

**“OJO DE BUEY” (*Neofabraea alba*) EN MANZANAS ‘CRIPPS PINK’:
IDENTIFICACIÓN, CONTRIBUCIÓN EPIDEMIOLÓGICA Y
CONTROL EN CHILE**

**SYLVANA DE LOS ANGELES SOTO ALVEAR
DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS**

RESUMEN

La pudrición ‘ojo de buey’ es una enfermedad importante en manzanas y peras en el mundo. En Chile, sólo se ha documentado su presencia en manzanas causado por *Neofabraea alba*. En prospecciones realizadas se ha observado una expresión sintomatológica diferenciada, por lo que el objetivo de este trabajo fue identificar las especies asociadas a ‘ojo de buey’ en manzanas ‘Cripps Pink’ en Chile. Además, determinar el periodo crítico del desarrollo de ‘ojo de buey’ en ‘Cripps Pink’, el efecto predisponente de lluvias ocurridas inmediatamente previas a la cosecha y el efecto de tratamientos de pre y postcosecha con distintos fungicidas. El 2008 y 2009 se obtuvieron aislados provenientes de 38 huertos ubicados en diferentes zonas agroclimáticas, secuenciando parte del gen de beta tubulina de 180 aislados, siendo todos ellos *N. alba*. A partir de las secuencias se modificaron los partidores descritos por Gariépy *et al.* (2003) para *N. alba* los cuales amplificaron en 229 aislados. La prevalencia de ‘ojo de buey’ de los 20 huertos de la Región del Maule, se correlacionó linealmente con la precipitación total ocurrida 30 días previos a la cosecha. También, se realizaron inoculaciones en ‘Cripps Pink’, las efectuadas a partir de 30 días previos a la cosecha, obtuvieron valores entre 40 y 55% de prevalencia de ‘ojo de buey’ en la zona de inoculación, siendo los frutos significativamente más susceptibles a *N. alba* que las realizadas con anterioridad. El 2007 y 2008 se sometieron a tratamientos por inmersión con pirimetanil, fludioxonil y tebuconazole; durante el 2009 y 2010 se realizaron aplicaciones de precosecha con hidróxido de cobre y fosfito de potasio. Los testigos presentaron una prevalencia entre 84,5 y 22,6%. La eficacia de los tratamientos estas entre 30,4 y 80,2%. No obstante, los tratamientos de precosecha (54 y 80,2%) fueron más eficaces que las aplicaciones de postcosecha (30,4 y 58,3%).

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *Neofabraea alba* COMO CAUSANTE DE LA ENFERMEDAD 'OJO DE BUEY' EN MANZANAS 'CRIPPS PINK' EN LA ZONA PRODUCTORA DE CHILE

RESUMEN

Las manzanas de cultivares tardíos como 'Cripps Pink' en Chile, desde el 2001, se han visto afectadas por la pudrición 'ojo de buey', producida por *Neofabraea* spp. En Chile, el agente causal se identificó morfológicamente como *N. alba*. Sin embargo, en prospecciones realizadas se ha observado una expresión sintomatológica diferenciada. El objetivo de este trabajo fue identificar las especies de *Neofabraea* asociadas a la pudrición 'ojo de buey' en manzanas 'Cripps Pink' en Chile. Para esto, en el 2005, se obtuvieron 10 aislados provenientes de frutas en almacenaje refrigerado, siendo secuenciado los sectores ITS del ADN ribosomal, identificando los aislados como *N. alba*. Posteriormente, el 2008 y 2009 se obtuvieron aislados provenientes de 38 huertos ubicados en diferentes zonas agroclimáticas productoras de manzanas de Chile (33°20'- 38°06'S, 70°52'- 72°51'O), secuenciando parte del gen de beta tubulina de 180 aislados, siendo todos ellos *N. alba*. A partir de las secuencias de beta tubulina se modificaron los partidores especie específico descritos por Gariépy *et al.* (2003) para *N. alba* los cuales amplificaron en 229 aislados. Los aislados asociados a 'ojo de buey' se caracterizaban por la presencia o ausencia de halos de crecimiento concéntricos, por un avance interno en forma circular o de cono, y por el color superficial de la pudrición obtenida las que mayoritariamente fueron pardas. Los huertos muestreados de manzanas se ubican en una amplia zona geográfica, con variadas condiciones agroclimáticas, presentando mayor prevalencias en zonas con precipitación promedio anual superiores.

