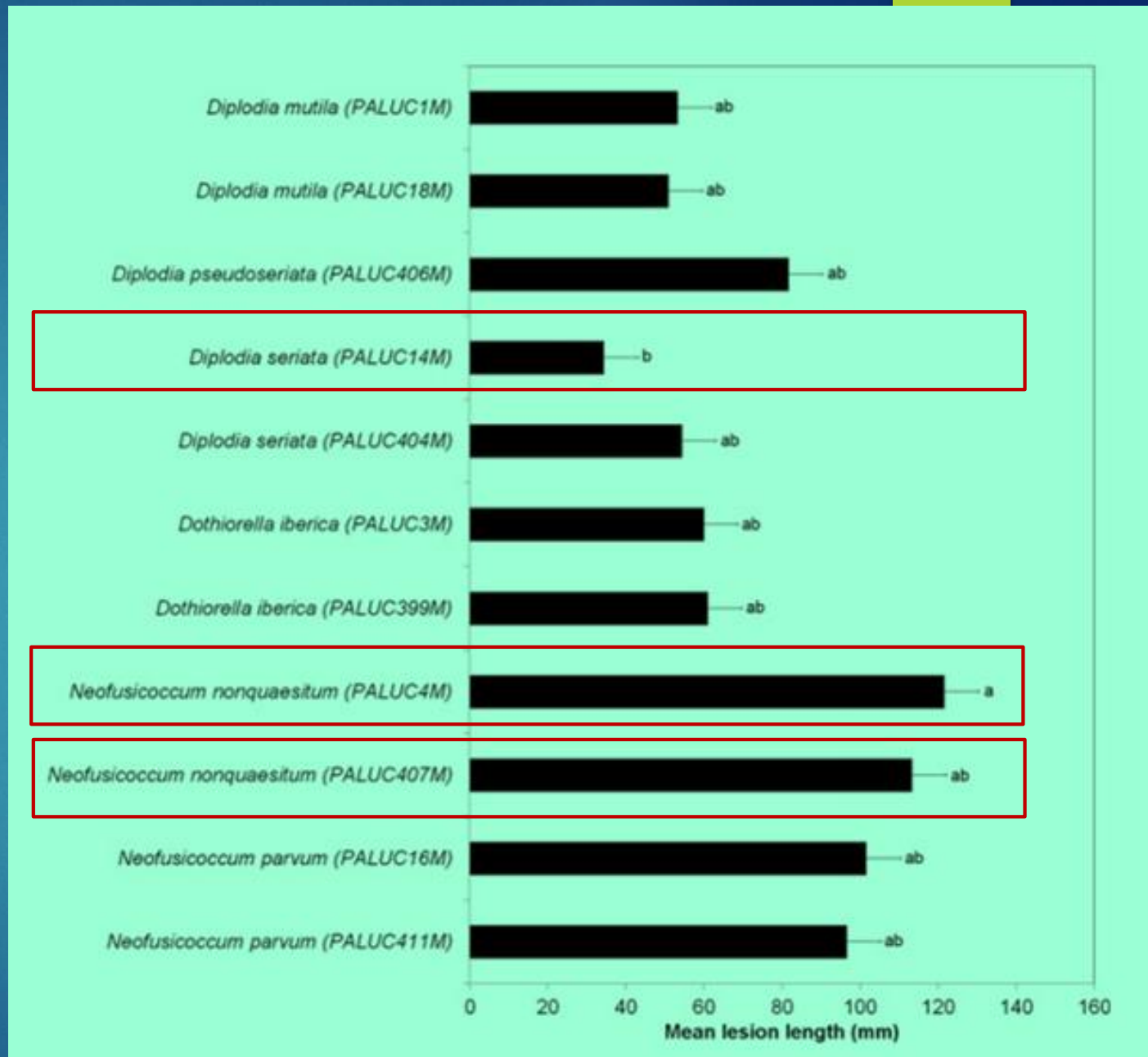
- ▶ La relación de severidad y pérdida de producción permite estimar si un manejo tiene una relación costo / beneficio razonable.
- ▶ El nuevo método de escala de daños propuesto es un método más fácil de detectar pérdidas en comparación con el método de recuento de dardos y es igualmente robusto.
- ▶ También permite medir el daño antes de la cosecha y, por lo tanto, estimar el porcentaje de cosecha que se perderá por adelantado y evaluar la eficacia de tratamientos realizados



