



Enfermedades de la madera, peligro latente en nuestros huertos



Presentador: **Ernesto Moya Elizondo, Profesor Asociado, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción** (e-mail: emoya@udec.cl)

Colaboradores: Braulio Ruíz S.; Juan San Martín M.; Karina Rojas D.; María José Lisperguer; Tommaso De Gregorio.



Introducción



Sintomatología recurrente en huertos que envejecen



**Efecto de la
muerte de la
madera en el
tiempo**



Chillán-Pinto, Km. 13

Sintomatologías descritas en Avellano europeo asociadas a hongos de madera.



Pestalotiopsis sp.
y *Phomopsis* sp.
(Acuña , 2010)



Fusarium
lateritum (Belisario
et al., 2005)

Diaporthe
foeniculina
Diplodia coryli
(Guerrero et al., 2013,
2020).

Cytospora corycola
(Lamichhane et al.,
2013).

Table 1. Fungal wood pathogens isolated from wood showing discoloration, necrosis, or decays of grapevines affected by major grapevine trunk diseases (Esca complex diseases, Botryosphaeria dieback, or Eutypa dieback). Species that proved pathogenic, at least as discoloration or necrosis agents, by artificial inoculations are indicated in bold (revised and adapted from Carlucci et al. 2015; Cloete et al. 2014; Úrbez-Torres 2014).

Family	Genus	Species
Botryosphaeriaceae	<i>Botryosphaeria</i>	<i>B. dothidea</i>
	<i>Diplodia</i>	<i>D. corticola</i> , <i>D. mutila</i> , <i>D. seriata</i>
	<i>Dothiorella</i>	<i>D. americana</i> , <i>D. iberica</i> , <i>D. sarmentorum</i> , <i>D. vidmadera</i>
	<i>Lasidiplodia</i>	<i>L. citricola</i> , <i>L. crassipora</i> , <i>L. exigua</i> , <i>L. mediterranea</i> , <i>L. missouriana</i> , <i>L. theobromae</i> , <i>L. viticola</i>
	<i>Neofusicoccum</i>	<i>N. australe</i> , <i>N. luteum</i> , <i>N. macroclavatum</i> , <i>N. mediterraneum</i> , <i>N. parvum</i> , <i>N. ribis</i> , <i>N. viticlavatum</i> , <i>N. vitifusiforme</i>
Phaeomoniellaceae	<i>Phaeobotryosphaeria</i>	<i>P. porosa</i>
	<i>Spencermartinsia</i>	<i>S. viticola</i>
Togniniaceae	<i>Phaeomoniella</i>	<i>P. chlamydospora</i>
	<i>Phaeoacremonium</i>	<i>P. minimum</i> , <i>P. angustius</i> , <i>P. alvesii</i> , <i>P. argentinense</i> , <i>P. armeniacum</i> , <i>P. australiense</i> , <i>P. austroafricanum</i> , <i>P. canadense</i> , <i>P. cinereum</i> , <i>P. croatiense</i> , <i>P. globosum</i> , <i>P. hispanicum</i> , <i>P. hungaricum</i> , <i>P. inflatipes</i> , <i>P. italicum</i> , <i>P. iranianum</i> , <i>P. krajdenui</i> , <i>P. mortoniae</i> , <i>P. occidentale</i> , <i>P. roseum</i> , <i>P. scolyti</i> , <i>P. sicilianum</i> , <i>P. tuscanum</i> , <i>P. venezuelense</i> , <i>P. viticola</i>
Helotiales	<i>Cadophora</i>	<i>C. luteo-olivacea</i> , <i>C. melinii</i>
Hymenochaetaceae	<i>Fomitiporia</i>	<i>F. australiensis</i> , <i>F. capensis</i> , <i>F. mediterranea</i> , <i>F. polymorpha</i> , <i>F. punctata</i>
	<i>Fomitiporiella</i>	<i>F. vitis</i>
Stereaceae	<i>Inocutis</i>	<i>I. jamaicensis</i>
	<i>Phellinus</i>	<i>P. ignarius</i>
	<i>Stereum</i>	<i>S. hirsutum</i>
Diatrypaceae	<i>Eutypa</i>	<i>E. lata</i> , <i>E. laevata</i> , <i>E. leptoplaca</i> , <i>Eutypa sp.</i> , <i>E. citricola</i>
	<i>Eutypella</i>	<i>E. cryptovalsoidea</i> , <i>E. microtheca</i> , <i>E. vitis</i> , <i>Eutypella spp.</i>

