LITORALPRESS

Fecha: 31-05-2025
Medio: Revista Redagrícola
Supl. : Revista Redagrícola
Tipo: Noticia general
Título: **Microbiota fúngica del cerezo y sus implicancias en el manejo sustentable de pudriciones por Botrytis y Alternaria**

Pág. : 34
Cm2: 764,2

Tiraje: 9.000
Lectoría: 18.000
Favorabilidad: No Definida

Check Fast Cherry:

Microbiota fúngica del cerezo y sus implicancias en el manejo sustentable de pudriciones por Botrytis y Alternaria

Sorprendentes en muchos sentidos son los resultados obtenidos hasta ahora en el proyecto que en solo 48 horas facilitará la información para la estrategia de control más eficaz de estos agresivos patógenos.

POR **MARCELA ESTERIO G.**, ING. AGR. MG. CS.; **J. AUGER S.**, ING. AGR. M.S. PH.D.; **H. SILVA A.**, BIOQUÍM., PH.D.; **C. OSORIO-NAVARRO**, ING. BIOTEC. MG. CS. DR.(C); **M. AZÓCAR M.**, ING. AGR., Y **M. CARREÑO C.**, ING. AGR.
LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA FRUTAL Y MOLECULAR, UNIVERSIDAD DE CHILE

En los próximos años, cuando las hectáreas plantadas más recientemente alcancen su plena producción, para obtener resultados económicos realmente interesantes deberemos aunar los esfuerzos con el fin de producir y exportar fruta de óptima calidad, de modo que será fundamental conocer muy bien y de manera oportuna la condición de la fruta. Una predicción real de cómo se encontrará a su llegada a los mercados de destino evitará tener sorpresas negras en escenarios de sobreoferta o ante imprevistos no manejables por el sector productivo, como ocurrió en 2024/25.

Dos de los principales problemas fitopatológicos que afectan a las cerezas son las pudriciones asociadas a *Botrytis* spp. y *Alternaria* spp. Debido a ello, distintos grupos de investigadores de universidades, centros de investigación y laboratorios privados comerciales, han estado trabajando junto a la industria con el fin de realizar un manejo efectivo y sustentable de dichos patógenos que lleve a producir fruta de óptima calidad.

El Laboratorio de Fitopatología Frutal y Molecular de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile está ejecutando, desde diciembre de 2023, un estudio cuyo objetivo fundamental es generar una herramienta de diagnóstico que permita al productor exportador conocer el nivel de infección por los patógenos mencionados, de manera simultánea y en forma oportuna, en floración y en precosecha, directamente a partir de tejido vegetal. Lo hemos denominado Check Fast Cherry, técnica molecular que entregará los resultados a la industria en tan solo 48 horas. Así permitirá diseñar programas de control acordes a las condiciones de la fruta y servirá de apoyo para tomar decisiones respecto de mercados de destino, o sea a dónde enviamos y cuándo vendemos.

Se trata de una técnica homóloga a la que ya generamos y validamos para uva de mesa, pero resultará aún más precisa al estar asociada a una sonda TaqMan especie específica.

RESULTADOS DE LA MICROBIOTA FÚNGICA DEL CEREZO

El primer paso correspondió al estudio de la diversidad y abundancia de la microbiota fúngica del cerezo en los dos periodos más críticos de infección: floración y desde fruto pajizo a cosecha.

¿Por qué hicimos esto? Bueno, esta información era básica para desarrollar la técnica, ya que se requiere diseñar partidores específicos y la sonda especie específica que deben anidar (reconocer) simultáneamente solo a Botrytis y Alternaria, y a ningún otro hongo. Con el propósito indicado, en las últimas dos temporadas, se efectuaron varias colectas de flores y frutos de dos variedades de cerezo de huertos localizados en las regiones de O'Higgins (San Fernando) y del Maule (Teno y Los Niches). Los aislados recuperados se identificaron macroscópica y microscópicamente, y después mediante análisis moleculares –secuenciación de ADN, filogenia molecular multilocus, análisis de qPCR-HRM y de polimorfismos (RFLP)–. Nos encontramos con varias sorpresas que a continuación analizaremos.