Principales especies de Botryosphaeriaceae en palto

- ▶ *Diplodia mutila*
- ▶ *D. pseudoseriata*
- ▶ *D. seriata*
- ▶ *D. iberica*
- ▶ *Lasiodiplodia theobromae*
- ▶ *Neofusicoccum australe*
- ▶ *N. nonquasitum*
- ▶ *N. parvum*

Lesiones desarrolladas en
plantas de palto
inoculadas con
Botryosphaeriaceae (1
año)



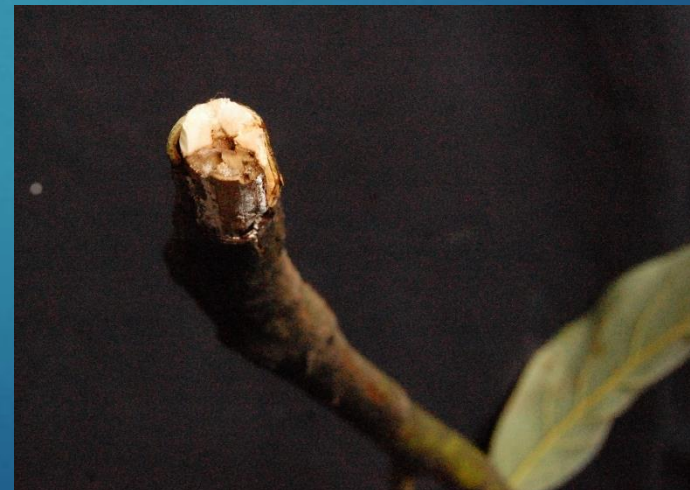


Síntomas asociados a cancrrosis del palto

Síntomas en palto en California



Muerte de ramas entre tejidos sanos



Cancro y exudación blanquecina

Frutos de palto cv. Fuerte, naturalmente infectados



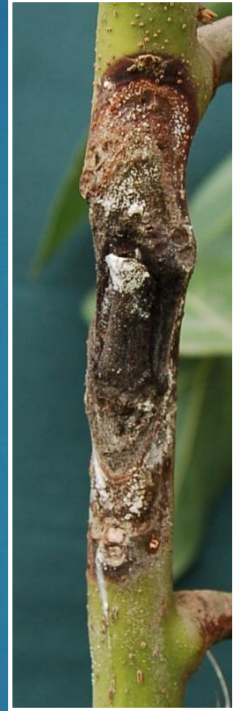
Pudrición peduncular o *Stem end rot*



Cancrosis en palto



Diferencias en virulencia en plantas de palto



a) *Neofusicoccum* (palto) **b)** *Neofusicoccum* (nogal) **c)** *Diplodia mutila* (vid) **d)** *Diplodia seriata* (manzano)

