



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**

**ESCUELA DE POSTGRADO**

**ESTUDIOS EPIDEMIOLÓGICOS DEL REPILO DEL OLIVO  
CAUSADO POR *Fusicladium oleagineum*.**

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO  
AGRÓNOMO Y AL GRADO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS MENCIÓN SANIDAD VEGETAL**

**PAULA ALEJANDRA PÁEZ WALLBERG**

**DIRECTOR DE TESIS**  
**JOSÉ LUIS HENRIQUEZ SÁEZ**

**PROFESORES CONSEJEROS**  
**THOMAS FICHET LAGOS**  
**JAIME MONTEALEGRE ANDRADE**

**SANTIAGO DE CHILE**  
**2011**

**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS  
ESCUELA DE POSTGRADO**

**Estudios epidemiológicos del repilo del olivo causado por  
*Fusicladium oleagineum***

**Tesis para optar al título profesional de ingeniero agrónomo y al grado de  
magíster en ciencias agropecuarias mención sanidad vegetal**

**Paula Alejandra Páez Wallberg**

	<b>Calificaciones</b> (Memoria de título)	<b>Calificaciones</b> (Tesis de Grado)
<b>Director de Tesis</b>		
José Luis Henríquez S. MS. Ph. D. Ingeniero Agrónomo	<u>7,0</u>	<u>Aprobada</u>
<b>Profesores Consejeros</b>		
Thomas Fichet L. Doctor Ingeniero Agrónomo	<u>6,5</u>	<u>Aprobada</u>
Jaime Montealegre A. Ingeniero Agrónomo	<u>7,0</u>	<u>Aprobada</u>

**Santiago, Chile**

**2011**

**DEDICATORIA**

A mi madre Ingrid Wallberg Jacques, por su apoyo, entusiasmo y sobre todo por su amor incondicional y a mi tata Raúl Wallberg Salinas quien con su gran cariño y ejemplo me enseñó la responsabilidad y la perseverancia necesaria para la vida. Esto es para ustedes, que creyeron en mí y que si bien por circunstancias de la vida ya no están físicamente a mi lado, estoy segura que me acompañan en cada paso que doy y sé de la alegría y orgullo que sienten al verme finalizar esta gran etapa.

## AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que hicieron posible directa o indirectamente que esta tesis se llevara a cabo.

Quiero Agradecer en primer lugar a mi familia, a mi hermano, hermana, primas, por acompañarme en esta larga etapa y creer en mí, a mi cuñado Nelson por sus valiosos consejos, a mi padre por todo su apoyo, pero en especial quiero agradecer a mi tía Birgitt Wallberg y a mi nona Victoria Jacques, muchas gracias por haberme sacado adelante y por todo el cariño que me entregan. También quiero agradecer a mi pololo Axel San Juan por su amor, compañía, fuerza y paciencia.

Quiero agradecer al profesor José Luis Henríquez por aceptar ser mi profesor guía, por la disponibilidad para ayudarme y aconsejarme cuando lo necesité, por el apoyo, las sugerencias y sabiduría entregada. Y además por entregarme todo lo necesario para realizar mi tesis.

Quiero agradecer a mis profesores consejeros el Sr. Thomas Fichet y el Sr. Jaime Montealegre por sus comentarios y correcciones.

También quiero agradecer al equipo del laboratorio de fitopatología de postcosecha de frutas del departamento de sanidad vegetal de la Universidad de Chile, por el apoyo en las salidas a terreno, especialmente quiero agradecer a Paula Alarcón, por su gran ayuda incondicional y desinteresada y por su amistad.

Por último quiero agradecer a mis compañeros y amigos en especial a Carmen, Osvaldo, Carolina, Evelyn y Pablo por estar conmigo cuando lo necesité a lo largo de mi carrera y por el cariño entregado y a mis Amigas Paulina y Antonella con quienes he podido contar en todo momento.

¡Muchas gracias!

## ÍNDICE

RESÚMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
INTRODUCCIÓN .....	8
1. Hipótesis de trabajo.....	10
2. Objetivos .....	10
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	11
1. Sintomatología .....	11
2. Etiología .....	13
3. Epidemiología .....	14
4. Susceptibilidad del olivo .....	16
5. Control de la enfermedad .....	18
MATERIALES Y MÉTODO .....	20
1. Determinación de los períodos críticos de infección por <i>Fusicladium oleagineum</i> en olivos.....	22
1.1 Ensayo embolsado de ramas. ....	22
1.2 Ensayo con plantas de olivo en bolsas cv. Arbequina .....	23
1.3 Ensayo con hojas individuales en olivos cv. Arbequina.....	24
2. Determinación de la dinámica de esporulación de <i>Fusicladium oleagineum</i> en dos huertos de olivo. ....	24
2.1 Seguimiento de manchas de repilo en olivar cv. Arbequina.....	24
3. Determinación del grado de susceptibilidad en el campo, de 6 cultivares de olivo a la infección por <i>Fusicladium oleagineum</i> . ....	26
RESULTADOS.....	28
1. Determinación de períodos críticos de infección por <i>Fusicladium oleagineum</i> en olivos. ....	28
1.1 Ensayo Embolsado de ramas.....	28
1.1.1 Huerto Lumbreras. ....	28
1.1.2 Huerto Ruta del Sol.....	30
1.1.3 Huerto Los Lirios .....	30
1.2 Ensayo con plantas de olivo en bolsas cv. Arbequina .....	33
1.3 Ensayo con hojas individuales en olivos cv. Arbequina.....	33
2. Determinación de la dinámica de esporulación de <i>Fusicladium oleagineum</i> en dos huertos de olivo. ....	34

2.1 Seguimiento de manchas de repilo en olivos cv. Arbequina .....	36
3. Determinación del grado de susceptibilidad en campo, de 6 cultivares de olivo a la infección por <i>Fusicladium oleagineum</i> . .....	37
DISCUSIÓN .....	39
CONCLUSIONES .....	44
BIBLIOGRAFÍA CITADA .....	45
APÉNDICE I.....	49
APÉNDICE II .....	52
ANOVA para los ensayos de susceptibilidad de 6 cultivares de olivo a infección por <i>F. oleagineum</i> . .....	52
ANEXO.....	54
Temperaturas medias mensuales máximas y mínimas en los distintos huertos de estudio. Datos obtenidos de Sistema Agroclimático FDI-INIA-DMC.....	54

## RESÚMEN

El repilo del olivo, causado por el hongo *Fusicladium oleagineum*, es considerado la enfermedad más importante del olivo (*Olea europaea*) y está extendida en todas las áreas del mundo donde éste se cultiva: Cuenca del Mediterráneo, Sudáfrica, California, Sudamérica y Australia. En Chile, la superficie de olivos ha ido en aumento y se estimó en 24.000 ha para el año 2010. Esta enfermedad provoca defoliaciones prematuras que tienen como consecuencia un debilitamiento progresivo del árbol y una disminución importante de la productividad. La medida de control más utilizada es la aplicación de fungicidas, en forma preventiva, por lo tanto es importante conocer la epidemiología de la enfermedad, para lograr un adecuado control. La utilización de cultivares resistentes es otra forma de lucha contra la enfermedad, pero la información existente al respecto es contradictoria debido a que la mayoría de los trabajos se refieren a observaciones de campo. Este trabajo tuvo como objetivo conocer los períodos críticos de infección, establecer la dinámica de esporulación del hongo y evaluar la susceptibilidad de 6 cultivares de olivo Arbosana, Bossana, Coratina, Frantoio, Koroneiki y Leccino inoculados artificialmente con *F. oleagineum* bajo condiciones de campo. Los períodos críticos de infección se establecieron en tres huertos, en la región de Coquimbo, Metropolitana y de Valparaíso, estos fueron similares siendo los meses de otoño-invierno los más severos, con una fuerte dependencia de parámetros climáticos principalmente precipitaciones, pero además, se observó la importancia del agua libre producto de rocíos que da inicio a las infecciones. La dinámica de esporulación se estableció para dos huertos, ubicados en la región de Atacama y Metropolitana, confirmando dos períodos de mayor esporulación, otoño y primavera, sin embargo, si las condiciones de humedad lo permiten *F. oleagineum* puede producir conidias durante todo el año. El estudio de susceptibilidad de 6 cultivares de olivo se llevó a cabo en un huerto de la región Metropolitana, donde se determinó que los cultivares Bossana y Coratina son susceptibles a la enfermedad y los cultivares Arbosana, Frantoio, Koroneiki y Leccino son moderadamente susceptibles.

Palabras clave: Repilo, *Fusicladium oleagineum*, *Olea europaea*, susceptibilidad.

## ABSTRACT

The olive leaf spot caused by *Fusicladium oleagineum* (Castagne) is widespread in the Mediterranean basin and other world regions where olive trees are grown. The disease causes premature defoliation which results in a progressive weakening of the tree and a significant decrease in productivity. It is important to understand the epidemiology of the fungus to achieve adequate control of the disease. In this work the critical periods of infection were established for the Coquimbo, Valparaíso and Metropolitan regions, where the higher disease incidence occurred during the fall and winter months, with a strong dependence of climatic parameters mainly rainfall, but disease was observed to occur before the first fall rains as a result of morning dew. The sporulation dynamics of *F. oleagineum* in one orchard in the Atacama and one orchard in the Metropolitan Regions were also determined. Fall and spring time were confirmed as the periods with the highest sporulation. Finally, the susceptibility of 6 olive cultivars was studied in a commercial orchard located in the Metropolitan Region. Bossana and Coratina were susceptible while Arbosana, Frantoio, Koroneiki and Leccino were moderately susceptible.

Key words: Olive leaf spot, *Fusicladium oleagineum*, *Olea europaea*, susceptibility.

## INTRODUCCIÓN

En Chile, el olivo (*Olea europaea* L.), se encuentra distribuido desde la I a la VIII Región, existiendo además cultivos en algunos microclimas de la IX Región. La superficie de olivos en el país, ha ido en aumento y se estimó en 24.000 ha para el año 2010 (Iglesias, 2010).

Una de las enfermedades más importantes que ataca al olivo es el repilo, también conocido como ojo de pavo. Ésta enfermedad se extiende en todas las principales zonas donde se cultiva el olivo en el mundo (Obanor *et al.*, 2005b). En Chile, la enfermedad es poco conocida y a pesar de existir escasa información, es considerada un problema endémico en la gran mayoría de los huertos de olivo, sobre todo cuando las condiciones ambientales son adecuadas para su desarrollo.

El agente causal, corresponde a un hongo Ascomycete, denominado *Fusicladium oleagineum* (Castagne) Ritschel y U. Braun reconocido por primera vez en Europa en 1845, cuando fue descrito por Castagne en Francia como *Cycloconium oleaginum* (Schubert *et al.*, 2003). Este es un patógeno biotrófico y específico del olivo que se desarrolla exclusivamente bajo la cutícula de la hoja (Trapero *et al.*, 1998; Benítez *et al.*, 2005a).

El repilo provoca una defoliación precoz del olivo, luego de períodos sucesivos de defoliación y regeneración de hojas, los árboles afectados pueden presentar un escaso crecimiento y una reducción en el rendimiento (López-Doncel *et al.*, 2000). Se han estimado pérdidas de rendimiento de hasta un 20% (Obanor *et al.*, 2008b), la realización de tratamientos fitosanitarios es muy importante para mantener la enfermedad en niveles aceptables que no causen excesiva reducción en las cosechas (Antón *et al.*, 1989). Según los estudios realizados por Sanei y Razavi (2011), la prevalencia de repilo se incrementa significativamente con la edad de los árboles, a medida que envejecen los árboles, el tamaño de la canopia y la densidad de la canopia crea un refugio para el hongo aumentando la humedad dentro y entre los árboles.

Los síntomas se producen principalmente en el haz de las hojas y aparecen como manchas de color verde oscuro a negro rodeadas por un halo amarillento, similar a un ojo de pavo real, lo que da lugar al nombre ojo de pavo (Shabi *et al.*, 1994). Las hojas de la parte baja de los árboles son las primeras en verse afectadas (Sergeeva *et al.*, 2009). Los peciolo, frutos y pedúnculos del fruto también son susceptibles, pero raramente atacados por el hongo (Teviotdale y Steven, 1995).

Actualmente los tratamientos químicos realizados contra el repilo son preventivos y por lo tanto deben tenerse en cuenta las condiciones ambientales que el hongo necesita para desarrollarse. El momento de la aplicación de fungicidas se menciona como un punto crítico para un control efectivo de la enfermedad (Obanor *et al.*, 2008b) por lo que es necesario conocer los períodos críticos de infección.

La utilización de cultivares resistentes es considerada también, como una forma de lucha contra el repilo. Sin embargo, los distintos cultivares de olivo difieren en su resistencia o susceptibilidad a este patógeno. Aunque la información al respecto es abundante, la mayoría de los trabajos se refieren a observaciones de campo, generalmente en ambientes diferentes y sin elementos comunes de comparación, lo que ha generado frecuentes contradicciones (Trapero y Blanco, 2008).

Es necesario el conocimiento acerca de cómo afectan las variables ambientales al desarrollo de la enfermedad, para desarrollar un sistema de pronóstico con un enfoque integrado para el control del repilo (Viruega y Trapero, 1999). Este sistema de pronóstico puede mejorar el control de la enfermedad y/o reducir el uso de fungicidas, ayudando así a aliviar las preocupaciones ambientales, económicas y de salud, relacionadas con el uso de fungicidas (Obanor *et al.*, 2011).

Tomando en cuenta la importancia de la enfermedad y el aumento cada vez mayor de las hectáreas plantadas con olivos en Chile, se hace necesario estudiar la epidemiología del repilo, bajo condiciones locales, para poder llegar a un adecuado control de ésta.