En total se analizaron 404 aislados fungosos recuperados desde flores y frutos de cerezo asintomáticos, predominando en este número los correspondientes a los géneros de Botrytis y Alternaria; también, en menor frecuencia, aislados de los géneros Aspergillus y Trichoderma, y unos pocos aislados de otros géneros fungosos (cuadro 1).

En general, los resultados indican que la microbiota fúngica asociada a flores y frutos de cerezo presenta más diversidad en la región del Maule que en O'Higgins. Es un resultado lógico porque a mayor latitud sur comúnmente el clima se vuelve más húmedo, favoreciendo el desarrollo de este tipo de patógenos (figura 1 b y c). Además,

Cuadro 1. Microbiota fúngica del cerezo. Número de aislados recuperados por género fungoso desde flores y frutos de cerezos variedades Bing y Sweetheart. Temporadas 2023/24 y 2024/2025.

Géneros fungosos recuperados	Flor	Fruto	Total
Botrytis sp.	56	142	198
Alternaria spp.	54	44	98
Trichoderma	16	3	19
Fusarium	2	4	6
Aspergillus	33	8	41
Penicillium	0	3	3
Aureobasidium	0	10	10
Aislados en etapa de identificación	23	6	29
Total	184	220	404

www.litoralpress.cl

LITORALPRESS

Fecha: 31-05-2025
Medio: Revista Redagrícola
Supl. : Revista Redagrícola
Tipo: Noticia general
Título: **Microbiota fúngica del cerezo y sus implicancias en el manejo sustentable de pudriciones por Botrytis y Alternaria**

Pág. : 35
Cm2: 756,9

Tiraje: 9.000
Lectoría: 18.000
Favorabilidad: No Definida

Figura 1. Composición (%) de la microbiota fúngica recuperada del cerezo: total, según origen regional y según tejido muestreado (flores o frutos).

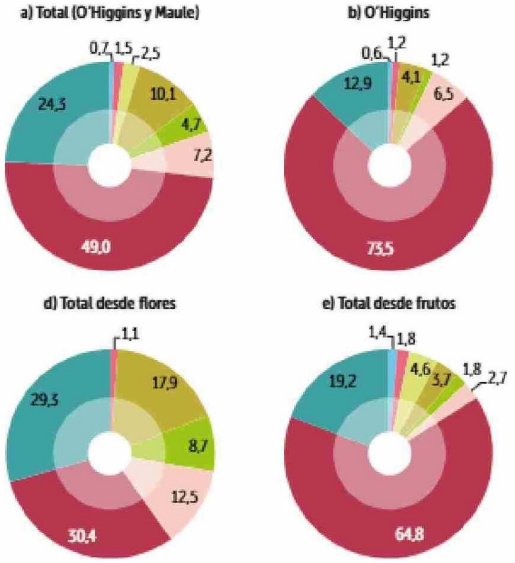
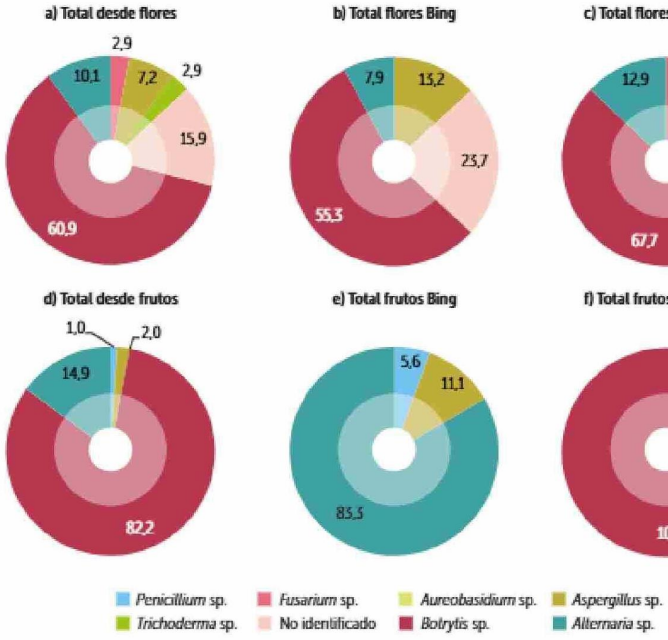