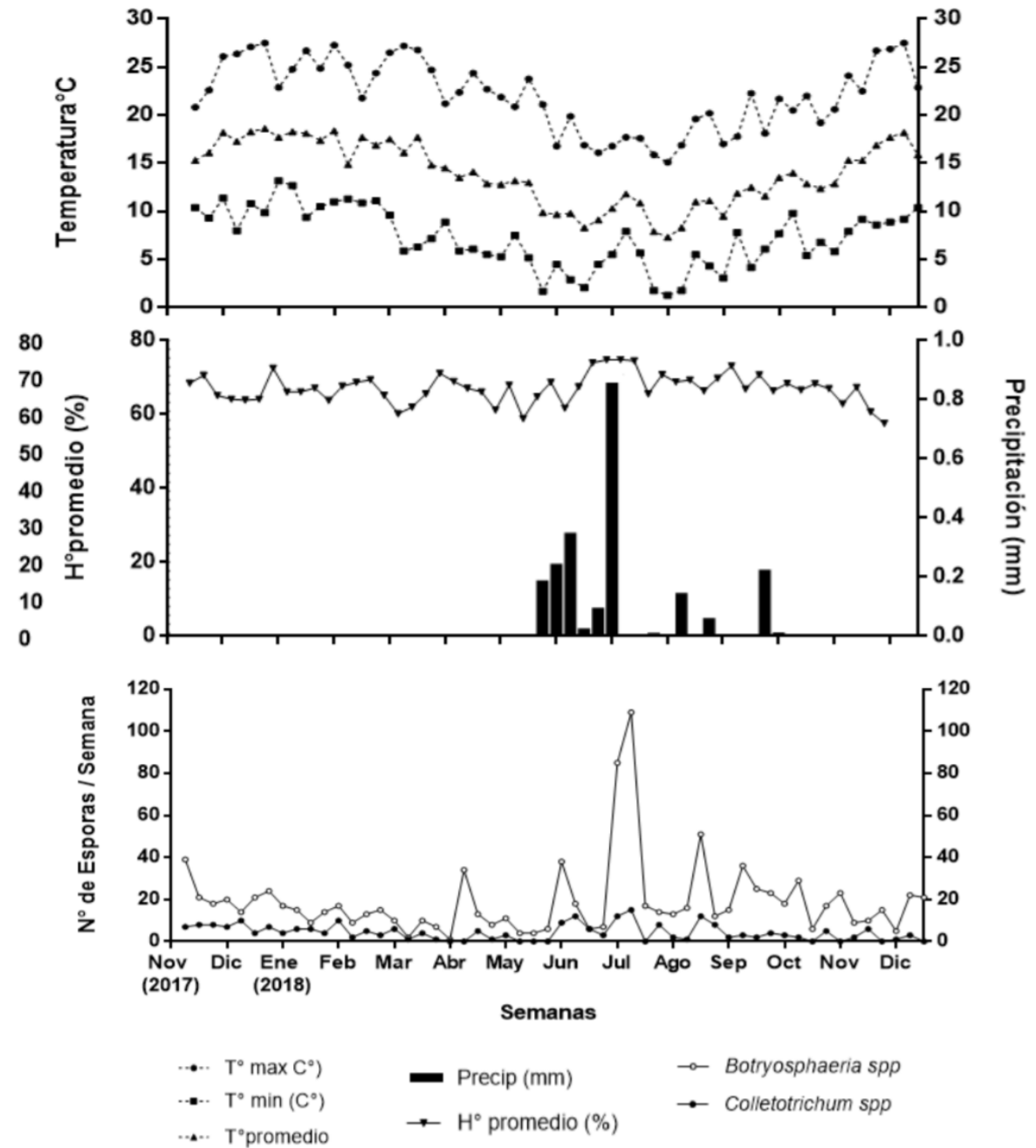
Susceptibilidad varietal

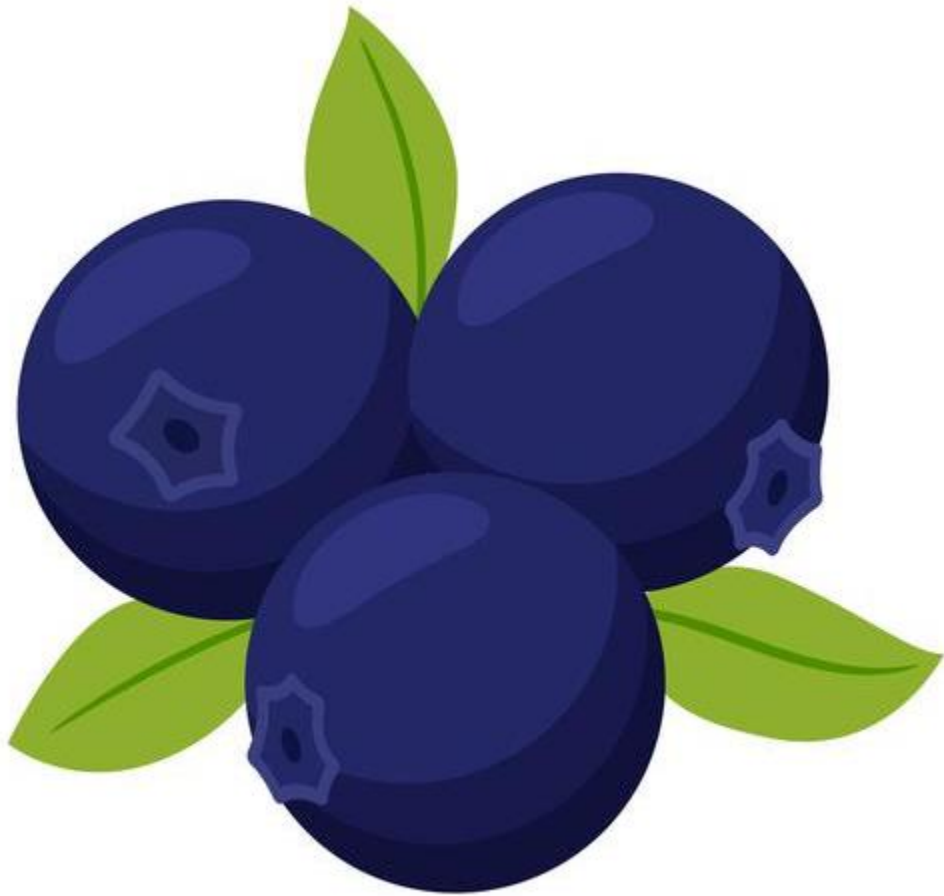


Tesis: Mónica Ruiz, 2002

Localidad: San Pedro, Quillota

Tesis de Magister
Lorena Tapia
(en preparación)