## 1. Hipótesis de trabajo

- Hipótesis 1: En el olivo existe estacionalidad de los períodos de infección con *Fusicladium oleagineum*.
- Hipótesis 2: La producción de conidias por *Fusicladium oleagineum* es estacional y se corresponde con las infecciones.
- Hipótesis 3: Existe una susceptibilidad diferencial en los distintos cultivares de olivo a la infección por *Fusicladium oleagineum*.

## 2. Objetivos

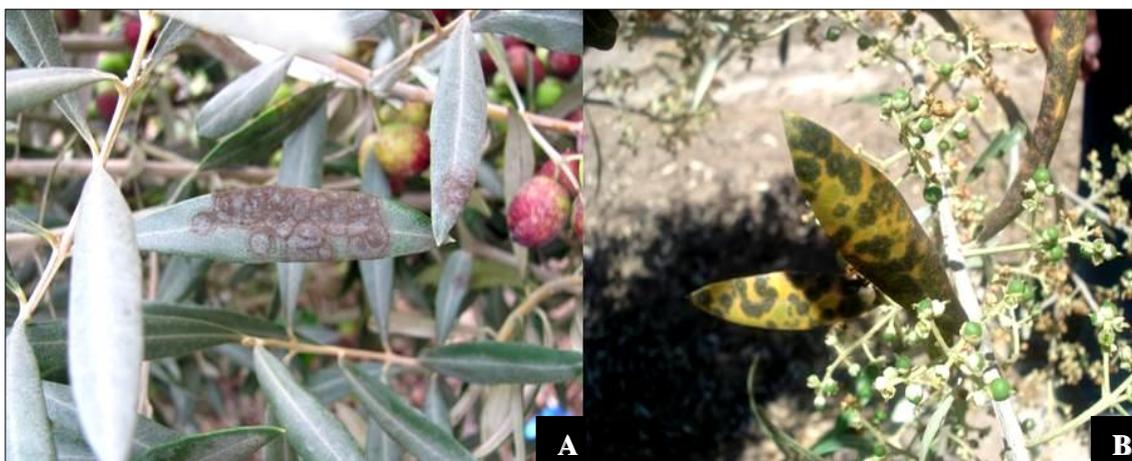
1. Determinar los períodos críticos de infección por *Fusicladium oleagineum*, en tres huertos de olivo.
2. Determinar la dinámica de esporulación de *Fusicladium oleagineum*, en dos huertos de olivo.
3. Determinar el grado de susceptibilidad de 6 cultivares de olivo a la infección por *Fusicladium oleagineum*.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El repilo está presente en Asia (India, Irán, Israel, Palestina, Jordania, Líbano y Turquía); Europa (España, Francia, Italia, Malta y Chipre); África (Egipto, Algeria, Libia, Marruecos, Somalia, Sudáfrica y Túnez); Norte América (USA y Canadá); Chile y Nueva Zelanda (Schubert *et al.*, 2003). No obstante, su distribución en olivares o en áreas naturales como es el caso del acebuche, no es uniforme, sino que está determinada por la susceptibilidad del cultivar o genotipo, la virulencia del patógeno y las condiciones ambientales, sobre todo las que favorezcan la presencia de agua libre sobre el follaje. Así, la enfermedad es especialmente importante en regiones húmedas, olivares cercanos a ríos, en viveros y en plantaciones densas y mal ventiladas (Roca *et al.*, 2006).

### 1. Sintomatología

El síntoma más característico de la enfermedad se presenta en el haz de las hojas (Figura 1A y B), donde se aprecian manchas circulares de tamaño variable y de color marrón-oscuro a negro, a veces rodeadas de un halo amarillento característico. En otoño-invierno el halo suele estar ausente, mientras que en primavera es muy acusado, tanto en las lesiones jóvenes como en las viejas. El color oscuro de las manchas se debe a las esporas del agente causal, las cuales pueden cubrir la totalidad de la mancha, o bien se distribuyen en anillos concéntricos, sobretodo en lesiones viejas. La apariencia de las manchas depende de la variedad de olivo, edad de la lesión y condiciones ambientales en las que éstas se desarrollan, pero en cualquier caso resultan de fácil identificación. Las lesiones viejas suelen presentar una coloración blanquecina debido a la separación de la cutícula del resto del tejido (Trapero y Blanco, 2008).



**Figura 1.** Hojas de olivo atacadas por repilo. (A) Manchas esporuladas sobre las hojas. (B) Lesiones antiguas, hojas cloróticas.

En el envés de las hojas, los síntomas son menos aparentes y consisten en zonas ennegrecidas intermitentes a lo largo del nervio central (Trapero *et al.*, 1998). El micelio de *F. oleagineum* está formado por hifas hialinas delgadas y muy ramificadas (Soriano, 2006). Este se desarrolla normalmente bajo la cutícula de la hoja, pero en casos severos puede infectar el peciolo, el pedúnculo del fruto y al fruto propiamente tal (González-Lamothe *et al.*, 2002). Este hábitat subcuticular proporciona al patógeno, además de los nutrientes que requiere para su desarrollo y esporulación, un pH subalcalino favorable para sus enzimas extracelulares y una protección contra la desecación y la radiación excesiva. La infección del fruto (Figura 2) aunque es muy rara, perjudica la calidad del mismo y reduce su rendimiento graso, pero no afecta la calidad de su aceite (Trapero y Blanco, 2008).



**Figura 2.** Frutos cv. I-77 infectados por *F. oleagineum*.

Las manchas de repilo se expanden y se unen para cubrir una gran parte de la superficie foliar (Obanor *et al.*, 2005a) y como consecuencia de estas lesiones, se produce una importante caída de hojas, lo que se manifiesta claramente sobre todo en las ramas inferiores. Esto lleva consigo una pérdida de yemas axilares, disminución de la producción y tasa de crecimiento; en árboles jóvenes la infección compromete su formación (Gil-Albarellos, 2011).

La caída de hojas enfermas ocurre en invierno, afectando además el proceso de acumulación de frío necesario para la floración siguiente. Por otra parte, cuando ataca en primavera, en el período de floración, también afecta a las inflorescencias, produciéndose desecación de pétalos antes de la apertura de la flor, lo que reduce la posibilidad de cuaja y por consiguiente la productividad (Contreras, 2005).

En los estudios realizados por Mungianu *et al.* (2002), en los que analizaron la relación entre la caída prematura de hojas y el comportamiento de las plantas, con respecto a la

producción de flores y ajuste de carga, se confirma el hecho de que, la influencia de la defoliación temprana sobre la diferenciación de yemas florales está bien definida, ya que, según sus resultados, el número de racimos florales en árboles no tratados disminuyó a un 31% en plantas con caída fuerte de hojas. Por el contrario, las yemas de árboles protegidos, que conservaron las hojas por un largo período, tendieron a diferenciarse a yemas florales en una frecuencia significativamente más alta (81%).

La enfermedad causa menos daño en plantaciones tradicionales que en huertos con plantaciones intensivas (Shabi *et al.*, 1994). En algunas áreas, donde la enfermedad es endémica, causa severa defoliación en cultivares sensibles, lo que trae serias alteraciones fisiológicas en las plantas, obteniendo un impacto muy perjudicial en la productividad (Iannotta *et al.*, 2002).

## 2. Etiología

El nombre *Fusicladium oleagineum* hace referencia exclusivamente al estado asexual del hongo (Trapero y Blanco, 2008). Como indican los análisis filogenéticos realizados por González-Lamothe *et al.* (2002), es una fase anamórfica de una especie de *Venturia* no reportada aún.

El hongo se desarrolla bajo la cutícula de los tejidos infectados, formando un entramado de hifas, de las que emergen al exterior conidióforos simples, globoso-ampuliformes de color castaño, con collaretes formados por la producción sucesiva de esporas asexuales o conidias (Figura 3). Estas son bicelulares, obpiriformes, de color castaño claro y miden 15-30 x 9-15  $\mu\text{m}$ , con pared verruculosa, truncadas por la base y más estrechas y alargadas en el ápice (Trapero y Blanco, 2008).

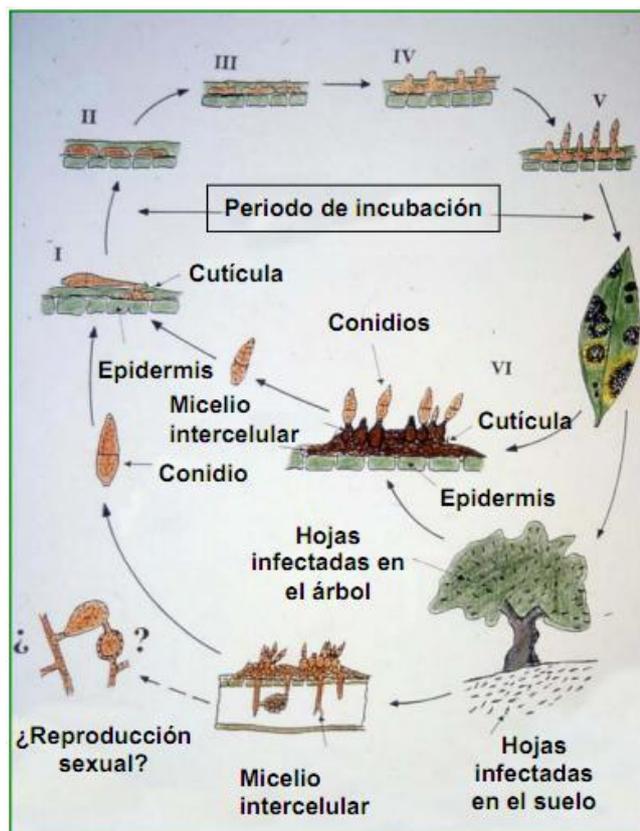


**Figura 3.** Conidias bicelulares de *F. oleagineum* (aumento 100X).

*F. oleagineum* sólo es patógeno del olivo, aunque en varios países mediterráneos se han descrito infecciones en *Ligustrum*, *Phillyrea* y *Quercus* por hongos morfológicamente parecidos (Trapero y Blanco, 2008).

### 3. Epidemiología

La biología del hongo es muy variable en distintos años, dependiendo su desarrollo de muchos factores, tales como humedad, temperatura, lluvia y prácticas culturales (Gil-Albarellos, 2011). El ciclo de patogénesis (Figura 4) consta de seis fases principales: Infección, que comprende la germinación del conidio y la penetración del hongo a través de la cutícula de la hoja (I), desarrollo vegetativo bajo la cutícula de la hoja, gracias a la acción degradativa de enzimas tales como cutinasas, lipasas, celulasas y pectinasas, secretadas por las hifas del hongo (II), emisión de hifas hacia la superficie foliar perforando nuevamente la cutícula (III), formación de los conidióforos una vez alcanzada la superficie foliar (IV), esporulación (V) y aparición de la mancha sobre la hoja, debido a la acumulación de masas de conidios y conidióforos (Roca *et al.*, 2006).



**Figura 4.** Ciclo de patogénesis del repilo del olivo causado por *Fusicladium oleagineum* (Fuente: Roca *et al.*, 2006).

Las conidias se mantienen viables durante varios meses, aunque una vez separadas de los conidióforos pierden su capacidad germinativa en menos de una semana. Tras un período húmedo pueden producirse nuevas conidias en las manchas foliares, ello determina que en ambientes mediterráneos existan conidias viables disponibles para la dispersión durante todo el año, con dos máximos uno en otoño y otro al comienzo de la primavera (Trapero, 1995).

*Fusicladium oleagineum* sobrevive fundamentalmente en las hojas infectadas que permanecen en el árbol. Por su carácter de parásito obligado, las hojas que caen al suelo tienen escasa importancia epidemiológica (Trapero *et al.*, 1998; INIA, 2003). Las conidias son dispersadas a cortas distancias de los tejidos infectados principalmente por la lluvia, ya que, en estado seco no son separadas de los conidióforos con facilidad por corrientes de aire. Ello hace que las sucesivas infecciones tengan lugar en sentido descendente del árbol. La germinación de las conidias sólo tiene lugar cuando existe agua libre (Civantos, 1992). Según Trapero y Blanco (2008), para que se lleve a cabo la germinación debe existir una humedad superior al 98%, con temperaturas en el rango de 0 a 27 °C y el óptimo en torno a 15 °C. Posteriormente, el establecimiento de la infección requiere agua libre o una atmósfera saturada de humedad durante 1 a 2 días, dependiendo de la temperatura, que presenta un amplio rango (5 a 25 °C).

El período de incubación, es decir, el tiempo que transcurre desde la infección hasta la aparición de los síntomas, tiene una gran importancia epidemiológica. El período de incubación para *F. oleagineum* es relativamente largo, aunque muy variable pudiendo oscilar entre 4 y 15 semanas, en función de la temperatura, humedad relativa, variedad de olivo y humedad de la hoja (Trapero *et al.*, 1998; López-Doncel *et al.*, 2000). Este largo período de incubación de la enfermedad, hace necesaria la detección precoz de las infecciones, a fin de establecer una eficaz estrategia de control (Zarco *et al.*, 2007)

Según Viruega y Trapero (1999), los principales períodos de infección ocurren durante otoño-invierno en días lluviosos. Pero si la primavera se presenta fresca y lluviosa y existe abundancia de inóculo, la presencia de hojas nuevas que son más susceptibles y no están protegidas por fungicidas, dan lugar a infecciones severas. Estas infecciones permanecen latentes durante el verano, sin producir caída de hojas, y constituyen la fuente de inóculo principal para las infecciones de otoño-invierno. En estos casos, el tratamiento de primavera es crucial para el control satisfactorio de *F. oleagineum* durante el año siguiente (Trapero *et al.*, 1998; Zarco *et al.*, 2007).