Figura 2. Detalle de la composición de la microbiota fúngica del cerezo de la región de O'Higgins recuperada desde flores y frutos, total y por variedad (%).



los resultados señalan que la microbiota es más diversa en fruto que en flor, asimismo bastante lógico, por el aumento de sólidos solubles en la madurez de la fruta (figura 1 d y e). También se detectaron cambios en la frecuencia de los géneros predominantes en una misma región de flor a fruto; por ejemplo, en O'Higgins en flor en Bing y en Sweetheart predominó Botrytis (figura 2 b y c), en cambio en fruto en Bing predominó Alternaria, y en Sweetheart solo Botrytis (figura 2 d y e). En la región del Maule en las dos variedades en flor predominó más Alternaria que Botrytis (figura 3 b y c); y en fruto en Bing más Alternaria y en Sweetheart más Botrytis (figura 3 e y f).

Por otro lado, si consideramos el total de los aislados de los géneros fungosos detectados en la microbiota (cuadro 1), independientemente de la región y variedad analizada, Botrytis y Alternaria se presentaron en un nivel bastante similar en floración. Sin embargo, en fruto fue Botrytis el patógeno que evidenció una mayor frecuencia, cercana al 65% de la población fungosa recuperada en ese periodo, y Alternaria solo a un 20%. Ahora bien, si consideramos el total de individuos colectados, los aislados asociados a Botrytis corresponderían aproximadamente al 49% y los de Alternaria a un 24%

Interesantemente, en el caso de Trichodermas las detecciones se realizaron más en flor que en fruto, lo mismo que los aislados de Aspergillus. En cambio, solo 3 de los aislados correspondieron a Penicillium y fueron recuperados únicamente en fruto. Por otra parte, es importante señalar que se detectaron formando parte de la microbiota algunos hongos Basidiomicota y Cladosporium que actualmente están en proceso de identificación.

DETECCIÓN DE ESPECIES DE ALTERNARIA NO REPORTADAS PARA CEREZO EN CHILE

La etapa siguiente era determinar mediante análisis moleculares a qué especies de Alternaria y de Botrytis correspondían los aislados que formaban parte de la microbiota del cerezo.

En el caso de los aislados de Alternaria, al realizar la secuenciación y posterior análisis de filogenia molecular multilocus, analizando tres genes (*Alternaria alternata* alérgeno 1, Alta1; calmodulina, CMD, y la ATPasa de la membrana plasmática) e incluyendo 97 especies del género Alternaria, hallamos dos de las tres especies más frecuentemente detectadas en el país en cerezas: *A. alternata* y 3 clados de *A. arborescens*. No detectamos la presencia de *A. tenuissima* recientemente re-