- ▶ Región de Valparaíso-Maule: > 70% superficie

Enfermedades de la madera

Arándano

Neofusicoccum

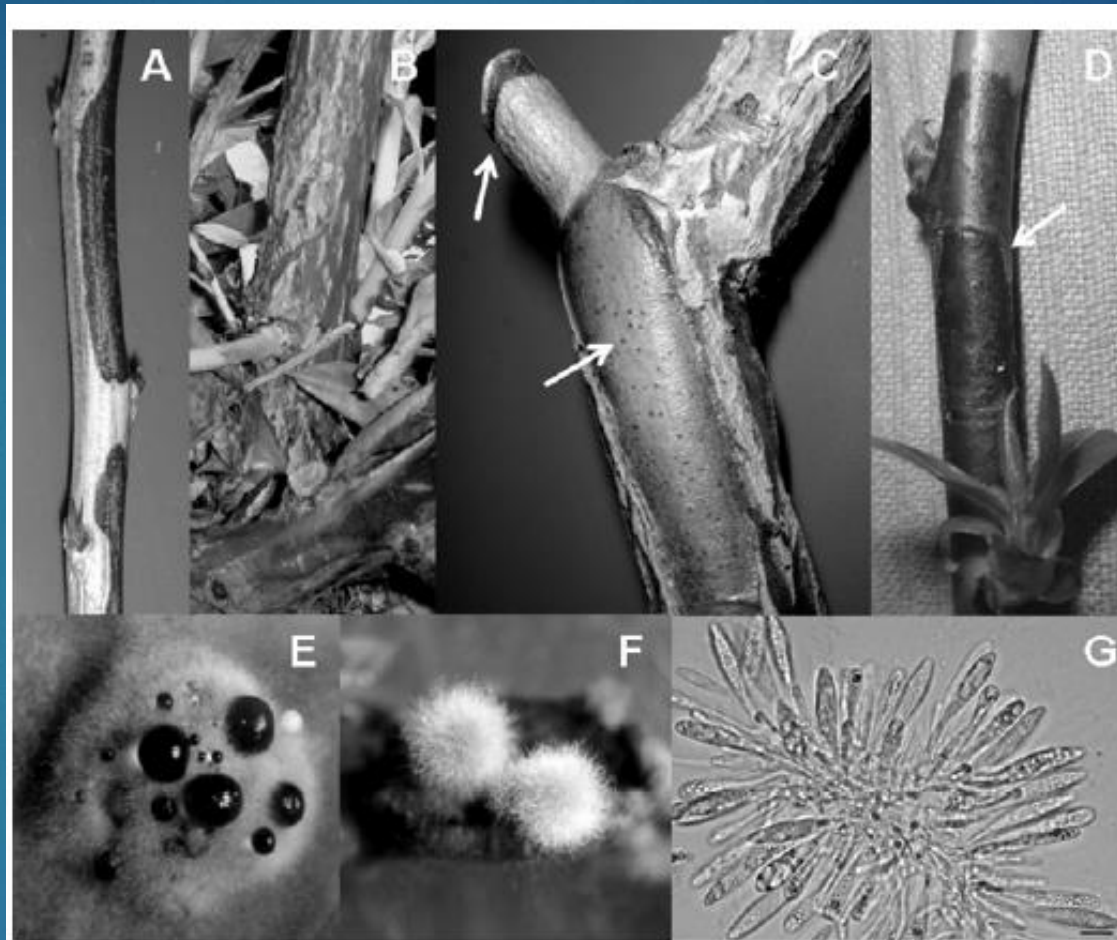
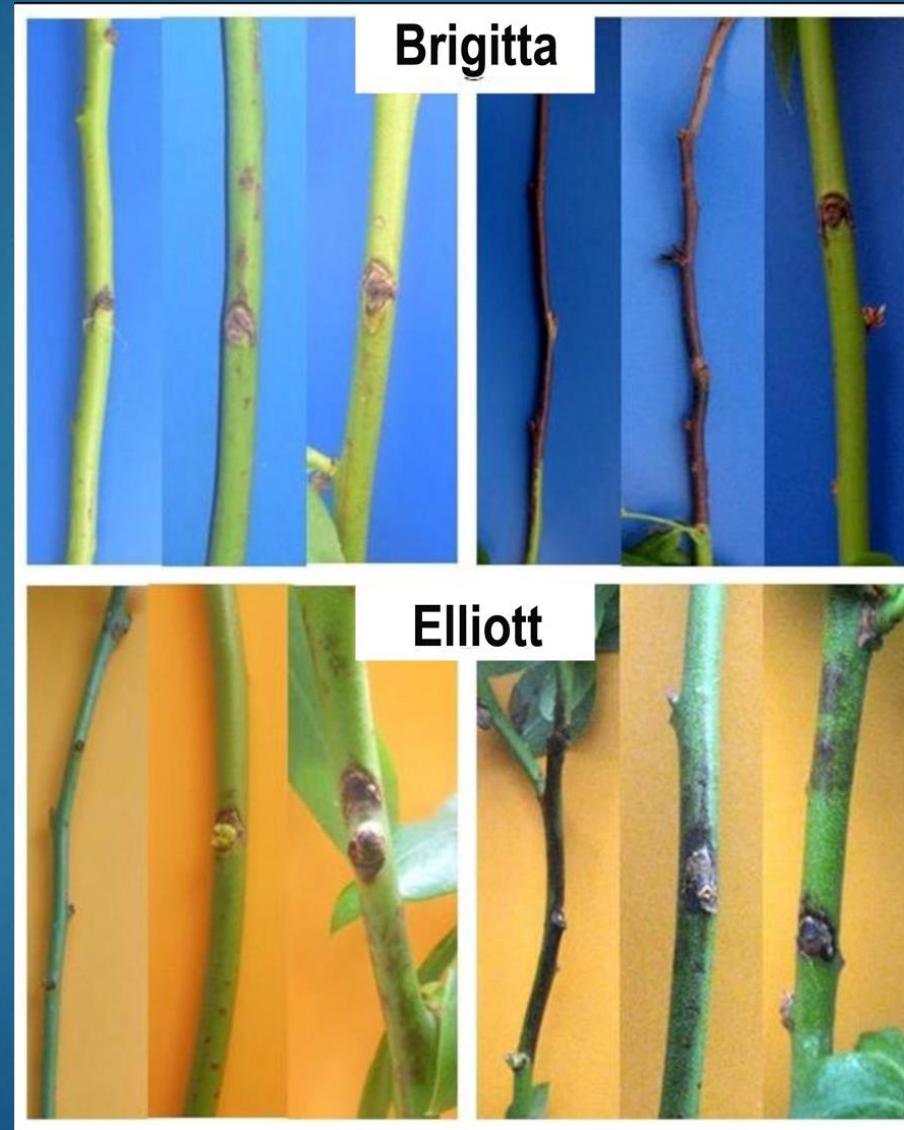


Fig. 1. Symptoms of canker and dieback of blueberry (*Vaccinium* spp.) caused by *Botryosphaeriaceae* spp. A–C, Symptoms observed in commercial blueberry plantations in Chile. A, Partially necrotic stem. B, Necrosis observed in the basal portion and crown of blueberry plants. C, Canker associated with pruning wound. Arrows show the pruning wound and pycnidia subcortical. D, Canker lesion obtained after stem inoculations. E, Pycnidia multiloculate on acidified potato dextrose agar medium. F, Single pycnidia on pine aciculae. G, Conidiophores and conidia of *Neofusicoccum arbuti*. Bar = 10 μ m.