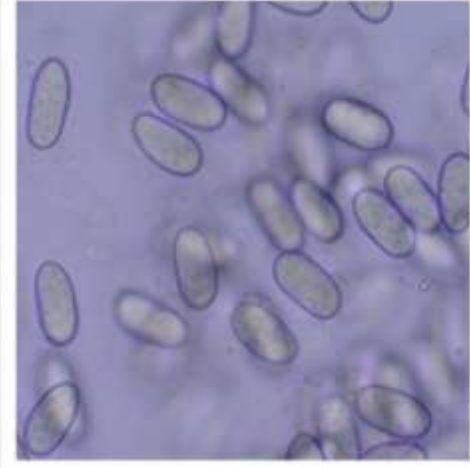
Figura 1. Promedios de avance necrótico causada por hongos inoculados en campo



avance necrotico (mm)

Tesis: Josefa Gambaro, UdeC

Diplodia mutila



Fusarium sp.

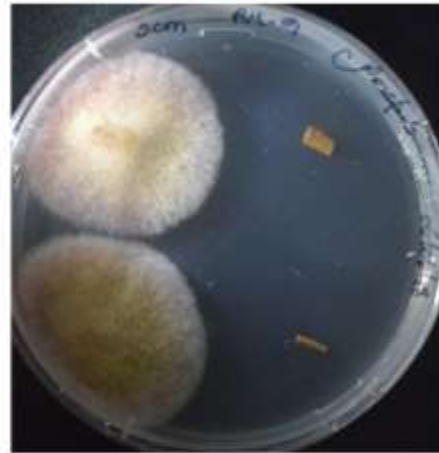
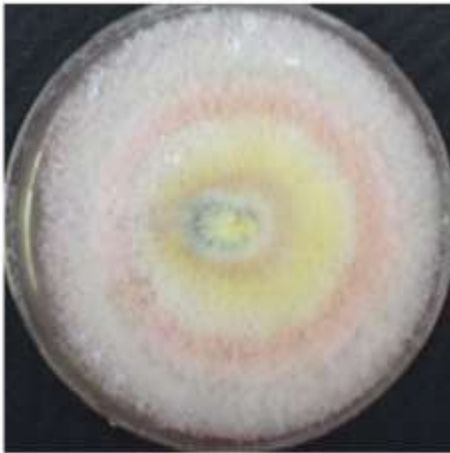
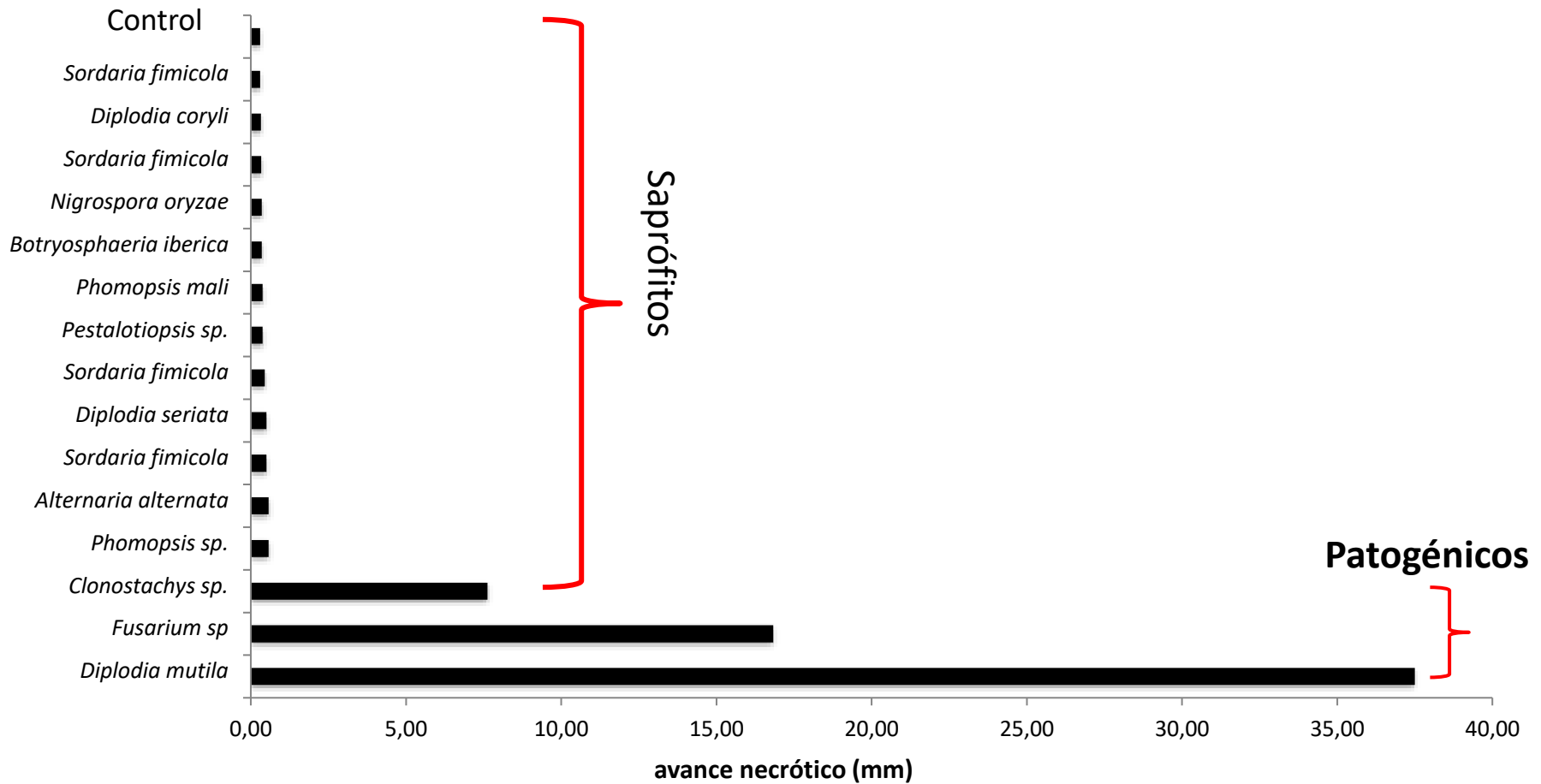