Contreras (2006), observó que el período de esporulación del patógeno en la Región Metropolitana se presenta desde mediados de septiembre, simultáneamente con el inicio del crecimiento de la nueva temporada y hasta mediados de diciembre, detectándose una mayor esporulación en condiciones de mayor humedad (precipitaciones).

Aunque se ha establecido el efecto global de la lluvia y de la temperatura sobre la infección de *F. oleagineum*, el conocimiento de la influencia de los factores ambientales sobre los diferentes componentes del ciclo de la enfermedad es fragmentario y está basado exclusivamente en datos de campo, por lo que los resultados no son de aplicación general y resultan, a veces, contradictorios (Trapero y Blanco, 2008).

En 1959 Loprieno y Tenerini desarrollaron un método de detección de infecciones latentes por *F. oleagineum*, conocido como el “método de la sosa”. Este método es el más utilizado en los estudios sobre la biología y epidemiología del patógeno, y se basa en la oxidación de los compuestos fenólicos que se acumulan en las zonas afectadas como respuesta al patógeno al sumergir las hojas en una solución acuosa de hidróxido sódico (NaOH) o hidróxido potásico (KOH) al 5% y a 50-60°C durante 2-3 min. Este método fue modificado en 1964, haciéndolo aplicable a temperatura ambiente (Zarco *et al.*, 2007). Los compuestos fenólicos en los que se basa el método de la sosa corresponden a una defensa química natural de la planta, si bien no son directamente tóxicos para los patógenos fúngicos, detienen el progreso de éstos tras la infección (Antón y Laborda, 1989).

#### 4. Susceptibilidad del olivo

Existen diferencias notables en la susceptibilidad de los cultivares de olivo a la enfermedad. Parece ser, en general, que los cultivares más alejados del tipo del olivo silvestre (al parecer inmune) son los más propensos a ser invadidos por el hongo (Soriano, 2006).

La creación de cultivares es el resultado de hibridaciones entre olivo cultivado y material silvestre (acebuche), que posteriormente fueron seleccionados por los agricultores, primero en la cuenca del mediterráneo y luego en las diferentes áreas de cultivo en el mundo (INIA, 2003).

En el Cuadro 1, se presenta la susceptibilidad de distintos cultivares de olivo a la enfermedad, los datos fueron obtenidos de distintos autores. Se observa que hay muchos cultivares que se repiten en todas las clasificaciones, el ejemplo más claro es Frantoio que está catalogado como susceptible, moderadamente susceptible y al mismo tiempo como resistente. Esto ocurre debido a que la información proviene de observaciones de campo en el cual las condiciones ambientales juegan un papel muy importante.

Moral *et al.* (2005), señalan que las discrepancias pueden deberse a una incorrecta identificación del material vegetal, a diferencias de virulencias entre distintas poblaciones de los patógenos, a diferencias de comportamiento de los clones de un cultivar o a condiciones ambientales distintas en las zonas geográficas estudiadas.

La ausencia de conocimiento sobre la resistencia/susceptibilidad del olivo a *F. oleagineum* va unida a un desconocimiento casi total sobre los mecanismos patogénicos del hongo y de los sistemas de defensa de la planta. Los escasos trabajos publicados sobre el patosistema *O. europaea/F. oleagineum* han revelado la presencia de mecanismos de defensa tanto estructurales relacionados con la cutícula foliar como químicos, sobre todo compuestos fenólicos relacionados con la oleuropeína (Benítez *et al.*, 2005a).

**Cuadro 1.** Susceptibilidad de distintos cultivares de olivo al Repilo causado por *Fusicladium oleagineum*.

S <sup>1</sup>	M <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	D <sup>4</sup>
Arbequina	<b>Frantoio</b>	<b>Frantoio</b>	Biancolilla
Cornicabra	Picudo	Leccino	Coratina
<b>Frantoio</b>	Cornicabra	Arbosana	Kalamata
Changlot Real	Hojiblanca	Oblonga	
Hojiblanca	Picual	koroneiki	
Manzanilla	Arbequina	Lechin de Sevilla	
Picual		Sevillana	
Lechin de Granada			
Empeltre			
Picudo			

Fuente: elaboración propia con datos obtenidos de los siguientes trabajos: Antón y Laborda, 1989; Trapero *et al.*, 1998; López Doncel y Trapero, 1999; Trapero *et al.*, 2001; Soriano, 2006; Trapero y Blanco, 2008.

<sup>1</sup>: Susceptible <sup>2</sup>: Moderadamente susceptible <sup>3</sup>: Resistente <sup>4</sup>: Susceptibilidad desconocida.

Las plantas son capaces de desplegar mecanismos de defensas propios, inducidos por el ataque de organismos patógenos, aumentando su capacidad defensiva incluso en tejidos distantes del lugar de ataque, fenómeno conocido como resistencia sistémica adquirida o SAR (Roca *et al.*, 2007). Se han investigado numerosas sustancias químicas como inductoras de este proceso como: ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA), benzotiadiazol (BTH), etileno (ET), especies reactivas de oxígeno (ROS), ácidos orgánicos, sales inorgánicas, cationes metálicos, etc. (Moral *et al.*, 2005). Se ha comprobado un efecto de control de postinfección de varios productos cúpricos, así como un efecto protector de algunos antagonistas que podrían estar relacionados con la inducción de SAR. Además se han identificado varios genes implicados en la resistencia del olivo al repilo y que responden diferencialmente a moléculas inductoras de diferentes vías de defensa (Roca *et al.*, 2007).

La relación entre el huésped fúngico y la planta hospedera ha sido estudiada a nivel molecular. El ácido salicílico (SA), benzotiadiazol (BTH), metiljasmonato (MJ) y etefón (ET) indujeron la expresión de genes de defensa del olivo, si bien sus patrones fueron diferentes, existió una interacción entre las diferentes rutas de defensa, ya que elicitores distintos pueden inducir los mismos genes. Los cultivares tolerantes muestran niveles basales de expresión de los genes de defensa más elevados que los cultivares susceptibles. Por lo tanto, cada cultivar de olivo muestra un perfil de expresión génica característico, tanto antes (niveles basales) como después de la infección por el huésped parásito. De este modo la cuantificación de la expresión de algunos genes clave puede emplearse para determinar el grado de tolerancia o susceptibilidad del olivo a la enfermedad (Benítez *et al.*, 2007).

Así mismo, El Aabidine *et al.* (2010) sugieren en su investigación, que el radio de actividad de las enzimas implicadas en varias vías de biosíntesis de compuestos fenólicos y/o la tasa de expresión de los genes correspondientes, serían el origen del grado de resistencia de los olivos a *F. oleagineum*.

Por otro lado, según los resultados de las inoculaciones realizadas por Moral *et al.* (2005) donde se puso de manifiesto la existencia de variabilidad patogénica entre distintas poblaciones del hongo, se identificaron 6 grupos de virulencia (razas).

## 5. Control de la enfermedad

Debido a la importancia que tienen la elevada humedad ambiental y el agua libre en el desarrollo de la enfermedad, se recomiendan medidas culturales que favorezcan la adecuada ventilación de los árboles, tales como podas selectivas, y marcos de plantación que eviten copas densas o muy juntas. Otro factor que influye significativamente en la severidad de las infecciones, es el estado nutritivo del árbol. En general, el exceso de nitrógeno y la deficiencia de potasio parecen favorecer las infecciones por *F. oleagineum*, en zonas endémicas y en campos donde se den condiciones muy favorables para la enfermedad, es recomendable la elección de cultivares menos susceptibles. Sin embargo, el predominio de los criterios de calidad y productividad hacen, en muchos casos impracticable esta medida (Trapero *et al.*, 2001).

Con cultivares susceptibles, la medida de control más utilizada es la aplicación foliar de fungicidas. Los fungicidas comúnmente utilizados contienen cobre e incluyen caldo bordelés, hidróxido de cobre, óxido de cobre y oxiclорuros de cobre (Obanor *et al.*, 2005b). Esto se debe a su menor costo, a la compatibilidad con otros productos y a su eficacia (Roca *et al.*, 2007).

En menor medida se usan productos sistémicos o penetrantes, por su efecto erradicante de las lesiones recién establecidas. Algunos de ellos han sido ensayados con éxito contra el repilo, por ejemplo: difenoconazol, dodine, kresoxim-metil (Roca *et al.*, 2007).

Las sales de cobre actúan inhibiendo la germinación de las esporas del patógeno, dependiendo dicho efecto de la concentración del ión  $\text{Cu}^{2+}$ . La diferencia en la eficacia entre productos se debe a la solubilidad del cobre o a la sensibilidad del patógeno. Un efecto adicional de los fungicidas cúpricos se manifiesta mediante la reducción del inóculo producido en los tejidos afectados y de su viabilidad, habiéndose observado reducciones de hasta el 95% de la germinación de las esporas producidas en las lesiones de hojas afectadas por *F. oleagineum* (Roca *et al.*, 2007).

Debido al carácter protector de estos tratamientos químicos, el tiempo de aplicación es crucial, el número de tratamientos y el momento de la aplicación varía dependiendo de la persistencia de los fungicidas, la enfermedad, las condiciones ambientales, la susceptibilidad del cultivar y el nivel de infección (Roca *et al.*, 2007).

Según la investigación realizada por Iannotta *et al.* (2002), en la cual se investigó el efecto de diferentes fungicidas contra *F. oleagineum*, el control de esta enfermedad estaría basado en el uso de oxiclорuro de cobre en años de baja producción y de productos que no contengan cobre en años de alta producción. Esto debido a que a pesar

de ser el oxiclорuro de cobre el más eficaz, produce caída de hojas, por lo tanto una disminución en la floración y en la productividad.

Distintas formulaciones a base de cobre han sido utilizadas tradicionalmente y de forma empírica para proteger a las plantas contra las infecciones fúngicas. De hecho, el  $\text{Cu}^{2+}$  es un inductor efectivo de la síntesis de fitoalexinas. Además el cobre es un metal pesado que puede desencadenar la formación de radicales hidroxilo y otras especies reactivas de oxígeno (ROS). Estas actúan como señales generales globales para la activación de los mecanismos de respuesta, que inducen genes de defensa (Benítez *et al.*, 2005b). Por otro lado, el ión  $\text{Cu}^{2+}$  puede resultar fitotóxico, por lo que es empleado como defoliante en frutales. En olivo, el cobre puede penetrar por las aberturas producidas por el repilo y causar caída selectiva de las hojas afectadas (Roca *et al.*, 2007). El uso de inoculaciones artificiales de hojas y plantines de olivo ha permitido establecer una relación entre la cantidad de cobre depositada en la hoja y el nivel de infección. Esta relación, aunque varía con el producto cúprico aplicado, podría utilizarse para determinar la necesidad de aplicaciones en el campo para el control del repilo. Por ello, la persistencia o resistencia al lavado por lluvia es un factor determinante en los productos cúpricos. Mediante espectrofotometría de absorción atómica se puede medir la cantidad de cobre residual sobre hojas sometidas a lavado de forma artificial o bajo lluvia. Este método ha puesto de manifiesto la existencia de diferencias entre productos, principalmente relacionadas con la formulación comercial y no con el tipo de sal cúprica (Roca *et al.*, 2007).

En años muy favorables para la enfermedad, la lucha química presenta grandes dificultades y resulta muchas veces inútil o ineficaz debido a las peculiares características del patosistema. Las dos épocas en que se realizan generalmente los tratamientos coinciden, la mayoría de las veces, con los principales periodos de infección. Sin embargo, estos periodos pueden ser muy prolongados, pudiendo abarcar todo el año, dependiendo de las condiciones ambientales (Trapero *et al.*, 2001).

Debido al carácter preventivo de los tratamientos, éstos no tienen efectos sobre las infecciones ya establecidas, lo que da lugar a su ineficacia en numerosos casos. Estos tratamientos tradicionales tampoco permiten proteger las hojas jóvenes, las cuales se desarrollan durante la primavera y son extremadamente susceptibles a la infección, constituyendo la principal fuente de inóculo para el otoño siguiente. La necesidad de mojar muy bien toda la copa del árbol con el fungicida y preferentemente, las ramas bajas e interiores, que es donde más frecuentemente se desarrolla la enfermedad, supone también otra limitación a la efectividad del control químico (Trapero *et al.*, 2001).

## MATERIALES Y MÉTODO

Las evaluaciones se realizaron en el Laboratorio de Patología de Postcosecha de Fruta del Departamento de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile. Se recopilaron datos de temperatura (Anexo, Figuras 1,2,3,4,5 y 6) y precipitaciones de estaciones meteorológicas incluidas en los mismos huertos donde se llevaron a cabo los ensayos o en sus cercanías. Los ensayos en el campo se realizaron en 6 huertos (Figuras 5 y 6), que correspondieron a: Freirina, un huerto adulto destinado a la producción de aceitunas ubicado en la localidad de Freirina en la Región de Atacama, el huerto San Mariano, propiedad de la empresa Monte Olivos destinado a la producción de aceite de oliva localizado en la localidad de Longovilo en la Región Metropolitana, el huerto Lumbreras ubicado en la provincia de Melipilla, Región Metropolitana, destinado a la producción de aceite de oliva, el huerto Ruta del Sol, ubicado en la localidad de Leyda, comuna de San Antonio, Región de Valparaíso, destinado a la producción de aceite de oliva, el huerto Altamira ubicado en la localidad de María Pinto Región Metropolitana, destinado a la producción de aceite de oliva y el huerto Los Lirios ubicado en la comuna de Ovalle, Región de Coquimbo, destinado a la producción de aceite de oliva.