www.litoralpress.cl

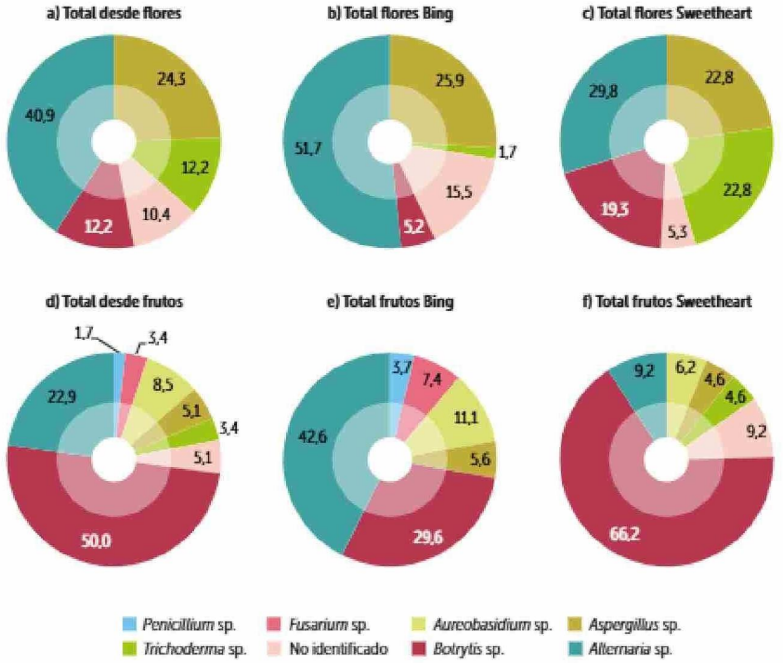
LITORALPRESS

Fecha: 31-05-2025
Medio: Revista Redagrícola
Supl. : Revista Redagrícola
Tipo: Noticia general
Título: **Microbiota fúngica del cerezo y sus implicancias en el manejo sustentable de pudriciones por Botrytis y Alternaria**

Pág. : 36
Cm2: 773,8

Tiraje: 9.000
Lectoría: 18.000
Favorabilidad: No Definida

Figura 3. Detalle de la composición de la microbiota fúngica del cerezo de la región del Maule recuperada desde flores y frutos, total y por variedad (%).



portada en el país en cerezas. Además de las especies indicadas, se detectaron cuatro especies de Alternaria que no habían sido reportadas para cerezo en Chile (*A. cerialis*, *A. lini*, *A. destruens* y *A. herbiphorbicola*) y, adicionalmente, se detectó una posible nueva especie de Alternaria (**), actualmente bajo estudio (figura 4a). Es importante señalar que la especie que se presentó con mayor frecuencia fue *A. arborescens* (cuadro 2).

Cuadro 2. Frecuencia (%) de especies y clados de Alternaria en flor y fruto.

Alternaria spp.	Flor (%)	Fruto (%)
A. alternata	16,7	4,6
A. arborescens	59,3	56,8
*A. cerialis**	0	6,8
*A. lini**	3,7	9,1
*A. destruens**	3,7	4,6
Alternaria sp.**	5,6	11,4
*A. herbiphorbicola**	11,1	6,8
	100	100

* Especies previamente no reportadas para cerezo.
** Especie nueva detectada del género Alternaria (actualmente en estudio).

Cuadro 3. Frecuencia (%) de aislados de cada clado de Botrytis en flor y fruto.

Botrytis spp.	Flor (%)	Fruto (%)
Clado I	85,7	81,7
Clado II	14,3	16,9
Clado III	0	1,4
	100	100

En el caso de los aislados correspondientes a Botrytis, al realizar filogenia molecular multilocus analizando 3 genes (gliceraldehído; 3P deshidrogenasa, G3PDH; proteína de shock térmico 60, HSP60, y ARN polimerasa 2, RPB2), al incluir en el análisis a 34 especies validadas dentro del género Botrytis, los aislados recuperados se agruparon en tres clados (grupos) distintos. El mayor número de aislados se ubicó en el clado I, correspondiente a *Botrytis cinerea sensu stricto*; otro conjunto numeroso, que corresponde también a *B. cinerea*, en el clado II, y solo dos aislados *B. cinerea* en el clado III (figura 4 b y cuadro 3).

RECONOCIMIENTO EN UNA SOLA REACCIÓN

Una vez analizada la microbiota fúngica predominante del cerezo, se procedió a diseñar los partidores y sondas especie específicas. Estas son las herramientas que nos permitirán reconocer y cuantificar el nivel de infección por Botrytis y Alternaria en una misma reacción, y, lo más importante: dichos partidores no deben anidar con el ADN de los otros hongos detectados en la microbiota ni con el ADN del cerezo. El problema era que nunca pensamos que nos íbamos a encontrar con más de tres especies de Alternaria, lo cual hacía más difícil la tarea, porque era necesario reconocer a todas las especies detectadas. Considerando los clados de algunas de estas alternarias, suman siete especies y además a Botrytis (ver figura 4 a y b, la cual será publicada a tamaño completamente legible en la versión del artículo de la web Redagrícola). Bueno, lo hicimos. Como puede observarse en la figura 5, los partidores diseñados reconocen en una misma reacción a todas esas especies, y lo corroboramos realizando un análisis de longitud de polimorfismos de restricción (RFLP, ver figura 6).