IDENTIFICATION OF *Neofabraea alba* CAUSING 'BULL'S EYE' ROT OF CRIPPS PINK APPLES IN THE PRODUCTION AREA OF CHILE

ABSTRACT

Apple late harvest cultivars like 'Cripps Pink' in Chile, since 2001, have been affected by 'bull's eye' rot, produced by *Neofabraea* spp. The causal agent was identified morphologically as *N. alba*. However, in apple orchard has been observed a different symptom expression. The objective of this study was to identify the species associated to *Neofabraea* causing 'bull's eye' rot in 'Cripps Pink' apples in Chile. For this, in 2005, 10 isolates were obtained from fruits in cold storage. For them and ITS DNA ribosomal fragment was sequenced, identifying the isolates as *N. alba*. Later, in 2008 and 2009, for 180 isolates obtained from 38 orchards located at different climatic zones of the apple production area in Chile (33° 20' - 38° 06'S, 70° 52' - 72° 51'W), the beta tubulin gene was sequenced, being classified all of them as *N. alba*. Using the beta tubulin sequences, primers described by Garipey et al. (2003) for *N. alba* were modified, amplifying 229 isolates. Symptoms associated with 'bull's eye' rot are characterized by the presence or absence of concentric growth halos, internal advancement in a circle or a cone, and the surface color of the decay, mostly brown. Apple orchards sampled are located in an extensive geographical area of Chile, with different agro-climatic conditions, presenting a higher prevalence of the disease, areas with a higher annual precipitation.

SUSCEPTIBILIDAD DE MANZANAS 'CRIPPS PINK' Y EFECTO DE LAS LLUVIAS SOBRE EL 'OJO DE BUEY' (*Neofabraea alba*)

RESUMEN

La pudrición 'ojo de buey' es una enfermedad importante en manzanas y peras en el mundo. En Chile, sólo se ha documentado su presencia en manzanas causado por *Neofabraea alba*. La fruta se infecta en el huerto, previo a la cosecha y se mantiene en estado de latencia al interior de las lenticelas de la fruta, donde permanece hasta desencadenar la pudrición. Este estudio tuvo por objetivos determinar el periodo crítico al desarrollo del 'ojo de buey' en manzanas 'Cripps Pink' y el efecto predisponente de lluvias ocurridas inmediatamente previas a la cosecha. Para lograr este objetivo, se recolectó fruta durante la cosechas 2008 y 2009, provenientes de 20 huertos ubicados en diferentes zonas de la Región del Maule (34°51'- 36°18'S, 71°00'-71°43'O). La prevalencia de 'ojo de buey' se correlacionó linealmente con la precipitación total ocurrida 30 días previos a la cosecha. Con el propósito de evaluar el efecto del agua libre sobre la prevalencia de 'ojo de buey' se estableció, un sistema de aspersión elevado de manera de mojar los frutos por 0, 3, 6 y 9 h a los 45 y 30 días antes de la cosecha comercial, existiendo un efecto significativo del tiempo de fruto mojado. Por último, se realizaron inoculaciones en manzanas 'Cripps Pink' previo a la cosecha, las inoculaciones efectuadas a partir de 30 días previos a la cosecha durante el 2008 y 2009, obtuvieron valores entre 40 y 55% de prevalencia de 'ojo de buey' en la zona de inoculación, siendo los frutos significativamente más susceptibles a *N. alba* aproximadamente 30 días previos a la cosecha.