**Figura 5.** Ubicación de los huertos de la Zona Norte, Región de Atacama y Región de Coquimbo (Fuente: Google Maps 2011).

Según la clasificación de Koeppen, el huerto de Freirina pertenecería al clima desértico con nublados abundantes (INIA, 1989). Este clima está presente en todo el sector costero de la Región de Atacama y penetra hasta las proximidades de Copiapó y Vallenar, ya que el relieve no presenta barreras a la influencia marítima. Se caracteriza por abundante y densa nubosidad que se presenta durante la noche y se disipa durante la mañana, a veces acompañada de intensas nieblas y lloviznas. Esto también define una alta cantidad de días nublados y pocos días despejados. La influencia oceánica produce un régimen térmico moderado con poca amplitud tanto diaria como anual (DGAC, 2011).

El huerto Los Lirios presenta un clima mediterráneo subtropical semiárido y pertenece al agroclima Ovalle cuyo régimen térmico se caracteriza por una temperatura media anual de 16,6 °C, con una máxima media del mes más cálido (enero) de 28,5°C y una mínima media del mes más frío (julio) de 6,3°C. El régimen hídrico se caracteriza por una precipitación anual de 125,7 mm siendo junio el mes más lluvioso con 35,7 mm (INIA, 1989).



**Figura 6.** Ubicación de los huertos de la Zona Central en que se realizaron los ensayos (Fuente: Google Maps 2011).

El Huerto Ruta del Sol pertenece al agroclima Valparaíso (clima mediterráneo) cuyo régimen térmico se caracteriza por una temperatura media anual de 14,8°C, con una máxima media del mes más cálido (enero) 22,5°C y una mínima media del mes más frío (julio) de 8,3°C. Las lluvias suman 380 mm, siendo el mes más lluvioso junio con 103 mm (INIA, 1989).

Los huertos Altamira, Lumbreras y San Mariano pertenecen a la comuna de Melipilla y por lo tanto, tienen un clima mediterráneo y se clasificarían en el agroclima Santiago. El régimen térmico de esta zona se caracteriza por una temperatura media anual de 13,9°C, con una máxima media del mes más calido (enero) de 29°C y una mínima media del mes más frío (julio) de 2,8°C. El régimen hídrico se caracteriza por una precipitación anual de 370 mm, siendo el mes de julio el más lluvioso con 96,4 mm (INIA, 1989).

## **1. Determinación de los períodos críticos de infección por *Fusicladium oleagineum* en olivos.**

### **1.1 Ensayo embolsado de ramas.**

El ensayo se realizó en los huertos: Lumbreras en árboles del cultivar I-77, Ruta del Sol en árboles del cultivar Frantoio y Los Lirios en árboles del cultivar Biancolilla. El ensayo consistió en cubrir ramas del último flujo de crecimiento con bolsas de papel kraft para generar una barrera física e impedir la ocurrencia de infecciones por *F. oleagineum* (Figura 7). Una parte de las ramas fueron desembolsadas, secuencialmente, durante un mes y vueltas a embolsar generando períodos de infección. En los huertos de Lumbreras y Ruta del Sol se generaron 7 períodos de exposición (PE) en cada árbol, de un total de 50 árboles, mientras que en el huerto Los Lirios se generaron 8 PE (Cuadro 2) en 25 árboles, cada uno con dos repeticiones por PE. Cada rama elegida fue del último período de crecimiento y no presentaba síntomas de repilo, se marcaron y embolsaron los 5 nudos apicales. Todas las bolsas en cada huerto fueron puestas en la misma fecha. Un grupo de ramas se utilizaron para determinar el nivel de infección basal al inicio del estudio, por lo tanto, se dejaron embolsadas durante todo el ensayo y por otro lado, otro grupo de ramas no se embolsaron durante el estudio y fueron designadas como testigo absoluto, para poder cuantificar la infección total acumulada que presentaba el huerto al momento de la evaluación.



**Figura 7.** Ramas embolsadas para prevenir la ocurrencia de infecciones por *F. oleagineum* en olivos.

**Cuadro 2.** Fechas correspondientes a los períodos de exposición (PE) de ramas de olivos a infecciones por *F. oleagineum* en los huertos Lumbreras, Ruta del Sol y Los Lirios.

PE	Lumbreras	Ruta del Sol	Los Lirios
1 *	Acumulado hasta 15/04/10	Acumulado hasta 22/04/10	Acumulado hasta 06/03/10
2	15/04/10 a 18/05/10	22/04/10 a 18/05/10	06/03/10 a 01/04/10
3	18/05/10 a 16/06/10	18/05/10 a 22/06/10	01/04/10 a 07/05/10
4	16/06/10 a 22/07/10	22/06/10 a 22/07/10	07/05/10 a 08/06/10
5	22/07/10 a 19/08//10	22/07/10 a 19/08//10	08/06/10 a 09/07//10
6	19/08/10 a 16/09/10	19/08/10 a 16/09/10	09/07/10 a 10/08/10
7	16/09/10 a 21/10/10	16/09/10 a 28/10/10	10/08/10 a 11/09/10
8 **	Total Acumulado	Total Acumulado	11/09/10 a 20/11/10
9	-----	-----	Total Acumulado

\* **PE 1** corresponde a la primavera anterior, más el verano y comienzo del otoño.

\*\* **PE 8 y 9** corresponden al acumulado en todo el período de estudio.

La evaluación del ensayo, se realizó en octubre de 2010 para los huertos Lumbreras y Ruta del Sol y en noviembre de 2010 para el huerto Los Lirios. La evaluación consistió en desembolsar todas las ramas y observar la presencia de síntomas de repilo en las hojas de los nudos marcados al inicio del ensayo, obteniendo el número de hojas infectadas por rama. De esta forma se determinó la incidencia y la severidad de la enfermedad, es decir, el porcentaje de ramas infectadas y el porcentaje de hojas infectadas por rama respectivamente, para cada PE estudiado.

## 1.2 Ensayo con plantas de olivo en bolsas cv. Arbequina

Por otro lado, como un segundo ensayo para determinar los periodos críticos de infección, durante los meses de octubre a diciembre del año 2008 se dejaron 20 plantas de olivo cv. Arbequina en bolsas bajo árboles infectados cv. Arbequina del huerto San Mariano. Estas plantas fueron renovadas, retirándose del campo y sustituyéndose por otras cada 15 días. Las plantas retiradas fueron llevadas a un invernadero, donde no existía riesgo de que sufrieran infecciones posteriores por *F. oleagineum*. La evaluación del ensayo se realizó en enero del año 2009 y consistió en someter una hoja por planta a la prueba de la sosa.

### **1.3 Ensayo con hojas individuales en olivos cv. Arbequina**

En abril del año siguiente (09-04-2009) se realizó otro ensayo, esta vez con hojas obtenidas de árboles del cv. Arbequina del huerto San Mariano, para observar de acuerdo a la posición de las hojas en la rama, las infecciones latentes en los árboles, ocurridas durante el final de primavera 2008 y el verano 2009. Cabe destacar que estas ramas no presentaban síntomas de repilo y además no recibieron ninguna aplicación de fungicidas durante el periodo del ensayo. Se muestrearon 50 hojas correspondientes al primer nudo de la rama, 50 hojas correspondientes al segundo nudo de la rama, y así sucesivamente del 3º, 5º, 7º, 9º nudo y de las puntas. Estas hojas se llevaron al laboratorio y se sometieron a la prueba de la sosa para determinar la posible existencia de infecciones.

## **2. Determinación de la dinámica de esporulación de *Fusicladium oleagineum* en dos huertos de olivo.**

Muestras de hojas sintomáticas de los cultivares Arbequina y Sevillana fueron obtenidas del huerto San Mariano y del huerto de Freirina, respectivamente. Se tomaron al azar 20 hojas con manchas de repilo desde el inicio de la aparición de síntomas en octubre del año 2008 y hasta julio del año 2010 en el caso del huerto de Freirina y hasta junio de 2010 en el caso del huerto San Mariano. Estas hojas se llevaron al laboratorio, donde se realizó el lavado de 20 manchas (lesiones) de repilo (una lesión por hoja). Para esto se aplicó con una micropipeta 100 µL de agua destilada estéril, a la cual se le añadió el agente tensoactivo Tween 80 (50 µL/1000mL de agua) para facilitar el desprendimiento de las conidias desde los conidióforos. El agua de lavado fue colectada con la punta de la micropipeta, de esta forma se obtuvo una suspensión de conidias que fue observada al microscopio y a través de un hemacitómetro se contabilizó el número de conidias existentes en ella. Previamente al lavado se midió el diámetro de cada mancha con un pie de metro y con este valor finalmente se determinó el número de conidias presentes en 1 cm de diámetro de mancha.

El muestreo se realizó quincenalmente en ambos huertos, con el fin de medir en el tiempo la producción de conidias en las hojas infectadas. Cabe destacar, que durante el estudio, el muestreo en el huerto de Freirina se realizó en forma constante, no así en el huerto San Mariano, donde se suspendió desde enero del año 2009, por la desaparición de los síntomas visibles de repilo en el huerto, hasta septiembre del mismo año, cuando estos reaparecieron y se reanudó el muestreo.

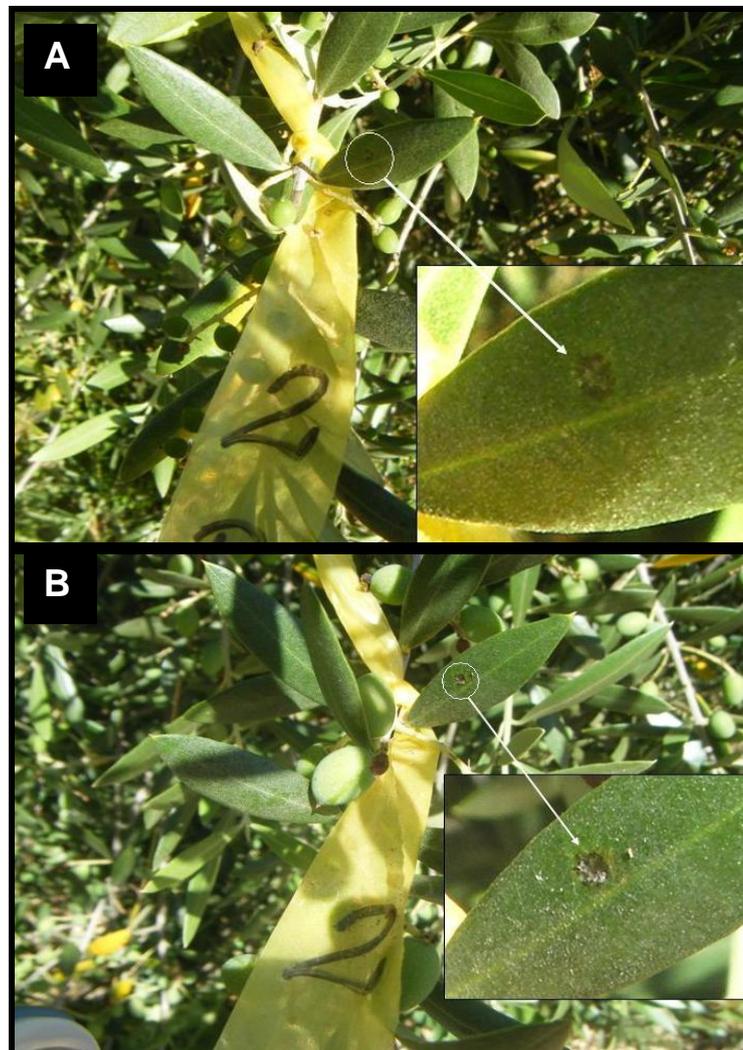
### **2.1 Seguimiento de manchas de repilo en olivar cv. Arbequina**

Se realizaron lavados de hojas en el campo haciendo un seguimiento de una misma mancha de repilo en el huerto San Mariano y Altamira. Se lavaron 10 manchas cada 15 días en el campo. Las hojas infectadas fueron escogidas al azar y marcadas con cintas plásticas de modo de lavar siempre la misma mancha (Figura 8A y B), y se les evaluó

hasta que cayeron del árbol. El lavado se realizó con micropipeta colectando la suspensión de conidias en tubos “ependorf” y posteriormente se llevaron al laboratorio para realizar el conteo de conidias del modo explicado anteriormente. Las fechas de lavado en el campo (Cuadro 3) fueron las mismas para ambos huertos, sin embargo, en San Mariano se realizó un muestreo menos.

**Cuadro 3.** Fechas de lavados de lesiones de repilo en hojas cv. Arbequina, realizados en los huertos San Mariano y Altamira, Región Metropolitana.

Huertos	Fechas de Muestreo					
San Mariano	23/10/09	-----	26/11/09	15/12/09	29/12/09	13/01/10
Altamira	23/10/09	09/11/09	26/11/09	15/12/09	29/12/09	13/01/10



**Figura 8.** Hoja de olivo cv. Arbequina con lesión (mancha) que fue lavada quincenalmente en el huerto Altamira. (A), lavada el día 15-12-2009. (B), lavada el día 13-01-2010.

### **3. Determinación del grado de susceptibilidad en el campo, de 6 cultivares de olivo a la infección por *Fusicladium oleagineum*.**

Se estudio la susceptibilidad de los siguientes cultivares: Arbosana, Bossana, Coratina, Frantoio, Koroneiki y Leccino. Cada cultivar correspondió a un tratamiento (6 tratamientos) cada uno con cuatro repeticiones. La unidad experimental fue un árbol con 5 ramas inoculadas y 5 ramas testigo (sólo aplicación de agua). Se utilizó un diseño completamente al azar.