Figura 2. Promedios de avance necrótico causada por hongos inoculados en campo





Sin fungicidas



Con fungicidas



Objetivo

- Determinar la prevalencia de distintas especies de hongos asociados a necrosis y daños en madera en huertos de avellano europeo entre la Región del Maule y de la Araucanía.

Trabajo colaborativo entre:



Materiales & Métodos

Tabla 1. Descripción de región, localidades y número de huertos de nogal desde donde se obtuvieron las muestras de madera sintomática.

Región	Localidades	N° huertos
Región del Maule	Curicó (3), Alto Camarico (2), Río Claro, San Rafael, Pelarco (2), San Clemente, Santa Inés (2), Panimávida, Retiro	14
Región de Ñuble y Biobío	Coihueco (2), El Carmen (2), Duqueco	5
Región de la Araucanía	Victoria, Lautaro, Galvarino, Curacautín, Cunco, Freire, 2da Faja, Pitrufquen	8
Total		27

Valores entre paréntesis indica número de huertos de dicha localidad

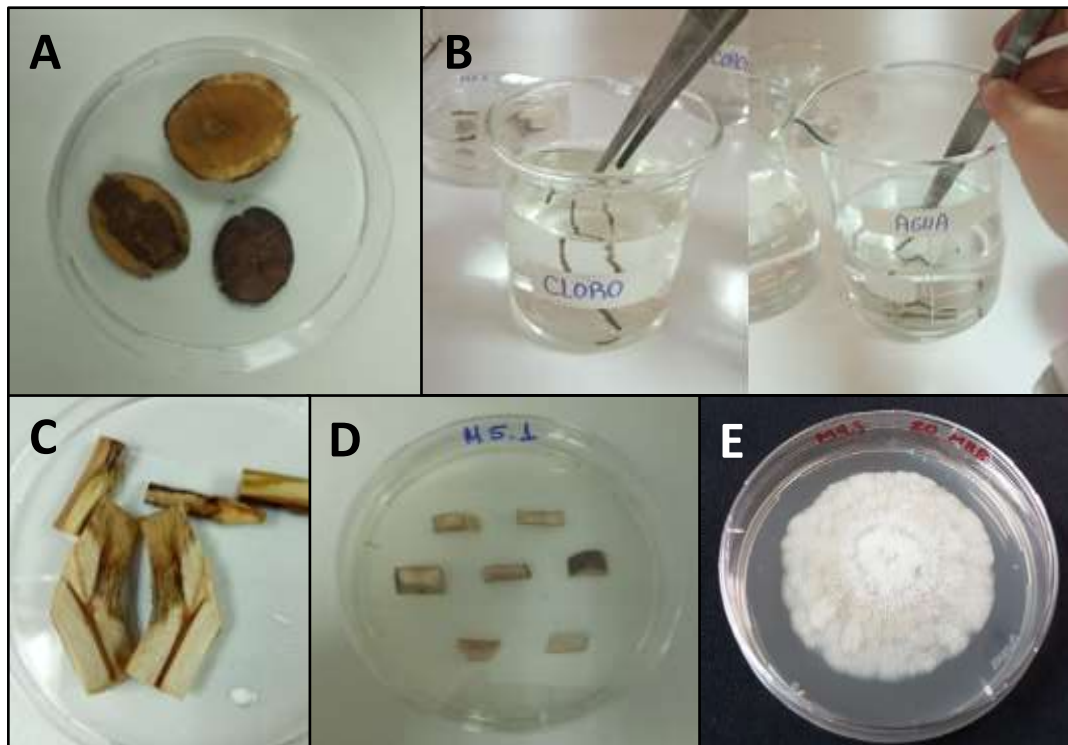
Muestreo de hongos de madera



Análisis fitopatológico del material infectado de avellano europeo:

Aislamiento de hongos

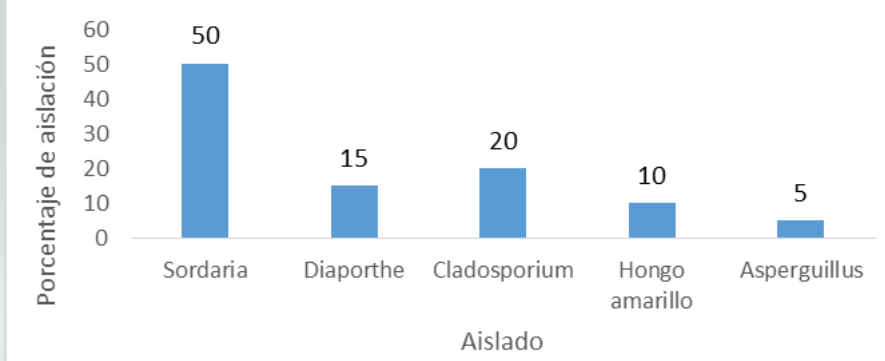
- Se tomaron muestras de ramas y brotes (A), las que fueron desinfectadas superficialmente con hipoclorito de sodio comercial al 10% (B).
- Los tejidos desinfectados se cortaron longitudinalmente (C) y se sembraron en medio agar papa dextrosa (PDA) (D). Luego de 48 horas se repicaron los hongos en medio PDA (E).





AGRICOLA EL ORATORIO (20 trozos)

- + - 10 Sordaria
- 3 Diaporthe
- 4 Cladosp
- 2 Hongo Amarillo.
- 1 Aspergillus (1 con unicolor)



- 27 predios evaluados entre la Región del Maule a la Araucanía
- Muestreo de 20 trozos por predio
- Identificación molecular de los 12 aislados más recurrentes

Identificación molecular de especie de hongos fitopatógenos:

Extracción de ADN

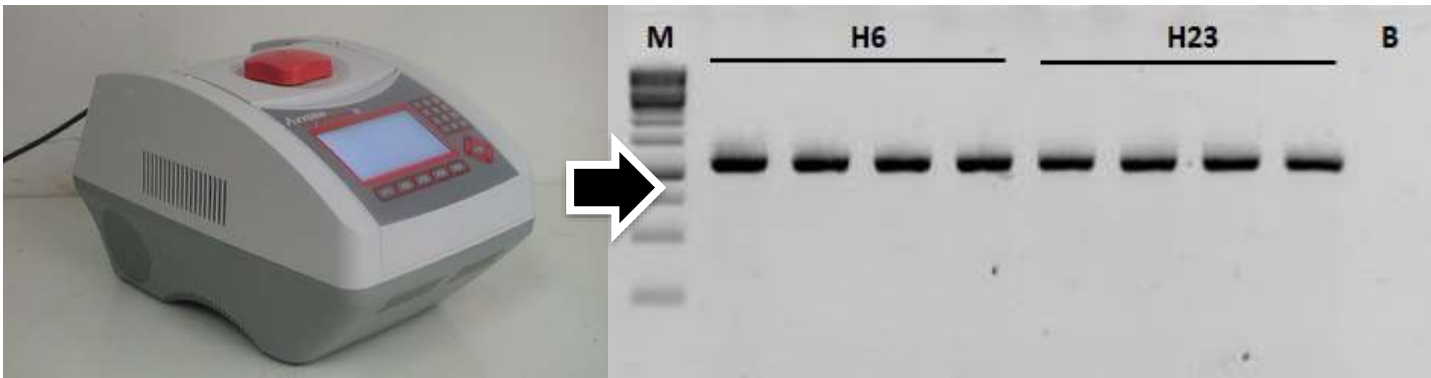
- Se extrajo ADN de aproximadamente 100 miligramos de micelio de cada hongo, mediante el método CTAB modificado, usando acetato de amonio 7,5 M e isopropanol para precipitar el ADN. Se midió concentración y pureza de las muestras mediante espectrofotometría



