

ÍNDICE

Capítulo I Introducción.....	1
1.1	
Hipótesis.....	3
1.2. Objetivo.....	3
1.2.1	Objetivo
específico.....	3
Capitulo II Revisión Bibliográfica.....	4
2.1 Generalidades de la producción de vides viníferas.....	4
2.1.1 Producción de vides viníferas en Chile.....	4
2.1.2 Principales variedades cultivadas en Chile.....	5
2.2 Generalidades morfológicas y fenología de la vid.....	5
2.3 Enfermedades de la Vid.....	5
2.4 Enfermedades de la madera.....	6
2.4.1 Eutipiosis (Eutypa dieback o muerte regresiva).....	7
2.4.2 Yesca.....	8
2.4.3 Brazo muerto (Botryosphaeria dieback).....	8
2.4.4 Enfermedad de Petri.....	9

2.4.5				Pie		
Negro.....				9		
2.5	Hongos	de	la	madera	presentes	en
Chile.....						9
2.6		Identificación		Morfológica		y
molecular.....						10
Capítulo		III		Materiales		y
métodos.....						12
3.1			Ubicación			del
estudio.....						12
3.2	Muestreo.....					12
3.3		Aislamiento		de		los
hongos.....						12
3.4	Identificación Morfológica.....					13
3.5	Identificación Molecular.....					13
3.5.1	Protocolo de extracción de ADN genómico de tejido de planta.....					13
3.5.2	Electroforesis de la extracción de ADN fúngico.....					15
3.5.3	Amplificación del ADN.....					15
3.5.4	Procedimiento para enviar a secuenciar las muestras de ADN de hongos.....					16
3.3.4	Identificación molecular por Blast.....					16
3.3.5	Análisis filogenético.....					16
Capítulo IV Resultados.....						18
4.1	Muestreo.....					18
4.2	Síntomas característicos.....					20
4.3	Identificación morfológica.....					21
4.4	Identificación molecular.....					23

4.5 Identificación general de hongos en plantas asintomáticas.....	25	
4.6 Frecuencia de aislamiento de hongos asociados a la madera en el total de plantas.....	26	
4.7 Frecuencia de aislamiento de hongos en el total de las muestras según distribución geográfica, edad y cultivar.....	26	
Capítulo V Discusión.....	31	
Capítulo VI Conclusión.....	34	
Capitulo	VII	Citas
bibliográficas.....	35	

INDICE DE CUADROS

- Cuadro 2.1.** Superficie nacional y distribución geográfica de plantaciones de vides viníferas blancas y tintas, expresadas en miles de hectáreas.....4
- Cuadro 3.1.** Secuencias de nucleótidos de los partidores utilizados en la amplificación de los genes; gen de la región espaciador interno transcrito (ITS).....15
- Cuadro 3.2.** Concentración y cantidades de cada reactivo para la elaboración del mix de PCR por muestra para el gen de la región del espaciador interno transcrito (ITS).....15
- Cuadro 3.3.** Aislados obtenidos desde el Genbank mediante el alineamiento básico de secuencias (Blastn) para incluir en análisis filogenético.....17
- Cuadro 4.1.** Frecuencia de aislamiento de hongos de la madera desde vid vinifera, en distintas regiones de Chile, cultivares y edades.....19
- Cuadro 4.2.** Caracteres morfológicos de las conidias de algunas especies de hongos.....21
- Cuadro 4.3.** Identificación molecular de los aislados fungosos asociados a enfermedades de la madera mediante análisis de Blast para el gen Internal transcribed space (ITS).....23

INDICE DE FIGURAS

- Figura 4.1.** Distribución geográfica de los viñedos muestreados pertenecientes a la viña San Pedro (rojo) y viña Concha y Toro (amarillo), ubicados en las regiones de Valparaíso, Metropolitana, L.B. O'Higgins y del Maule.....18
- Figura 4.2.** Síntomas externos asociados a enfermedades de la madera, clorosis y necrosis en hojas (a y b), entrenudos cortos (c) y muerte regresiva (d).....20
- Figura 4.3.** Secciones transversales de cordones o troncos enfermos, con síntomas internos obtenidos desde viñedos chilenos. Pudrición dura (a), pudrición blanda (b) y vasos xilemáticos necrosados (c).....20
- Figura 4.4.** Estructuras asexuales (conidias) observadas bajo microscopio óptico con zoom de 60x, *Eutypa lata* (A), *Diplodia seriata* (B), *Leptosphaerulina chartarum* (C) y *Seimatosporium lichenicola* (D).....22
- Figura 4.5** Aislados de hongos de la madera. *Phaeomoniella chlamydospora* (a) *Diplodia seriata* (b), *Eutypa lata* (c), Basidiomycete (d), *Neofusicoccum parvum* (e), *Seimatosporium lichenicola* (f).....22
- Figura 4.6.** Análisis y comparación de las secuencias de la región intergénica ITS del ADNr con secuencias depositadas en GenBank condujo a la identificación de Botryosphaeriaceae (*Diplodia seriata* y *Neofusicoccum parvum*), y otras especies tales como *Phaeomoniella chlamydospora*, Basidiomycota sp., *Seimatosporium lichenicola*, *Eutypa lata*, *Leptosphaerulina chartarum* y *Biscogniauxia* sp., asociados a enfermedades de la madera en otros frutales en el GenBank. El árbol fue enraizado con secuencia de *Monilinia fructigena* (GenBank No. AJ745715).....24
- Figura 4.7.** Frecuencia de aislamiento (%) de aislados fúngicos desde plantas asintomáticas (n=28) destacando Botryosphaeriaceae y Basidiomycetes.....25
- Figura 4.8.** Frecuencia de aislamiento (%) de hongos obtenidos desde plantas con síntomas correspondientes a las enfermedades de la madera (n=280).....26

Figura 4.9 Gráficos de frecuencia de aislamiento de distintos hongos según distribución geográfica, dentro de las regiones de Valparaíso (n=50), L.B. O'Higgins (n=80), del Maule (n=110) y Metropolitana (n=40).....28

Figura 4.9.1 Gráficos de frecuencia de aislamiento de distintos hongos según edad del viñedo. Distribuido en cuatro rango de edades 1 a 10 años (n=10), 11 a 20 años (n=190), 21 a 30 años (n=60) y mayores a 30 años (n=10).....29

Figura 4.9.2 Gráficos de frecuencia de aislamiento de distintos hongos según el cultivar. C.S: Cabernet Sauvignon (n=170), Sy: Syrah (n=30), Car: Carménère (n=10), Cha: Chardonnay (n=50), S.B: Sauvignon Blanc (n= 10) y P.N: Pinot Noir (n=10).....30