El estudio se realizó en el huerto Lumbreras, en el cual se montaron dos ensayos, el primero en agosto del año 2009. Aquí en cada árbol se marcaron 10 ramas y en cada rama se delimitaron 5 nudos es decir, 10 hojas del crecimiento de la primavera anterior, para ser tratados y poder ser reconocidos al momento de la evaluación. En cada árbol, 5 ramas fueron inoculadas con una suspensión conidial a una concentración de  $1 \times 10^5$  conidias por mL y 5 ramas fueron dejadas como testigo, a las que sólo se les aplicó agua. El inóculo utilizado se obtuvo al lavar hojas naturalmente infectadas y con síntomas de repilo, colectadas en el mismo huerto, del cultivar I-77 que presentaba una alta susceptibilidad a la enfermedad. El inóculo fue llevado a laboratorio donde se le realizó una prueba de viabilidad, la cual alcanzó un 48% de germinación de conidias. Esta prueba de germinación se realizó sembrando una alicuota de 100  $\mu$ L de la suspensión conidial en una placa Petri con medio de cultivo agar-papa-dextrosa (PDA), se distribuyó con un aza y luego se llevó a una cámara de cultivo a 20°C por 24 horas para posteriormente determinar en el microscopio el porcentaje de conidias germinadas de un total de 100 conidias. Se consideró germinada cuando el tubo germinativo midió más del doble del tamaño de la conidia. Se hicieron tres repeticiones que se promediaron para obtener el porcentaje de viabilidad del inóculo.

La inoculación se realizó mojando las hojas con un aspersor manual, utilizándose una barrera física que separó a la rama tratada del resto a fin de inocular sólo las hojas a evaluar y evitar la diseminación de la enfermedad (Figura 9). Estando las hojas aún mojadas, se encerraron en una bolsa de polietileno para proporcionarle condiciones de alta humedad y posteriormente, se envolvieron con papel de aluminio para que la temperatura al interior de la bolsa no se elevara. Luego de 20 horas, se retiró el aluminio y las bolsas de cada rama, se dejaron orear y fueron cubiertas con una bolsa de papel "kraft" con la idea de aislar las hojas tratadas y evitar la ocurrencia de posibles infecciones naturales. El ensayo se evaluó luego de 4,5 meses de la inoculación, es decir en enero del año 2010. La evaluación consistió en descubrir las ramas y observar los síntomas de la enfermedad, luego se calculó la incidencia (porcentaje de ramas con síntomas de repilo por árbol) y severidad (porcentaje de hojas con síntomas de repilo por rama inoculada) de las infecciones por *F. oleagineum* en los distintos cultivares estudiados.

En el mes de abril del mismo año se repitió el ensayo, procediendo de la misma forma en la inoculación, pero se escogieron nuevos árboles al azar. Esta vez, se agregaron 5 ramas más por árbol, las cuales no recibieron tratamiento y se identificaron como testigos absolutos, para observar la manifestación de la enfermedad en forma natural en el campo. La viabilidad del inóculo utilizado fue de 47% de germinación de conidias y

fue obtenido del mismo lugar y de la misma forma que la vez anterior. La evaluación de este ensayo se realizó en septiembre del año 2010.

Para poder apreciar de mejor forma el nivel de enfermedad que presentó cada cultivar en ambos ensayos, se calculó un índice de enfermedad con los valores de incidencia y severidad, de acuerdo con la fórmula:

$$\text{IE} = \text{Incidencia} \times \text{Severidad} / 100$$

El efecto de inoculación de las ramas inoculadas y los IE de las ramas expuestas durante todo el período de estudio fueron sometidos a un análisis de varianza ANDEVA de una vía utilizando el programa estadístico MINITAB. Los valores fueron transformados a rangos previo al análisis para ajustarlos a una distribución normal. Las medias fueron separadas con la prueba LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ).



**Figura 9.** (A)Proceso de inoculación de ramas de olivo con *F. oleagineum*. Aspersión manual de la suspensión conidial, (B) brote inoculado, embolsado con polietileno y cubierto con aluminio y (C) brotes inoculados cubiertos con bolsa de papel “kraft”.

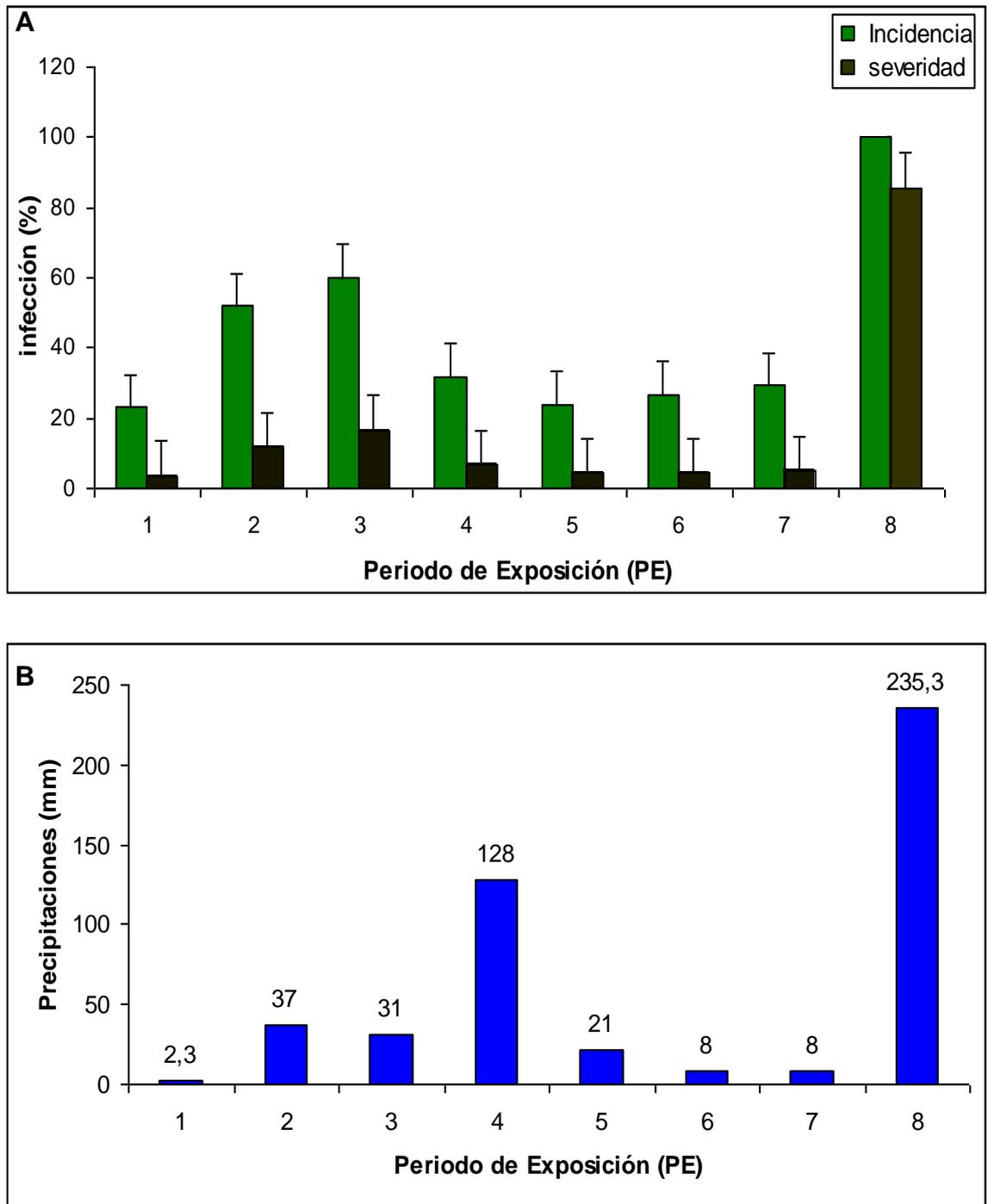
## RESULTADOS

### 1. Determinación de períodos críticos de infección por *Fusicladium oleagineum* en olivos.

#### 1.1 Ensayo Embolsado de ramas

**1.1.1 Huerto Lumbreras.** Se observaron infecciones al inicio del estudio (PE 1), este período correspondió a la primavera anterior, más el verano y el comienzo del otoño y representa el nivel basal que presentaba el huerto al inicio del ensayo (Figura 10A). Las condiciones de agua libre durante este período fueron escasas y ocurrieron principalmente en otoño (Figura 10B), lo que explicaría en parte dichas infecciones (23,1% de incidencia de repilo en PE 1). La mayor incidencia de la enfermedad ocurrió en los períodos de exposición 2 y 3 que correspondieron a los meses de otoño (abril y mayo), alcanzando un porcentaje de 52 y 60% respectivamente (Apéndice I, Cuadro 1). Este aumento de 28,9 y 36,9 puntos porcentuales en la incidencia de la enfermedad, respecto a lo obtenido en el PE1, considerado como el nivel basal de la enfermedad (dado que fue a partir de esa fecha en que se embolsaron las ramas), coincide con un aumento de las precipitaciones caídas en dicha localidad, desde 2,3 mm en el PE 1 a 37 y 31 mm de lluvia caída en el PE 2 y PE 3, respectivamente. Luego, en el período de exposición 4, donde hubo mayor cantidad de agua libre disponible para la diseminación y germinación de las conidias, la incidencia sólo fue mayor en 8,8 puntos porcentuales comparado con el PE 1, es decir, menor respecto de PE 2 y 3. Durante el siguiente período de exposición (PE 5) no aumentó la incidencia respecto de PE 1. Luego en los PE 6 y 7 se observaron pequeños incrementos en los porcentajes de ramas infectadas: 3,6 y 6,2 puntos porcentuales respectivamente. El PE 8 que correspondió a la infección por repilo acumulada durante todo el período, presentó una incidencia de 100%, es decir, al finalizar el estudio, el 100% de las ramas observadas, expuestas durante todo el estudio, presentaron lesiones de repilo.

Respecto a la severidad obtenida, es decir, el porcentaje de hojas infectadas por rama, se observó en el PE 1 un 3,5% (nivel de severidad con que se inició el estudio). Posteriormente aumentó, hasta llegar al máximo en el PE 3 alcanzando un 16,5% llegando al nivel más alto de severidad en todo el estudio, lo que coincide con el mismo período de exposición en que se observó el máximo de incidencia. En el PE 4, la severidad aumentó sólo 3,1 puntos porcentuales respecto de PE 1. Luego, el PE 5 presentó un alza en la severidad de 0,8 puntos porcentuales, lo que concuerda con que en este mismo período prácticamente no hubo incidencia. En los siguientes períodos de exposición (6 y 7), la severidad aumentó levemente respecto al PE 5. Finalmente, se observó que la severidad acumulada durante todo el período (PE 8) alcanzó a un 85,5% en las ramas de los olivos.



**Figura 10.** (A) Porcentajes de incidencia y severidad de repilo en ramas de olivo cultivar I-77 observadas en los distintos períodos de exposición (PE) estudiados. Huerto Lumbreras, Melipilla, RM. (B) Precipitaciones (mm) registradas en la estación metereológica Melipilla, durante cada PE estudiado (2010), **PE=8:** Precipitación acumulada durante todo el período de estudio.

**1.1.2 Huerto Ruta del Sol.** En este huerto se registraron infecciones durante todos los PE (Figura 11A), se observó una incidencia alta, sobre el 50% durante todo el período de estudio, independiente de la distribución de las precipitaciones (Figura 11B).