Identificación molecular de especie de hongos fitopatógenos:

Amplificación de genes para secuenciación

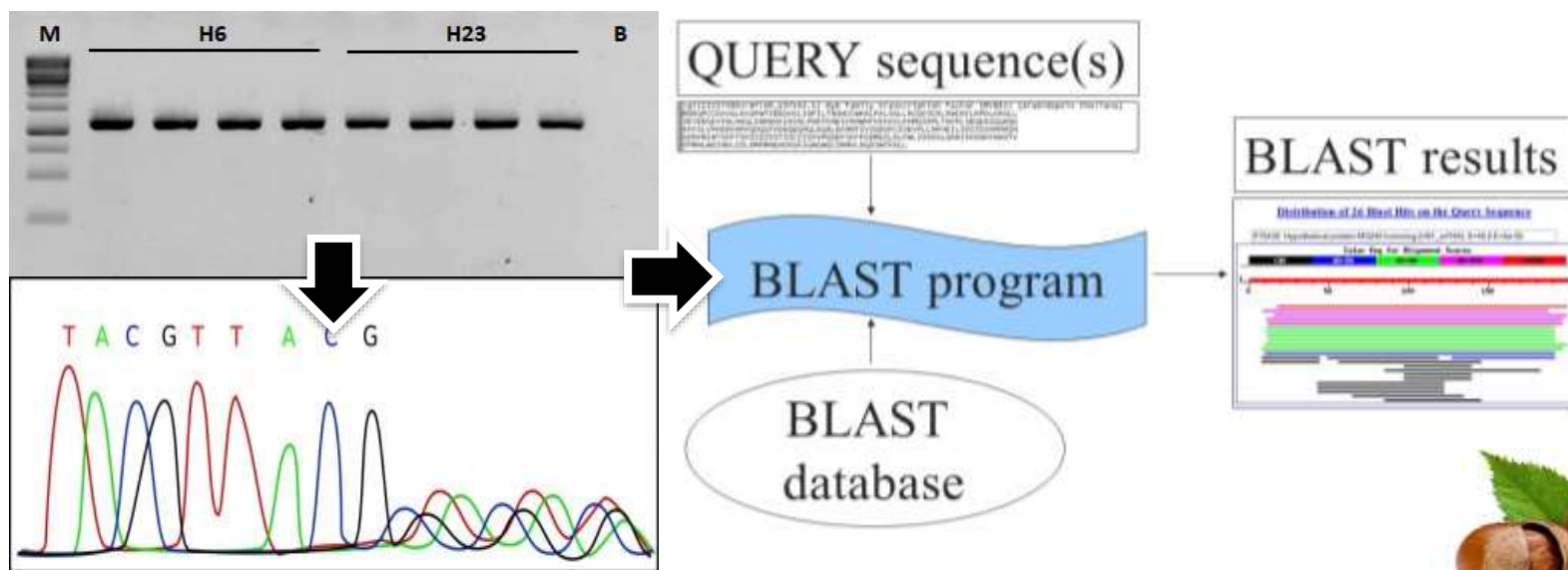
- Mediante la técnica molecular PCR (reacción en cadena de la polimerasa) se amplificaron 3 genes para su secuenciación:
 - Zona ITS,
 - Factor de elongación 1α (TEF- 1α)
 - Gen de la β - tubulina 1 y 2



Identificación molecular de especie de hongos fitopatógenos:

Análisis de secuencias

- Los productos de PCR de cada aislado se secuenciaron en la empresa Macrogen Inc. (Korea). Las secuencias obtenidas se compararon con las secuencias en la base de datos del NCBI mediante el algoritmo de alineamiento local BLAST. Finalmente se seleccionó un organismo consenso que poseía mayor similitud con la secuencia consultada.





Resultados

Resultados de análisis molecular

Especies de hongos que han sido asociados con canchros en maderera de avellano europeo como *Diaporthe ambigua*, *Diaporthe foeniculina* o *Diplodia seriata* fueron aislados recurrentemente desde huertos de avellano europeo entre la Región del Maule y de la Araucanía.