Neofusicoccum





Estrategias de Manejo Integrado

Enfermedades de la madera

Principales Consideraciones

- ▶ Reconocer que especie predomina en el campo que se desea manejar
- ▶ Verificar si existen hospederos alternantes
- Enfermedad de estrés, evitar estrés hídrico en las plantas
- ▶ Aplicación de productos de reconocida eficacia (inmediatamente después de la lluvia)
- ▶ Aplicación de productos un mes antes de la cosecha (palta)
- ▶ Aplicación de tratamientos permitidos en línea de embalaje



► Hospederos alternantes de Botryosphaeriaceae

Enfermedades causadas por distintos géneros de *Botryosphaeria*, en diferentes especies frutales, reportadas Chile

Hospedero	Fuente	Anamorfo	Teleomorfo
Nogal	Camacho, 1916	<i>Dothiorella gregaria</i>	(<i>B. dothidea</i>)
Manzano	Latorre y Toledo, 1984	<i>Dothiorella gregaria</i>	<i>B. dothidea</i>
Palto	Pinto de T. <i>et al.</i> , 1986 Valencia <i>et al.</i> , 2019	<i>Dothiorella</i> sp.	
Vid cv. Thompson seedless	Besoain, 1987 Pinto de T. y Valenzuela, 1989	<i>F. aesculi</i> <i>Dothiorella</i> sp.	<i>B. dothidea</i> <i>B. stevensii</i>
Duraznero	Besoain, 1987	<i>Sphaeropsis</i>	<i>B. obtusa</i>
Níspero	Fuentes/Besoain, 1989/1991	<i>F. Aesculi</i>	<i>B. dothidea</i>
		<i>Sphaeropsis</i>	<i>B. Obtusa</i>
Peral europeo	Boher, 1993	<i>Sphaeropsis</i>	<i>B. obtusa</i>
Almendro	Briceño <i>et al.</i> , 1995	<i>Fusicoccum</i> sp.	<i>B. dothidea</i>
Palto	Besoain <i>et al.</i> , 2001	<i>F. aesculi</i>	<i>B. dothidea</i>
Peral asiático	Auger <i>et al.</i> , 2003 ^a	<i>Sphaeropsis</i>	<i>B. obtusa</i>
Vid cv. Red Globe	Auger <i>et al.</i> , 2003b	<i>Sphaeropsis</i>	<i>B. obtusa</i>
Arándano	Guerrero*, 2003	<i>Fusicoccum</i>	<i>B. ribis</i>
Níspero	Palma, 2006	<i>Diplodia pinea</i>	<i>B. obtusa</i>
Araucaria	Besoain, 2017, 2019	<i>D. seriata</i> , <i>D mutila</i>	<i>B. obtusa</i> , <i>B. stevensii</i>