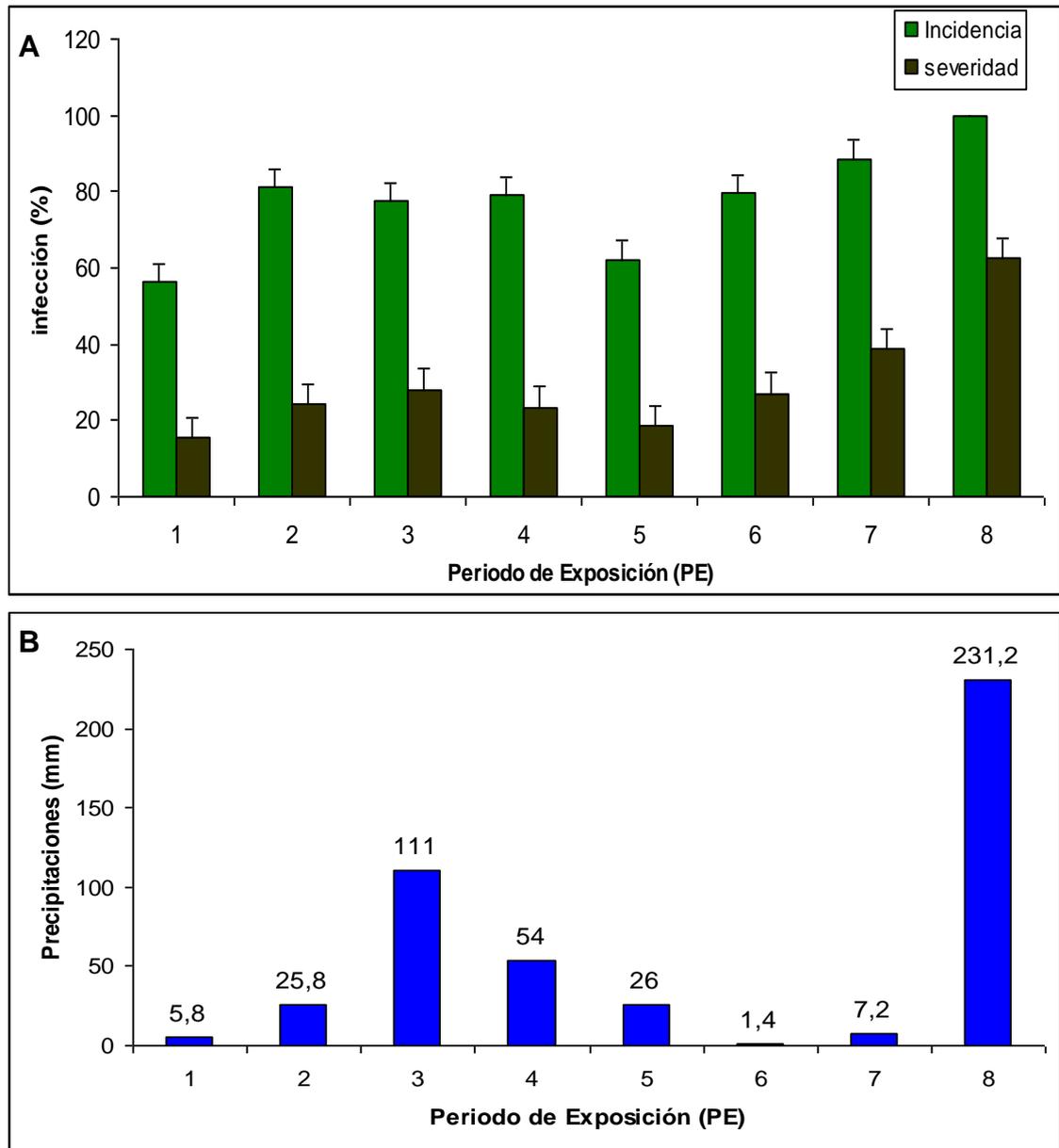
El estudio se inició con una incidencia de 56,3% y una severidad de 15,3% (Apéndice I, Cuadro 1). En los tres PE siguientes la incidencia llegó a un 79% en promedio, es decir un 40% más respecto del nivel basal de incidencia (PE 1) y el porcentaje de severidad también fue mayor, en este caso 24% en los PE 2 y 4, alcanzando un nivel mayor en el período de exposición 3 que correspondió al intervalo mayo-junio (en este caso el aumento sobre el nivel basal de severidad llegó a 12,8 puntos porcentuales o bien a un incremento del 84%).

En el PE 5 (julio-agosto) se registró menores infecciones existiendo solamente una diferencia de 5,9 puntos porcentuales con el PE 1, con una severidad de 18,6%. Más adelante, nuevamente se registraron mayores niveles de incidencia hasta llegar a un 89% en el PE 7 (intervalo septiembre-octubre), al igual que la severidad, llegando en este mismo intervalo a 38,7% presentándose como la incidencia y severidad más altas observadas en el huerto. El PE 8 que corresponde al acumulado, es decir, que estuvo expuesto durante todo el estudio presentó un 100% de incidencia y una severidad de 63%.

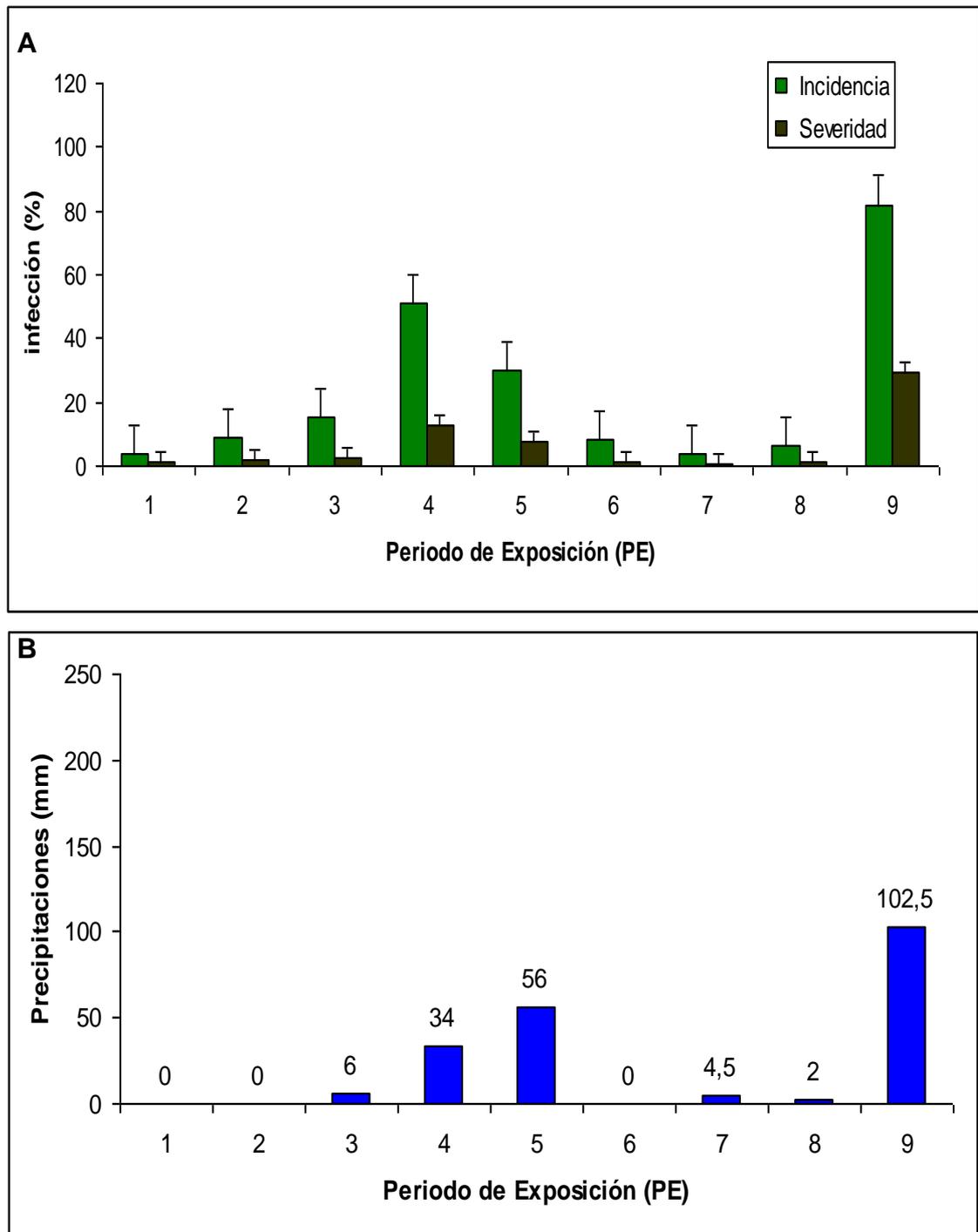
**1.1.3 Huerto Los Lirios.** En el huerto Los Lirios se observó una baja incidencia de repilo durante el período de estudio (Figura 12A). Las mayores incidencias se registraron en los meses de mayo, junio y julio, que correspondieron al mismo período en el que se concentraron las precipitaciones en la zona (Figura 12B).

El estudio se inició con un 4,1 % de incidencia en los árboles (nivel basal), luego en el PE 2 comenzó a aumentar, llegando a un 15% de incidencia en el PE 3, luego prácticamente se triplicó en el PE 4 correspondiente al intervalo mayo-junio, aquí se observó una incidencia de 51%, registrándose más tarde un 30% (PE 5). En el siguiente período de exposición (PE 6) se produjo un 8,3%, es decir, sólo 4,2 puntos porcentuales de aumento respecto del nivel basal, para mantenerse bajo el resto del estudio.

La severidad de la enfermedad en este huerto se presentó muy baja, exceptuando en los dos períodos en que la incidencia aumentó explosivamente (PE 4 y 5) que son los períodos en que las precipitaciones alcanzaron niveles de 34 y 56 mm respectivamente.



**Figura 11.** (A) Porcentajes de incidencia y severidad de repilo en ramas de olivo cultivar Frantoio observadas en los distintos períodos de exposición (PE) estudiados. Huerto Ruta del Sol, San Antonio, Región de Valparaíso. (B) Precipitaciones (mm) registradas en la estación metereológica Leyda, durante cada (PE) estudiado (2010). San Antonio, Región de Valparaíso. **PE=8:** Precipitación acumulada durante todo el período de estudio.



**Figura 12.** (A) Porcentajes de incidencia y severidad de repilo en ramas de olivo cultivar Biancolilla, observadas en los distintos períodos de exposición (PE) estudiados. Huerto Los Lirios, Ovalle, Región de Coquimbo. (B) Precipitaciones (mm) registradas en el huerto Los Lirios, durante cada (PE) estudiado (2010). Ovalle, Región de Coquimbo. **PE=9:** Precipitación acumulada durante todo el período de estudio.

## 1.2 Ensayo con plantas de olivo en bolsas cv. Arbequina

En este ensayo se detectaron hojas con infección latente (Cuadro 4), sólo en las plantas expuestas a infección durante los meses de octubre y noviembre, ocurriendo la mayor cantidad de infecciones durante la segunda quincena de octubre, en la cual un 40% del total de las hojas evaluadas presentó infección latente. En la primera quincena de noviembre se detectó un 15% de las hojas con infección. Durante el resto del período de estudio, segunda quincena de noviembre y el mes de diciembre, la prueba de la sosa no arrojó presencia de infecciones latentes.

**Cuadro 4.** Porcentajes de hojas con infección latente según prueba de la sosa en olivos cv. Arbequina en bolsa. Huerto San Mariano, Región Metropolitana.

<b>Periodo de exposición</b>	<b>% hojas con infección latente</b>
06/10/2008 al 14/10/2008	0
14/10/2008 al 30/10/2008	40
30/10/2008 al 18/11/2008	15
18/11/2008 al 05/12/2008	0
05/12/2008 al 20/12/2008	0

## 1.3 Ensayo con hojas individuales en olivos cv. Arbequina

Los porcentajes de infección latente obtenidos con la prueba de la sosa, fueron muy bajos (Cuadro 5) y se distribuyeron principalmente en los 3 últimos nudos que correspondieron a las hojas más viejas en el árbol.

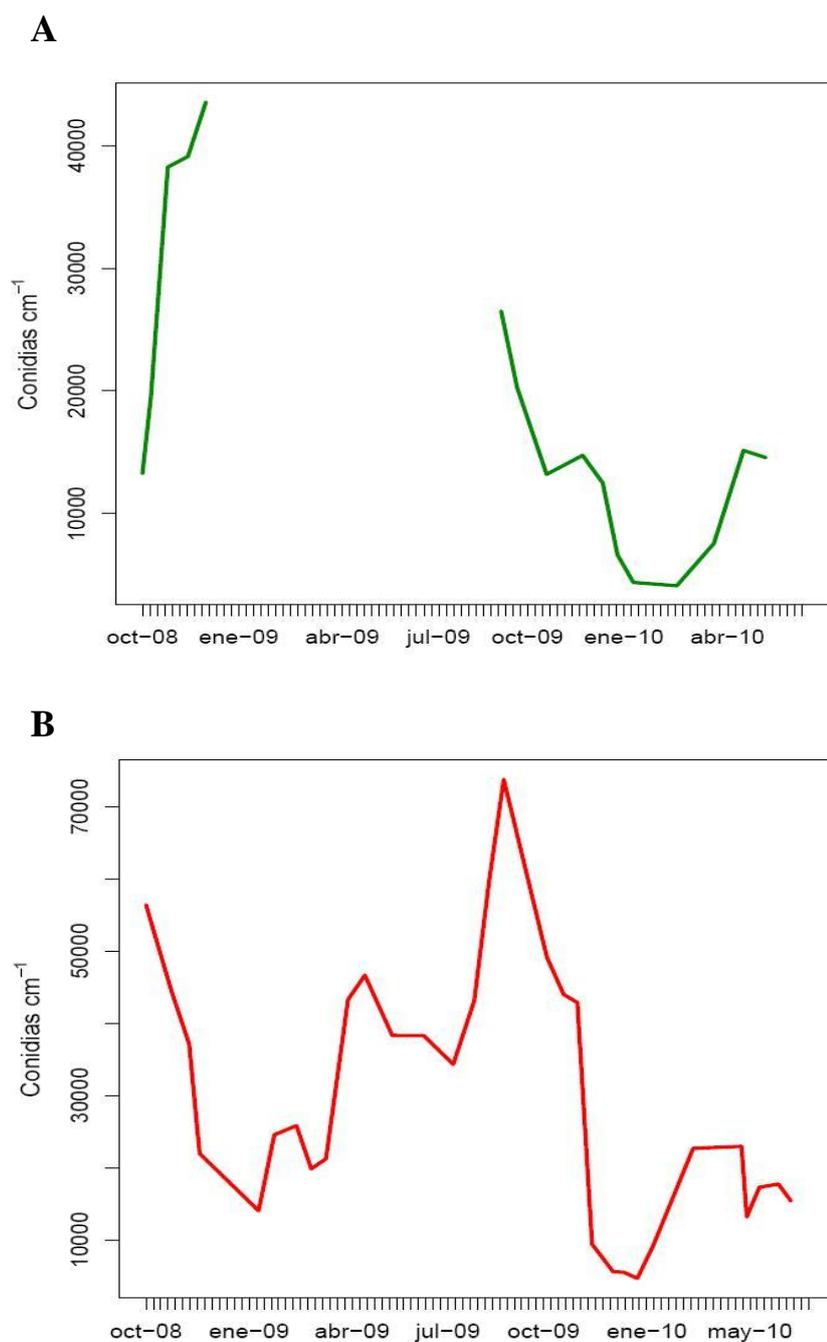
**Cuadro 5.** Hojas con infección latente de un total de 50 hojas por nudo en olivos cv. Arbequina, según prueba de la sosa. Huerto San Mariano, Región Metropolitana.