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
Coódigo	Descripción (Juan)	Sample Name	Gen	Organismo	Max Score	otal Score	Covertura	E	Identidad	Acc. Len	Accesión	pb	Organismo consenso
SA01	Alter				888	888	100%	0.0	100.00%	581	MT482506		<i>Sordaria alternata</i>
SA02	Al												<i>Sordaria alternata</i>
SA06	Dip												<i>Diplodia seriata</i>
SA07	Sord												<i>Sordaria fimicola</i>
SA08	Sordaria (Sra. Carolina)												<i>Sordaria fimicola</i>
		I08	ITS	<i>Sordaria fimicola</i>	1016	1016	100%	0.0	100.00%	581	MN341414.1	550	
				<i>Sordaria lappae</i>	1016	1016	100%	0.0	100.00%	584	MH858210.1		
		E08	TEF 1-α	<i>Sordaria fimicola</i>	337	337	100%	3.00E-88	89.17%	578	FR774388.1	272	
				<i>Sordaria macrospora</i>	333	333	100%	4.00E-87	89.09%	574	FR774389.1		
		B08	βt2	<i>Sordaria fimicola</i>	795	795	100%	0.0	97.84%	496	AY681228.1	458	
				<i>Sordaria lappae</i>	774	774	100%	0.0	97.17%	492	AY681205.1		
SA09	Hongo K												<i>Diplodia mutila</i>
		I09	ITS	<i>Diplodia mutila</i>	1003	1003	100%	0.0	100.00%	544	MT640270.1	543	
				<i>Diplodia piri</i>	1003	1003	100%	0.0	100.00%	557	MT587360.1		
		E09	TEF 1-α	<i>Diplodia mutila</i>	529	529	100%	5.00E-146	100.00%	311	MK573559.1	286	
		B09	βt2	<i>Diplodia mutila</i>	791	791	100%	0.0	100.00%	459	MG952719.1	428	
				<i>Diplodia seriata</i>	791	791	100%	0.0	100.00%	439	MG418835.1		
SA10	Hongo NCLD												<i>Neurospora dictyophora</i>
		I10	ITS	<i>Neurospora dictyophora</i>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	896	MH862539.1	574	
				<i>Gelasinospora novoguineensis</i>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	585	MH861372.1		
		E10	TEF 1-α	<i>Neurospora dictyophora</i>	464	464	98%	1.00E-126	97.45%	577	FR774348.1	276	
				<i>Gelasinospora saitoi</i>	460	460	98%	2.00E-125	97.09%	578	FR774361.1		
		B10	βt2	<i>Neurospora retispora</i>	846	846	100%	0.0	100.00%	1079	FR774309.1	458	
				<i>Neurospora dictyophora</i>	846	846	100%	0.0	100.00%	492	AY681215.1		

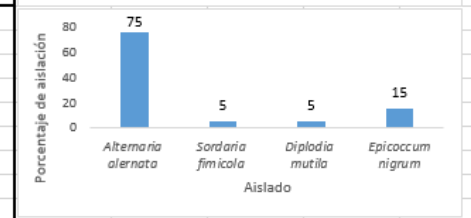
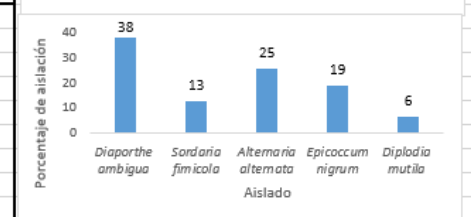
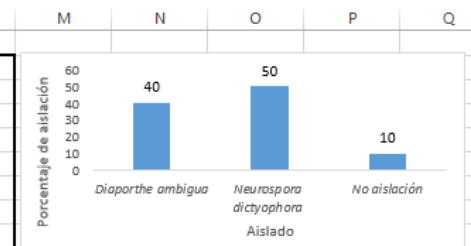
Resultado predial

HONGOS MADERA AVELLANOS, AGRICHILE, RESULTADOS (3).xlsx - Excel (Error de activación de productos)

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA PDF Architect 7 Creator Cuenta Microsoft

Calibri 11 Ajustar texto General Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	
1	Datos		Sitomatología			Resultados							
	Ubicación:	El Carmen, Región de Ñuble			Poco material verde		Aislado	Porcentaje					
	Campo:	Edward Pastén			Muestra 90 % seca		Diaporthe ambigua	40					
	Fecha:	11/3/2020					Neurospora dictyophora	50					
	Variedad:	Barcelona					No aislación	10					
2	Datos		Sitomatología			Resultados							
	Ubicación:	El Carmen, Región de Ñuble					Aislado	Porcentaje					
	Campo:	Gloria Otarola			Principalmente muerte de brotes de la temporada		Diaporthe ambigua	38					
	Fecha:	11/4/2020					Sordaria fimicola	13					
	Variedad:	Polinizante					Alternaria alternata	25					
							Epicoccum nigrum	19					
							Diplodia mutila	6					
3	Datos		Sitomatología			Resultados							
	Ubicación:	Mulchen, Región del Biobío			Muerte de brotes de la temporada		Aislado	Porcentaje					
	Campo:	Guillermo Correa					Alternaria alternata	75					
	Fecha:	11/11/2020					Sordaria fimicola	5					
	Variedad:	Giffoni					Diplodia mutila	5					
	Establecimiento	2018					Epicoccum nigrum	15					



Resultados

Tabla 3. Número de tejidos que presentaron alguno género/especie de hongos asociado a madera con daño en avellano europeo en muestreo realizado sobre 26 huertos entre la región del Maule y la Araucanía durante la temporada 2019-2020.