Lo antes indicado es un hito nunca antes obtenido, de gran importancia ya que, cuando se adicione al sistema la sonda diseñada, vamos a poder reconocer todas las especies predominantes y diagnosticar el nivel de infección total de dos de los principales hongos asociados con pudriciones y deterioro de la fruta del cerezo de manera OPORTUNA, en TIEMPO REAL, desde TEJIDO VEGETAL (flores y frutos) en SOLO 48 horas luego de ingresadas las muestras al Laboratorio de Fitopatología Frutal y Molecular. Esperamos validar la técnica en 2026, y que esté disponible para la industria a partir del próximo año. Este logro de la Universidad de Chile será sin lugar a duda una contribución relevante para la industria del cerezo en Chile, especie que lidera la industria frutícola de exportación y de cuyo resultado económico depende un sector importante de la actividad agrícola nacional.

En paralelo, con la información generada por el estudio, nos hicimos varias preguntas:
¿Cómo incidirá la pertenencia de estas especies a diferentes clados?
¿Habrá un efecto por el hecho de ser distintas las especies de Alternaria que predominan?
Y en relación con los clados detectados de Botrytis, ¿tendrá alguna

www.litoralpress.cl

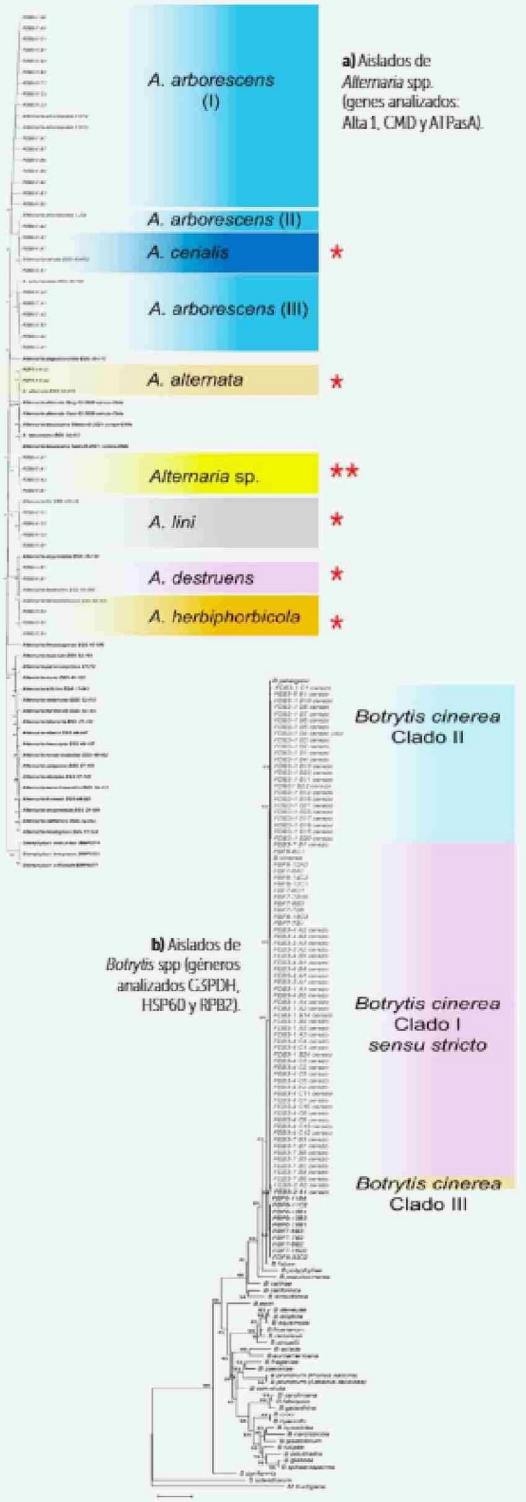
LITORALPRESS

Fecha: 31-05-2025
Medio: Revista Redagrícola
Supl. : Revista Redagrícola
Tipo: Noticia general
Título: **Microbiota fúngica del cerezo y sus implicancias en el manejo sustentable de pudriciones por Botrytis y Alternaria**

Pág. : 37
Cm2: 402,4

Tiraje: 9.000
Lectoría: 18.000
Favorabilidad: No Definida

Figura 4. Árboles filogenéticos multilocus recuperados de la microbiota del cerezo.