<b>Posición en la rama</b>	<b>hojas c/infección</b>	<b>% infección</b>
9° nudo	3	6
7° nudo	3	6
5° nudo	2	4
3° nudo	1	2
2° nudo	0	0
1° nudo	0	0
Punta	0	0

## 2. Determinación de la dinámica de esporulación de *Fusicladium oleagineum* en dos huertos de olivo.

En el huerto San Mariano (olivos cv. Arbequina), el primer muestreo se realizó en el mes de octubre del año 2008 en el que se obtuvo un promedio de 15.736 conidias/cm de diámetro de mancha (Figura 13A). Se observó un aumento sostenido de la producción hasta llegar a un máximo correspondiente a 57.183 conidias/cm de diámetro de mancha en el mes de diciembre. El muestreo se realizó consecutivamente cada 15 días hasta diciembre del año 2008. En enero del 2009 desaparecieron los síntomas de repilo en el huerto, debido a la caída de las hojas enfermas, por lo que tuvo que suspenderse el muestreo para reanudarlo en el mes de septiembre del mismo año, donde volvieron a aparecer manchas de repilo sobre las hojas. En este mes se obtuvo una producción promedio de 26.900 conidias/cm de diámetro de mancha que correspondieron al segundo máximo obtenido. A partir de este mes, se produjo una disminución constante en la producción de conidias hasta llegar a un mínimo en el mes de febrero correspondiente a 2.940 conidias/cm de diámetro de mancha. En esta temporada no se detuvo la producción a diferencia de la anterior, observándose posteriormente un aumento de la producción hasta llegar a mayo donde se produjo otro máximo y finalmente hacia junio comenzó a decaer. El muestreo finalizó en junio del año 2010.

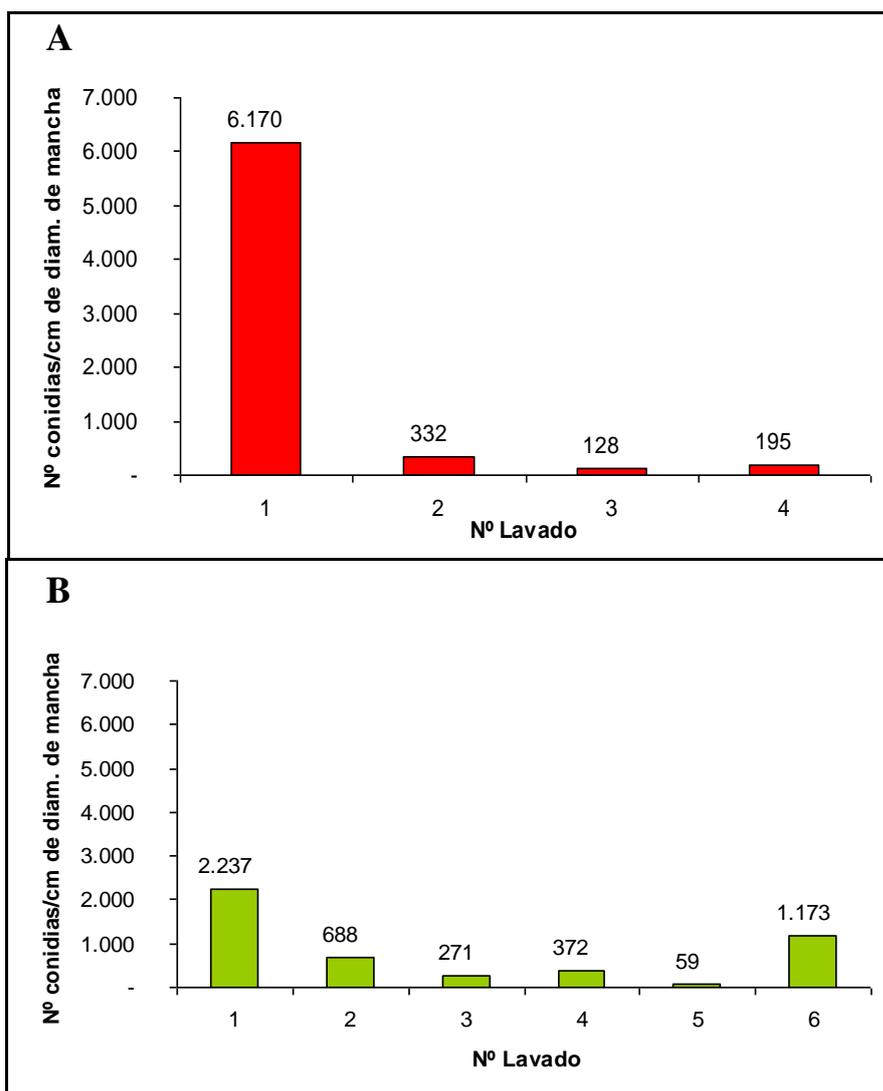
En el huerto de Freirina (olivos cv. Sevillana) se observó una producción continua de conidias durante los dos años de estudio, además de un mayor nivel de producción (Figura 13B). En este caso se observaron dos máximos de producción de conidias ocurridos durante el mes de octubre del año 2008 y 2009 correspondiente a un promedio de 59.300 y 80.824 conidias/cm de diámetro de mancha, respectivamente. Por otro lado se observó dos mínimos, ocurridos en el mes de enero del año 2009 y 2010 que correspondieron a 5.260 y 3.376 conidias/cm de diámetro de mancha respectivamente. *F. oleagineum* tuvo un comportamiento similar en ambas temporadas, con la tendencia a llegar a un máximo de producción de conidias en octubre, y un mínimo de producción en enero.



**Figura 13.** (A) Número promedio de conidias de *F. oleagineum* por centímetro de diámetro de mancha de repilo de hojas de olivo cv. Arbequina del huerto San Mariano, desde octubre de 2008 a junio de 2010. Longovilo, Región Metropolitana. (B) Número promedio de conidias de *F. oleagineum* por centímetro de diámetro de mancha de repilo de hojas de olivo cv. Sevillana muestreadas en el huerto de Freirina, desde octubre de 2008 a junio de 2010. Freirina, Región de Atacama.

## 2.1 Seguimiento de manchas de repilo en olivos cv. Arbequina

En el huerto San Mariano se observó una disminución progresiva en la producción de conidias en cada mancha de repilo (Figura 14A), la producción fue decreciendo hasta caer las hojas del árbol. En el huerto Altamira se inició el muestreo con una producción más pequeña, sin embargo, se produjo una disminución progresiva en la producción de conidias sólo hasta el mes de diciembre donde se obtuvo el mínimo observado (Figura 14B). Luego en el mes de enero se presentó un fuerte aumento en la producción en el último lavado, llegando a un promedio de 1.173 conidias/cm de diámetro de mancha foliar. Finalmente las hojas cayeron del árbol.



**Figura 14.** (A) Producción promedio de conidias/cm de diámetro de mancha de un total de 10 hojas de olivo cv. Arbequina lavadas consecutivamente, cada 15 días. Huerto San Mariano. Longovilo, Región Metropolitana. (B) Producción promedio de conidias/cm de diámetro de mancha de un total de 10 hojas de olivo cv. Arbequina lavadas consecutivamente, cada 15 días. Huerto Altamira, María Pinto, Región Metropolitana.

### 3. Determinación del grado de susceptibilidad en campo, de 6 cultivares de olivo a la infección por *Fusicladium oleagineum*.

En el primer ensayo se observó que sólo tres cultivares manifestaron la enfermedad (Cuadro 6). Estos fueron Coratina, Bossana y Arbosana mientras que Frantoio, Leccino y Koroneiki se mostraron resistentes a la enfermedad.

**Cuadro 6.** Índice de enfermedad de repilo observado en ramas de 6 cv. de olivo inoculadas artificialmente con *F. oleagineum*. Huerto Lumberas. Melipilla, RM.

Cultivar	IE Rama testigo (agua)	IE Rama Inoculada	<sup>1</sup> Efecto inoculación
Coratina	15,29	19,92	4,63 <sup>2</sup> a
Bossana	1,69	15,26	13,57 a
Frantoio	0	0	0 b
Leccino	0	0	0 b
Arbosana	0,25	0,09	0 b
Koroneiki	0	0	0 b

<sup>1</sup> Efecto inoculación corresponde a la diferencia entre el índice de enfermedad (IE) de la rama inoculada y el IE de la rama a la cual sólo se le aplicó agua. Indica la infección real producida por efecto de la inoculación. (**IE rama inoculada – IE rama testigo**).

<sup>2</sup> Promedios unidos por letras iguales en la columna indican diferencias no significativas por cultivar, según la prueba de Fisher.

Los cultivares Coratina y Bossana presentaron los más altos índices de enfermedad para el caso de las ramas inoculadas. En el cultivar Coratina la inoculación tuvo un moderado efecto (4,63) a pesar de observarse una importante infección natural (testigo). En cambio Bossana, presentó un alto efecto de inoculación (IE 13,57) ya que, la rama testigo presentó apenas un IE de 1,69 versus un IE de 15,26 de la rama inoculada. Para el cv. Arbosana se consideró que el efecto de la inoculación fue 0 debido a que la rama testigo presentó un IE mayor que el de la rama inoculada. Según la prueba de Fisher (Apéndice II) “Coratina” y “Bossana” no presentaron diferencias significativas, el resto de los cultivares se mostraron resistentes a la enfermedad.

En el segundo ensayo, además del testigo con agua, se evaluó un testigo acumulado expuesto durante todo el período de estudio, con el fin de observar las infecciones naturales ocurridas en el huerto (Cuadro 7). En esta segunda evaluación, 5 cultivares, que correspondieron a Coratina, Bossana, Leccino, Arbosana y Frantoio presentaron infecciones producto de la inoculación al momento de la evaluación.

**Cuadro 7.** Índice de enfermedad de repilo observado en la segunda evaluación en ramas de 6 cultivares de olivo expuestas a infección natural durante todo el periodo de estudio e inoculadas artificialmente con *F. oleagineum*. Huerto Lumbreras. Melipilla, RM.

<b>Cultivar</b>	<b>IE Rama expuesta todo el periodo</b>	<b>IE Rama testigo (agua)</b>	<b>IE Rama Inoculada</b>	<b><sup>1</sup>Efecto inoculación</b>
Coratina	29,90 <sup>2</sup> a	1,10	43,50	42,40 a
Bossana	50,15 a	0,10	22,90	22,80 a
Frantoio	9,73 b	0,20	0,30	0,10 b
Koroneiki	0,67 bc	0,00	0,00	0,00 b
Arbosana	0,10 c	0,00	1,90	1,90 b
Leccino	0,00 c	0,10	1,10	1,00 b

<sup>1</sup> Efecto inoculación corresponde a la diferencia entre el índice de enfermedad (IE) de la rama inoculada y el IE de la rama a la cual sólo se le aplicó Agua. Indica la infección real producida por efecto de la inoculación.

<sup>2</sup> En una misma columna los promedios unidos por letras iguales indican diferencias no significativas por cultivar, según la prueba de Fisher.

Nuevamente el cultivar Coratina fue el que obtuvo el mayor índice de enfermedad respecto de las ramas inoculadas, luego le siguió Bossana en la que se observó un alto IE para las ramas expuestas durante todo el período. Posteriormente con índices bastante menores siguieron “Frantoio”, con un bajo IE para las ramas inoculadas (0,3), sin embargo, con un alto índice de enfermedad en la rama que estuvo expuesta durante todo el estudio IE = 9,73; “Leccino”, la cual no presentó enfermedad en el testigo acumulado, pero con un IE de 1,1 para las ramas inoculadas; “Arbosana” que presentó un IE=1,9 y por último “Koroneiki”, la cual presentó infección en el caso de las ramas expuestas durante todo el período, en cambio, en las ramas inoculadas no presentó infecciones así como tampoco en las ramas con aplicación de agua.

Según la prueba estadística aplicada al efecto de la inoculación (Apéndice II), nuevamente “Coratina” y “Bossana” no presentaron diferencias significativas. Sin embargo, hay que destacar la diferencia que se observó entre éstos cultivares con el resto de los cultivares evaluados, siendo ellos los más susceptibles a la infección por *F. oleagineum*. “Leccino”, “Frantoio” y “Arbosana” no presentaron diferencias significativas entre ellos (Apéndice II). Por otro lado, la prueba estadística aplicada a las ramas expuestas durante todo el período a infección natural, presentó una tendencia similar, con la única diferencia que el cultivar Koroneiki si presentó infección, pero no se observaron diferencias estadísticas con “Frantoio”, “Leccino” y “Arbosana”.

## DISCUSIÓN

En los ensayos realizados para determinar los períodos críticos de infección, se observó que en el caso del huerto Lumbreras, existió una mayor incidencia y severidad de la enfermedad en el período comprendido entre los meses de abril y junio, lo que concuerda con la información obtenida en los experimentos realizados por Viruega y Trapero (1999) donde afirman que los principales períodos de infección ocurren durante el otoño-invierno cuando el inóculo de las lesiones es mayor. Esto se relaciona con el aumento de las precipitaciones, un factor ambiental necesario para que ocurra la germinación de las conidias y principalmente la dispersión de la enfermedad. La disminución drástica que se observó durante julio-agosto coincidió con las bajas temperaturas existentes sobre todo en el mes de julio que llegaron a  $-2.7^{\circ}\text{C}$  (Anexo). Sin embargo, como se describió en el estudio de Viruega *et al.* (2011) cuando la humedad no es un factor limitante, la infección de las hojas de olivo por *Fusicladium oleagineum* se puede dar desde los 5 hasta los 25  $^{\circ}\text{C}$ , lo que indicaría que en este caso la disminución de las temperaturas durante los meses de julio-agosto no sería la causa de la disminución de la incidencia y la severidad de la enfermedad, ya que las temperaturas promedio de estos meses fueron de 7,4 y 10,3 $^{\circ}\text{C}$  respectivamente (Anexo, Figura 4). Obanor *et al.* (2008a), observaron que la temperatura afecta significativamente la germinación de las conidias sobre hojas mojadas, siendo el rango efectivo de germinación de 5 a 25 $^{\circ}\text{C}$ , con el óptimo a los 20 $^{\circ}\text{C}$ . Al mismo tiempo se demostró que las conidias de *F. oleagineum* no pueden germinar e infectar a alta humedad relativa, a 20 $^{\circ}\text{C}$ , en ausencia de agua libre.