**SUSCEPTIBILITY OF 'CRIPPS PINK' APPLES AND EFFECT OF RAIN ON
THE PREVALENCE OF 'BULL'S EYE' ROT (*Neofabraea alba*)**

ABSTRACT

'Bull's eye' rot of apples and pears is an important postharvest disease in the world. In Chile, it has been only reported for apples caused by *Neofabraea alba*. Infections occur in the orchard, prior to harvest and the pathogen remain latent within the lenticels of the fruit, until conditions trigger the rot. The purpose of this study it was to determine the critical period for the development of 'bull's eye' rot in apples 'Cripps Pink' and the effect of rainfall immediately prior to harvest on the infection. For two growing seasons (2008 and 2009) fruit was harvested from 20 orchards located at different areas in the Maule Region (34° 51'-36° 18'S, 71° 00'-7° 43'W). The results obtained indicated a linear correlation between the prevalence of 'bull's eye' rot and the total rainfall occurred 30 days before harvest. With the purpose to evaluate the effect of free water on the prevalence of 'bull's eye' rot, an elevated sprinkler system was used to wet the fruit for 0, 3, 6 and 9 h, 45 and 30 days before the commercial harvest. The length of time the fruit remain wet has a significant effect on the infection. Finally, apples 'Cripps Pink' were inoculated with the fungus at different times in 2008 and 2009. The result obtained indicated that the fruits are significantly more susceptible to *N. alba* approximately 30 days before harvest.

**EFFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS FUNGICIDAS DE PRE Y
POSTCOSECHA PARA EL CONTROL DE 'OJO DE BUEY' EN MANZANAS
'CRIPPS PINK'**

RESUMEN

'Ojo de buey' (*Neofabraea alba*) en Chile se ha convertido en una importante enfermedad de postcosecha, especialmente de cosecha tardía como 'Cripps Pink'. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de tratamientos de pre y postcosecha con distintos fungicidas en el control de 'ojo de buey' en 'Cripps Pink'. Para esto, el 2007 y 2008 se sometieron a tratamientos por inmersión con fungicidas inmediatamente después de la cosecha. El 2007 se probó 62,5 y 150 ml/Hl de pirimetanil y fludioxonil, respectivamente. El 2008, se probó 62,5 y 125 ml/Hl de pirimetanil, 200 y 250 ml/Hl fludioxonil y 150 ml/Hl tebuconazole. Durante el 2009 y 2010 se realizaron aplicaciones de precosecha. El 2009, se realizó una aplicación, evaluando 120, 160 y 200 ml/Hl de hidróxido de cobre y 300 ml/Hl fosfito de potasio. El 2010 se realizaron dos aplicaciones, evaluando 100, 120 y 160 ml/Hl de hidróxido de cobre y 300 ml/Hl fosfito de potasio. Los testigos presentaron una prevalencia entre 84,5 y 22,6%. Al comparar la eficacia, tanto de las estrategias de pre y postcosecha que se diferenciaron estadísticamente de los testigos, estas controlaron entre un 30,4 y 80,2%, con respecto al testigo. No obstante, los tratamientos de precosecha (54 y 80,2%) fueron más eficaces que las aplicaciones de postcosecha (30,4 y 58,3%). Las aplicaciones de precosecha tendrían como ventaja asperjar la madera del árbol conjuntamente con la fruta, lo que permitiría reducir el potencial de inóculo.

**SUSCEPTIBILITY OF 'CRIPPS PINK' APPLES AND EFFECT OF RAIN ON
THE PREVALENCE OF 'BULL'S EYE' ROT (*Neofabraea alba*)**

ABSTRACT

'Bull's eye' rot of apples and pears is an important postharvest disease in the world. In Chile, it has been only reported for apples caused by *Neofabraea alba*. Infections occur in the orchard, prior to harvest and the pathogen remain latent within the lenticels of the fruit, until conditions trigger the rot. The purpose of this study it was to determine the critical period for the development of 'bull's eye' rot in apples 'Cripps Pink' and the effect of rainfall immediately prior to harvest on the infection. For two growing seasons (2008 and 2009) fruit was harvested from 20 orchards located at different areas in the Maule Region (34° 51'-36° 18'S, 71° 00'-7° 43'W). The results obtained indicated a linear correlation between the prevalence of 'bull's eye' rot and the total rainfall occurred 30 days before harvest. With the purpose to evaluate the effect of free water on the prevalence of 'bull's eye' rot, an elevated sprinkler system was used to wet the fruit for 0, 3, 6 and 9 h, 45 and 30 days before the commercial harvest. The length of time the fruit remain wet has a significant effect on the infection. Finally, apples 'Cripps Pink' were inoculated with the fungus at different times in 2008 and 2009. The result obtained indicated that the fruits are significantly more susceptible to *N. alba* approximately 30 days before harvest.