*La figura a muestra un grupo representativo de aislados *Stemphylium* spp. y la figura b de aislados del género Botrytis, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Monilia fructigena*, que fueron utilizados como outgroups (control negativo, fuera de grupo).

LITORALPRESS

Fecha: 31-05-2025
Medio: Revista Redagrícola
Supl. : Revista Redagrícola
Tipo: Noticia general
Título: **Microbiota fúngica del cerezo y sus implicancias en el manejo sustentable de pudriciones por Botrytis y Alternaria**

Pág. : 38
Cm2: 764,8

Tiraje: 9.000
Lectoría: 18.000
Favorabilidad: No Definida

Figura 5. Perfiles obtenidos para *Alternaria* spp. y *Botrytis cinerea* a través de qPCR-HRM tomando como blanco un fragmento del gen Alta1. Curvas de fluorescencia normalizada revelan perfiles de denaturación individuales para cada especie de Alternaria y *Botrytis cinerea* identificadas desde la microbiota del cerezo.

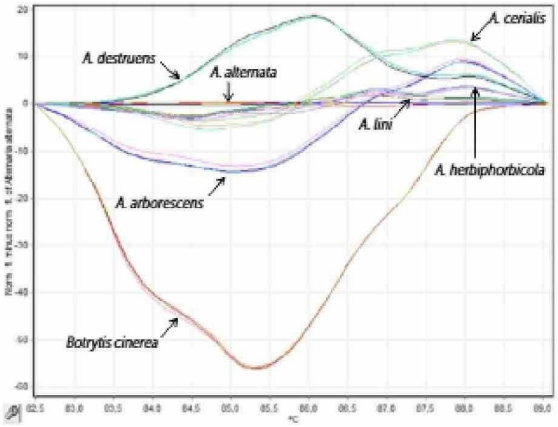
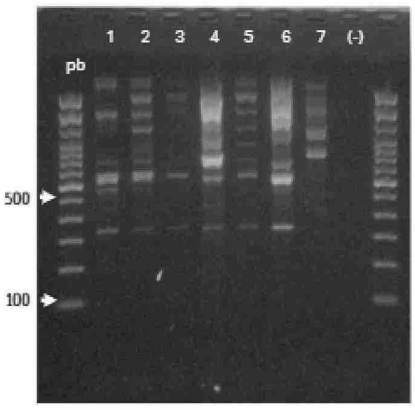


Figura 6. Corroboración de la detección en una misma reacción de las distintas especies de Alternaria y de *Botrytis cinerea*, detectadas utilizando la técnica RFLP (análisis de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción) y los partidores específicos diseñados.



1: *Alternaria alternata*
2: *A. arborescens*
3: *A. lini*
4: *A. destruens*
5: *A. cerialis*
6: *A. herbiphorbicola*
7: *Botrytis cinerea*
(-): control negativo

implicancia práctica que los aislados pertenezcan a uno u otro clado?