Diplodia mutila en *Araucaria araucana*



Especies de Botryosphaeriaceae que afectan a la araucaria: *Diplodia seriata*

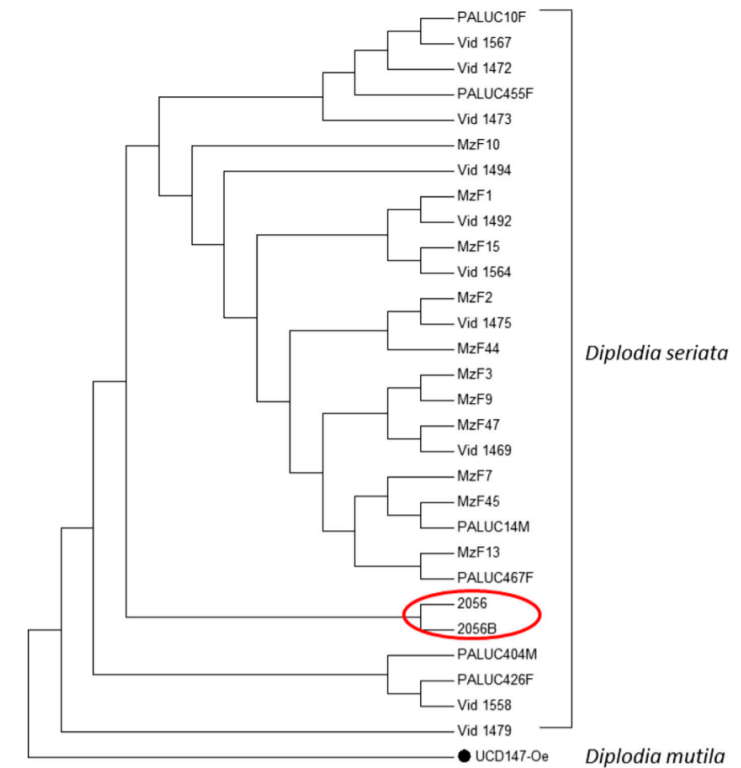


Figure S2. Phylogenetic tree of *Diplodia seriata* using Tree-Bisection-Regrafting (TBR) methods (bootstrap: 1,000 replicates) and concatenated sequence of the ITS region and Beta tubulin for each isolates. *D. mutila* was included as control. Branches corresponding to partitions reproduced in less than 70% of bootstrap replicates were collapsed. Isolates 2056 and 2056B in red circle corresponds to our found isolates.



Estrategias de Control Biológico

Trichoderma

Stem end rot avocado

TABLE 3: Effect of *Trichoderma* spp. on the severity of SER on postharvest “Hass” avocado fruits.

Antagonist	Disease severity index %			
	<i>pathogens</i>			
	<i>N. pseudotrichia</i>	<i>N. parvum</i>	<i>L. theobromae</i>	<i>F. solani</i>
Preinoculation				
<i>T. asperellum</i>	20.00 ± 20.0 ^b	30.00 ± 10.00 ^b	10.00 ± 10.0 ^c	0.00 ± 0.00 ^b
<i>T. atroviride</i>	0.00 ± 0.00 ^c	5.00 ± 5.00 ^c	7.50 ± 2.50 ^c	7.50 ± 2.50 ^a
<i>T. harzianum</i>	90.00 ± 0.00 ^a	30.00 ± 15.0 ^b	42.50 ± 2.50 ^b	0.00 ± 0.00 ^b
<i>T. virens</i>	0.00 ± 0.00 ^c	35.00 ± 35.0 ^a	70.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^b
Concurrent inoculation				
<i>T. asperellum</i>	0.00 ± 0.00 ^a	55.00 ± 0.00 ^a	7.50 ± 7.50 ^d	0.00 ± 0.00 ^a
<i>T. atroviride</i>	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^c	100.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
<i>T. harzianum</i>	90.00 ± 0.00 ^a	17.50 ± 2.50 ^b	42.50 ± 2.50 ^c	0.00 ± 0.00 ^a
<i>T. virens</i>	7.50 ± 7.50 ^b	0.00 ± 0.00 ^c	70.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^a
Postinoculation				
<i>T. asperellum</i>	7.50 ± 7.50 ^a	40.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 5.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
<i>T. atroviride</i>	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	100.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^a
<i>T. harzianum</i>	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^a
<i>T. virens</i>	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^a
Control	90.00 ± 0.00 ^a	60.00 ± 0.00 ^a	100.00 ± 0.00 ^a	40.00 ± 0.0 ^b

Values are expressed as Means ± SEM for four avocado fruits per group. Means within respective columns followed by different lower-case superscripts are significantly different at $p \leq 0.05$.

Conclusiones y proyección

- ▶ La enfermedades causadas por Botryosphaeriaceae están siendo muy agresivas en el tiempo
- ▶ Se han realizado importantes esfuerzos por establecer estrategias de control, no siempre exitosas

Trabajos futuros

- ▶ La idea es centrarse en verificar que logra gatillar este tipo de problemas para establecer mejores estrategias de control