Región	Maule	Ñuble / Biobío	La Araucanía	Total
Huertos	13	5	8	26
★ <i>Diaporthe ambigua</i>	38	30	41	108
<i>Alternaria alternata</i>	51	28	21	100
★ <i>Sordaria fimicola</i>	74	6	21	100
<i>Neurospora dictyophora</i>	12	10	19	41
★ <i>Fusarium spp.</i>	6	8	13	27
<i>Epicoccum nigrum</i>	12	10	0	22
★ <i>Diplodia mutila</i>	16	2	0	19
<i>Aspergillus, Cladosporium, Rhizopus</i>	19	0	9	28
<i>Botrytis, Trichoderma, Basidiomyceto</i>	7	1	7	15
Otro hongos	17	4	13	34
Bacteria	0	0	3	3
Sin aislado	7	2	14	23
Total	260	100	160	520

Resultados generales

Tabla 4. Porcentaje de muestras que tuvieron algún género de hongo del total de muestras asociado a madera con daño en avellano europeo en muestreo realizado sobre 26 huertos analizados entre la región del Maule y de la Araucanía durante la temporada 2019-2020.

Región	Maule	Ñuble / Biobío	La Araucanía	Total
Huertos	50.0	19.2	30.8	100.0
★ <i>Diaporthe ambigua</i>	7.3	5.7	7.9	20.8
<i>Alternaria alternata</i>	9.8	5.4	4.0	19.2
★ <i>Sordaria fimicola</i>	14.2	1.1	4.0	19.2
<i>Neurospora dictyophora</i>	2.3	1.9	3.7	7.9
★ <i>Fusarium</i> spp.	1.2	1.5	2.5	5.3
<i>Epicoccum nigrum</i>	2.3	1.9	0.0	4.2
★ <i>Diplodia mutila</i>	3.1	0.4	0.0	3.6
<i>Aspergillus, Cladosporium, Rhizopus</i>	3.7	0.0	1.7	5.3
<i>Botrytis, Trichoderma, Basidiomyceto</i>	1.3	0.2	1.3	2.9
Otro hongos	3.3	0.8	2.5	6.6
Bacteria	0.0	0.0	0.6	0.6
Sin aislado	1.3	0.4	2.7	4.4
Total	50.0	19.2	30.8	100.0

Resultados generales

Tabla 5. Porcentaje de muestras para cada región que tuvieron algún género de hongo asociado a madera con daño en muestreo realizado sobre 26 huertos de avellano europeo entre la región del Maule y de Araucanía durante la temporada 2019-2020.

Región	Maule	Ñuble / Biobío	La Araucanía	Total
Número de huertos	13	5	8	26
★ <i>Diaporthe ambigua</i>	14.6	29.5	25.5	20.8
<i>Alternaria alternata</i>	19.6	28.0	13.1	19.2
★ <i>Sordaria fimicola</i>	28.5	5.5	12.9	19.3
<i>Neurospora dictyophora</i>	4.6	10.0	11.9	7.9
★ <i>Fusarium</i> spp.	2.4	8.0	8.1	5.3
<i>Epicoccum nigrum</i>	4.6	9.8	0.0	4.2
★ <i>Diplodia mutila</i>	6.3	2.3	0.0	3.6
<i>Aspergillus, Cladosporium, Rhizopus</i>	7.3	0.0	5.4	5.4
<i>Botrytis, Trichoderma, Basidiomyceto</i>	2.7	1.0	4.4	2.9
Otro hongos	6.5	4.0	8.2	6.5
Bacteria	0.0	0.0	1.8	0.6
Sin aislado	2.7	2.0	8.8	4.4
Total de muestras	260	100	160	100 %

Resultados por variedad o cultivar

Tabla 6. Número de tejidos sintomáticos que presentaron alguno género/especie de hongos asociado a madera con daño en distintas variedades o cultivares de avellano europeo analizados en muestreo realizado sobre 26 huertos entre la región del Maule y la Araucanía durante la temporada 2019-2020.