AGRESIVIDAD DE LAS ESPECIES DE ALTENARIA Y DE LOS CLADOS DE BOTRYTIS

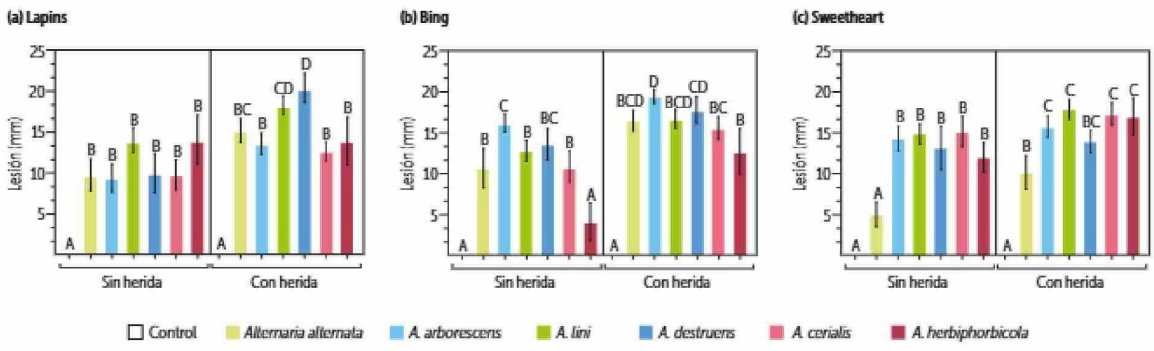
En el caso de las especies de Alternaria, para resolver las incógnitas planteadas procedimos a evaluar su virulencia mediante inoculaciones artificiales de los diversos aislados. Se efectuaron sobre cerezas de las variedades Lapins, Bing y Sweetheart sometidas y no a heridas, mantenidas en incubación bajo condiciones controladas (alta humedad relativa, 20-22°C y oscuridad continua), y los resultados fueron muy interesantes (figura 7 a, b y c). Todas las especies fueron virulentas sobre frutas con madurez de cosecha, sometidas o no a heridas. La única excepción fue *Alternaria herbiphorbicola* en Bing, en donde sin herida la agresividad resultó menor, similar estadísticamente al control (agua destilada y estéril). En Lapins, en cambio, esta misma *Alternaria* fue la que presentó, junto a *A. lini*, el mayor daño en fruto sin herida; y con herida *A. lini* y *A. destruens* se ubicaron como las más agresivas. Particularmente en *Sweetheart* la mayor agresividad se observó en *A. arborescens*, *A. lini*, *A. cerialis* y *A. herbiphorbicola*. *A. alternata* fue la única menos agresiva sin herida.

En primer lugar, siempre se ha indicado que Alternaria es un patógeno oportunista que, al encontrar condiciones favorecedoras de infección, particularmente heridas, va a ingresar y causar daño. Ahora bien, según nuestros resultados esto sería FALSO, porque ninguna de las especies de Alternaria analizadas requiere de heridas para penetrar, y, como se señaló, solo en dos de estas la agresividad es menor sin herida (*A. herbiphorbicola* / Bing y *A. alternata* / Sweetheart), pero igualmente ingresan y son capaces de causar daño. En particular, se comportaron como las más agresivas algunas de las especies nuevas detectadas (*A. lini* y *A. destruens*, figura 7 a, b y c). También como se dijo más arriba, se observó que la virulencia de algunos de los aislados era diferente dependiendo de la variedad (figura 7 b y c).

En el caso de Botrytis, se comparó la agresividad de los clados II y III respecto de las especies de Alternaria más reportadas en cerezas en Chile (*A. alternata* y *A. arborescens*). Para ambas especies se consideró al menos dos aislados representativos de cada grupo, utilizando únicamente la modalidad de inoculación con herida y en una sola variedad: Bing (Tesis de Magíster/ Millaray Vásquez).

Como lo muestra la figura 8, los aislados de Botrytis clado II fueron significativamente más agresivos que los del clado III, y el daño provocado por estos dos clados de Botrytis en general, fue mayor al causado por las dos especies de Alternaria evaluadas.

Figura 7. Agresividad de las especies de Alternaria detectadas en la microbiota del cerezo en frutos de tres variedades.



www.litoralpress.cl

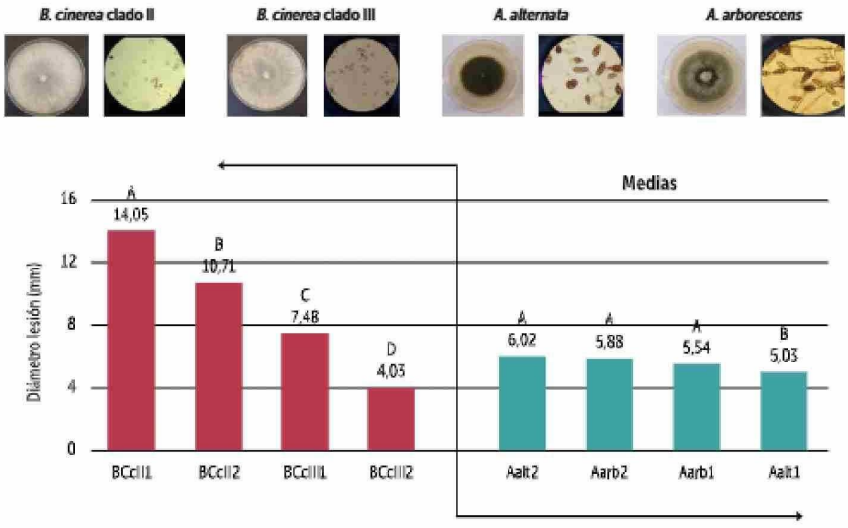
LITORALPRESS

Fecha: 31-05-2025
Medio: Revista Redagrícola
Supl. : Revista Redagrícola
Tipo: Noticia general
Título: **Microbiota fúngica del cerezo y sus implicancias en el manejo sustentable de pudriciones por Botrytis y Alternaria**

Pág. : 39
Cm2: 600,7

Tiraje: 9.000
Lectoría: 18.000
Favorabilidad: No Definida

Figura 8. Evaluación de agresividad (virulencia) de aislados de Botrytis clados II y III, y de *Alternaria alternata* y *A. arborescens*, en cerezas variedad Bing. Los valores corresponden a las medias obtenidas en 4 repeticiones (4 frutos con herida, por repetición), incubadas en oscuridad continua por 150 horas a 20°C. (fuente: Tesis de Magíster M. Vásquez).



EVALUACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE CONTROL

Quisimos saber qué pasaba con algunas de las moléculas actualmente empleadas para el control preventivo de Botrytis y Alternaria en precosecha. Con este fin se realizó un bioensayo en la variedad Bing, evaluándose el efecto preventivo en cerezas con madurez de cosecha. Se incluyeron fungicidas de síntesis (boscalid, fenhexamid, fludioxonil 50%, fenhexamid + fludioxonil y otros), algunos extractos de plantas, un formulado basado en una cepa de *Bacillus* sp.; el control correspondió a agua destilada y estéril. Los resultados obtenidos entregan una valiosa información que será presentada con detalle en la 1ª Conferencia Cerezas x Redagrícola (28-29 de mayo) y en Fruittrade 2025. A continuación damos un pequeño adelanto de los resultados:

1° Se corrobora que Botrytis es mucho más agresiva que Alternaria en cerezas (figura 8).

2° Siempre se ha indicado a fenhexamid como una molécula botriticida específica, pero los datos del estudio indican que no sería tan específica, porque además de inhibir Botrytis tiene un efecto también interesante sobre Alternaria.

3° La formulación de Bacillus evaluada tiene un efecto mayor sobre Alternaria que sobre Botrytis.

4° El efecto de los extractos de plantas en algunos de los tiempos de inoculación es variable: mientras en unos tienen efecto sobre los dos patógenos, en otros más sobre uno que sobre el otro, y en ciertos casos y tiempos de inoculación, sobre ninguno.

5° Se comprueba la eficacia del formulado de fludioxonil 50%, sobre ambos patógenos.

Los primeros resultados del proyecto reseñado aquí ponen de manifiesto lo poco que sabemos de estos patógenos en cerezo, y nos instan a seguir estudiando para generar nuevos conocimientos que se traduzcan en avances en un manejo más sostenible del cultivo en Chile. Ra

Apoyo fundamental

Todo lo logrado a la fecha ha sido posible con el apoyo de la **Fundación para la Innovación Agraria (FIA)** y de la industria, que siempre nos ha brindado su confianza. En esta oportunidad participan **Basf Chile S.A., Bio Insumos Nativa SpA., Botanical Solutions SpA., Redmi Ltda., Stockton Chile SpA., Sumitomo Chemical Chile S.A., Summit Agro Chile SpA., Syngenta S.A., Frutera San Fernando, SMexport**, sociedades agrícolas de las principales regiones productoras de cerezas en Chile, **FEDEFRUTA F.G., Redagrícola Comunicaciones S.A.** e importantes asesores especialistas en cerezo en el país.

Fuente

Con excepción de la figura 8, todos los datos de los cuadros y gráficos corresponden al **Laboratorio de Fitopatología Frutal y Molecular, Proyecto U. de Chile** / FIA PYT-2023-0577.