Variedad	Giffoni	Barcelona	Otra variedad	Sin información	Total
Número de huertos	15	4	3	4	26
★ <i>Diaporthe ambigua</i>	54	30	12	13	108
<i>Alternaria alternata</i>	65	1	8	26	100
★ <i>Sordaria fimicola</i>	69	6	14	12	100
<i>Neurospora dictyophora</i>	7	29	5	0	41
★ <i>Fusarium</i> spp.	15	1	5	6	27
<i>Epicoccum nigrum</i>	15	0	7	0	22
★ <i>Diplodia mutila</i>	17	0	1	0	19
<i>Aspergillus,</i> <i>Cladosporium, Rhizopus</i>	13	0	6	9	28
<i>Botrytis, Trichoderma,</i> Basidiomyceto	9	5	1	0	15
Otro hongos	17	4	2	11	34
Bacteria	0	0	0	3	3
Sin aislado	19	4	0	0	23
Total de muestras	300	80	60	80	520

Resultados por variedad o cultivar

Tabla 7. Porcentaje de muestras que tuvieron algún género de hongo del total de muestras asociado a madera con daño en las distintas variedades o cultivares de avellano europeo analizados en muestreo realizado sobre 26 huertos entre la región del Maule y de la Araucanía durante la temporada 2019-2020.

Región	Giffoni	Barcelona	Otra variedad	Sin información	Total
Huertos	15	4	3	4	26
★ <i>Diaporthe ambigua</i>	10.4	5.8	2.2	2.5	20.8
<i>Alternaria alternata</i>	12.4	0.2	1.5	5.1	19.2
★ <i>Sordaria fimicola</i>	13.3	1.2	2.6	2.3	19.3
<i>Neurospora dictyophora</i>	1.3	5.6	1.0	0.0	7.9
★ <i>Fusarium</i> spp.	2.9	0.2	1.0	1.2	5.3
<i>Epicoccum nigrum</i>	2.9	0.0	1.3	0.0	4.2
★ <i>Diplodia mutila</i>	3.3	0.0	0.2	0.0	3.6
<i>Aspergillus, Cladosporium, Rhizopus</i>	2.6	0.0	1.2	1.7	5.4
<i>Botrytis, Trichoderma, Basidiomyceto</i>	1.7	1.0	0.2	0.0	2.9
Otro hongos	3.2	0.8	0.4	2.1	6.5
Bacteria	0.0	0.0	0.0	0.6	0.6
Sin aislado	3.7	0.8	0.0	0.0	4.4
Porcentaje total	57.7	15.4	11.5	15.4	100.0

Consideraciones finales

- De los 108 aislados que fueron obtenidos e identificados visualmente como diaphortaceas estos podrían corresponder a distintas especies de este género fungoso. Adecuada identificación **sólo se logra utilizando herramientas moleculares.**
- Varios géneros y especies de hongos corresponden a hongos ambientales (sólo saprófitos que colonizan madera muerta) asociados a daños por heladas, sombreadamiento u otro factor abiótico no asociable a un patógeno.
- La alta recurrencia de *Alternaria alternata* sugiere realizar pruebas de patogenicidad sobre tejido vivo para validar su virulencia.

Consideraciones finales

- Especies de *Fusarium* y *Diplodia mutila*, que son patogénicas, tuvieron niveles de aislamiento del 5,3 y 3,6%, respectivamente; lo cual sugiere que su presencia es dependiente de condiciones ambientales y su infección es huerto específico.
- La presencia de Diaporthaceas fue mayor en huertos de la región del Maule y de la Araucanía, mientras *Diplodia* fue observada en predios del Maule y de la Región de Ñuble y Biobío.
- A nivel de predios en cada región se observó un aumento de especies de *Diaporthe* en las regiones de Ñuble hacia el sur, mientras *Diplodia* fue más común en la región del Maule.

Consideraciones finales

- ‘Tonda Di Giffoni’ fue el cultivar que presentó la mayor diversidad de patógenos y hongos saprófitos, probablemente asociado a mayor número de muestras analizadas, aunque se debe rescatar que tuvo alta presencia de *Diaporthe*, *Alternaria* y *Sordaria*, además se observarse alta presencia de especies de *Fusarium* y *Diplodia mutila*.
- El cv. Barcelona presentó niveles altos de infección por *Diaporthe* y *Neurospora dictyophora*.



Universidad
de Concepción



Facultad de Agronomía

CAMPUS CHILLÁN - CAMPUS CONCEPCIÓN

www.agronomiaudec.cl

“Muchas gracias por su atención”



Enfermedades de la madera, peligro latente en nuestros huertos



Presentador: **Ernesto Moya Elizondo, Profesor Asociado, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción** (e-mail: emoya@udec.cl)

Colaboradores: Braulio Ruíz S.; Juan San Martín M.; Karina Rojas D.; María José Lisperguer; Tommaso De Gregorio.