Viruega *et al.* (2011) describieron un efecto combinado de la temperatura con la duración del período de humedad, observaron que la severidad de la enfermedad se ve afectada significativamente por la temperatura, el período de humedad y su interacción. El efecto de la duración del período de humedad depende de la temperatura, para períodos de humedad menores o iguales a 24 horas la severidad de la enfermedad fue mayor, desde 10 a 20 $^{\circ}\text{C}$  y el máximo fue probablemente cerca de los 20 $^{\circ}\text{C}$ , para períodos de humedad mayores a 24 horas, la severidad de la enfermedad fue mayor cerca de los 15 $^{\circ}\text{C}$ , a 5 $^{\circ}\text{C}$  se detectó infección sólo en períodos mayores a 18 horas.

En el caso del huerto Ruta del Sol, el alto porcentaje de incidencia de la enfermedad, con que se inició el estudio, sería resultado de la presencia de inóculo en infecciones de la temporada anterior en las plantas estudiadas y a las condiciones ambientales favorables que presentó el huerto para el desarrollo de la enfermedad. Si bien, las precipitaciones caídas no fueron abundantes (5,8 mm), a partir de fines de verano las plantas amanecieron con su follaje mojado (agua libre) lo que fue suficiente para diseminar las conidias del hongo y hacerlas germinar. Además, la temperatura media promedio durante este período fue de 15  $^{\circ}\text{C}$ , apropiada para producir nuevas infecciones. En general, en el huerto Ruta del Sol, se observó una incidencia más uniforme a lo largo de los meses, esto atribuido probablemente a la condición de humedad constante en la localidad. Este huerto se encuentra ubicado muy cerca de la costa, y por lo tanto, presenta mayor humedad y las temperaturas son más estables, lo que hace muy favorable el desarrollo de la enfermedad. A pesar de ser más homogéneos

los porcentajes de incidencia, vuelve a ocurrir, al igual que en el huerto Lumbreras, una disminución en el periodo julio-agosto, lo cual se debería a una disminución del inóculo disponible desde las manchas de repilo presentes en las hojas, debido a que estas manchas corresponden al período de primavera del año 2009, y por lo tanto están esporulando y permitiendo las infecciones generadas desde entonces y ya estarían terminando su ciclo. Cabe destacar el hecho, de que en esta localidad el porcentaje de incidencia de la enfermedad, es decir el número de ramas infectadas por árbol siempre se mantuvo sobre el 50%. Lo que implica que durante prácticamente todo el año, existió un alto nivel de inóculo, además de las condiciones favorables para la infección. Es muy probable también que en este tipo de localidades, con condiciones tan favorables para el desarrollo de la enfermedad, la variedad juegue un papel más importante que en otras localidades de latitudes cercanas pero ubicadas al interior. En el caso de la severidad, se observó también homogénea a lo largo del año.

El huerto Ruta del Sol, es un ejemplo en que no necesariamente las lluvias son el requisito para que ocurran infecciones, lo que ocurrió en este huerto muestra que dada una alta humedad relativa, que tiene por efecto que las plantas amanezcan húmedas todos los días, basta para que ocurran infecciones permanentes. Sumado a la temperatura más homogénea, debido a su ubicación cercana a la costa (alrededor de los 15 °C promedio) da como resultado un riesgo constante de que las plantas se enfermen.

En el huerto Los Lirios, ubicado en la localidad de Ovalle, Región de Coquimbo, se presentó una gran incidencia de la enfermedad durante mayo-julio que coincidió con la ocurrencia de precipitaciones en el lugar, tomando en cuenta que las condiciones de humedad son más bajas, al aumentar las precipitaciones ocurrió un aumento explosivo en la incidencia de la enfermedad. La severidad por su parte también registró aumentos durante estos meses pero en menor grado que en la incidencia.

Al realizar la prueba de la sosa, en plantas en bolsas, los resultados concuerdan con lo observado en el ensayo de dinámica de esporulación en el mismo huerto para el período de la segunda quincena de octubre. Sin embargo, durante noviembre y principios de diciembre, no se observó lo esperado, ya que, la prueba de la sosa no arrojó infecciones latentes, y en el estudio de dinámica de esporulación, se obtuvieron máximos de producción de conidias en la misma fecha. Por lo tanto, no existió el agua libre necesaria para que se dispersaran las conidias y cayeran desde los árboles infectados hacia las plantas en bolsas ubicadas bajo ellos.

Para la prueba de la sosa, realizada con hojas individuales, los porcentajes de infección fueron muy bajos y se distribuyeron principalmente en los 3 últimos nudos que correspondieron a hojas más viejas en el árbol. Estas infecciones se deben a infecciones ocurridas probablemente a fines de invierno de la temporada anterior, ya que las hojas más viejas del árbol son menos susceptibles que las hojas jóvenes (López-Doncel *et al.*, 2000; Obanor *et al.*, 2011; Viruega *et al.*, 2011).

Finalmente, de acuerdo a los ensayos realizados para la determinación de los períodos críticos de infección, se observó que los principales períodos de infección en los tres huertos estudiados coinciden con los meses de otoño (desde abril hasta inicios de julio). Posteriormente se observó una disminución de infecciones probablemente debido a la

disminución de inóculo presente en el huerto, cuya causa sería el término del ciclo del hongo, para luego, a fines de invierno comenzar a aumentar debido a las manchas de repilo en las hojas generadas en la última brotación. Estas manchas aparecen paulatinamente y con ellas se renueva y se incrementa la cantidad de inóculo del patógeno presente sobre las plantas.

Según Viruega y Trapero (1999), la incidencia y la severidad de la enfermedad varían significativamente entre años y dentro de las estaciones. Según lo observado por estos investigadores, durante el verano no existe producción de conidias debido a lo seco de la estación, por otro lado la densidad (conidias/cm<sup>2</sup>) y la viabilidad de las conidias es menor al final de la primavera. En el estudio realizado en el huerto San Mariano para determinar la dinámica de esporulación de *F. oleagineum*, se observó un máximo de producción de conidias en diciembre del año 2008, correspondiente al inicio del verano en Chile, sin embargo, ya en enero se detuvo la producción. En el siguiente año, ocurrió algo totalmente opuesto, ya que, el máximo se obtuvo en septiembre, a partir del cual comenzó a decaer progresivamente la producción de conidias, pero ésta no se detuvo y continuó aunque muy reducida hasta marzo, donde comenzó a aumentar nuevamente. Esta disminución de la producción de conidias durante el verano se explica, según lo dicho por Trapero y Blanco (2008), porque el hongo en períodos desfavorables, principalmente tiempo seco y caluroso, sobrevive en las hojas afectadas que permanecen en el árbol. Tras un periodo húmedo puede producirse con facilidad una nueva producción de conidias en las manchas foliares. Es probable que el gran aumento ocurrido en el mes de diciembre del año 2008 se debió a la presencia de una lluvia más bien atípica para esa época del año. Como también ocurrió en las investigaciones de Contreras (2006), el cual observó un aumento en la esporulación del patógeno durante la segunda quincena de noviembre, tras abundantes precipitaciones a comienzos de noviembre. Lo que ocurrió durante enero-agosto del año 2009, es decir, la ausencia de hojas sintomáticas en el huerto, podría ser producto de una baja carga de inóculo existente en el huerto.

En el caso del huerto de Freirina, se observaron dos máximos en la producción de conidias, uno en otoño y otro en primavera, lo que concuerda con las investigaciones realizadas por Soriano *et al.* (1997), en que al estudiar la cantidad de inóculo a lo largo del año obtuvieron también dos máximos, uno en otoño y otro en primavera, coincidiendo con las condiciones climáticas más favorables para el desarrollo del hongo. Estas condiciones de mayor humedad, tomando en cuenta que el huerto está situado cercano a la costa, serían las responsables del fenómeno observado en este huerto, en que, al contrario de lo ocurrido en San Mariano, la producción de conidias fue permanente durante todo el estudio.

Los resultados obtenidos en San Mariano para el ensayo de seguimiento de una misma mancha, muestran que inicialmente existió una gran cantidad de conidias sobre la lesión, que luego disminuyó drásticamente y permaneció baja durante el resto del estudio. En el caso de Altamira, llama la atención el gran incremento observado en el último lavado, ya que de 59 conidias/cm de diámetro de mancha aumentó a 1.173 conidias/cm de diámetro de mancha foliar en el siguiente lavado. Estos resultados, señalan la importancia de seguir controlando las lesiones presentes en el árbol, ya que, a

pesar de ser lavadas, éstas seguirán produciendo conidias y proporcionando inóculo para infecciones posteriores.

En los ensayos realizados para determinar la susceptibilidad de 6 cultivares de olivo a *F. oleagineum*, los cultivares Bossana y Coratina se comportaron como los más susceptibles. El primero alcanzando el máximo de incidencia en las dos evaluaciones realizadas en el huerto Lumbreras y el segundo alcanzando el máximo de severidad de la enfermedad en ambas evaluaciones. Este resultado es muy significativo, ya que constituye el primer reporte de susceptibilidad para ambos cultivares. En el caso de Frantoio la literatura lo clasifica en todas las categorías, sin embargo según este estudio, Frantoio se comportó como un cultivar resistente a moderadamente susceptible, ya que en la segunda evaluación alcanzó un bajo índice de enfermedad en el caso de las ramas inoculadas. Por otro lado, al observar las ramas expuestas durante todo el período, es decir, al observar la infección natural en el huerto, se obtuvo que ésta llegaba a un IE bastante alto (9,73) lo que indica que el nivel de incidencia y severidad que presente esta variedad va a responder exclusivamente a las condiciones favorables que se presenten para el desarrollo de la enfermedad, es decir, las condiciones de temperatura, humedad y abundancia de inóculo existente y no necesariamente a una resistencia propia del cultivar en este caso. El cultivar Arbosana es considerado para algunos autores como un cultivar resistente, en este estudio presentó bajos índices de enfermedad en las dos inoculaciones, y según la prueba estadística no presentó diferencias con Leccino y Frantoio por lo que podría catalogarse como un cultivar resistente a moderadamente susceptible. El cultivar Leccino según la literatura citada, también se cataloga como un cultivar resistente, y según este estudio, debido al bajo índice obtenido en la segunda inoculación también se catalogaría como resistente a moderadamente susceptible. Se podría hacer referencia, a una especie de resistencia no absoluta para el caso de estos cultivares, los cuales desarrollan la enfermedad al someterse a grandes presiones de inóculo, sumado a excelentes condiciones de humedad y temperatura favorables para el patógeno.

El cultivar Koroneiki según la inoculación realizada, arrojó los resultados esperados, ya que al igual que como lo citan Trapero *et al.* (1998), correspondería a un cultivar resistente a la infección por *F. oleagineum*. Sin embargo, al observar los datos de incidencia y severidad obtenidos naturalmente en el campo, es decir, en las ramas que estuvieron expuestas durante todo el periodo de estudio, se puede observar que sí presentó la enfermedad aunque en índices bajos. Lo que indicaría que el cultivar no es resistente a la infección, si no que es probable que se infecte menos que otras cultivares bajo condiciones similares, pero cuando se presentan condiciones extremadamente favorables, sí se infecta. Es importante tomar en cuenta el hecho de que las ramas inoculadas fueron sometidas a solo un evento de infección y no a múltiples eventos (condiciones ambientales y patógeno) como las hojas expuestas todo el tiempo, lo que explicaría las diferencias observadas.

El hecho de que algunos cultivares se comportaron de distinta forma en las dos inoculaciones realizadas, como es el caso de “Frantoio” y “Leccino”, que primero se comportaron como cultivares resistentes, (de acuerdo con lo dicho en la literatura) y más tarde presentaron la enfermedad, se debe netamente a las condiciones climáticas existentes en el momento de la inoculación, dado que las dos inoculaciones fueron

realizadas en el mismo lugar, el inóculo fue obtenido de la misma forma y los porcentajes de viabilidad del inóculo en ambos casos fue similar. Sin embargo, en el momento de la segunda inoculación, que fue realizada en otoño, se observaron una pequeña cantidad de infecciones naturales de repilo en algunos árboles del cultivar Frantoio en el huerto, lo que indicaba que las condiciones de humedad eran altamente favorables al momento de la inoculación, no así en la primera inoculación que se realizó en primavera. Esto produjo que en la segunda inoculación se presentaran infecciones naturales en cultivares que no presentaron la enfermedad en la primera inoculación. Lo que tiene relación con los resultados obtenidos por Obanor *et al.* (2011) que indicaron que la humedad de la hoja es probablemente la variable ambiental más importante, regulando junto con la temperatura, la rapidez y el nivel de desarrollo de la enfermedad.

Es muy importante mantener bajo control los niveles de inóculo presentes en el huerto, ya que, si bien algunos cultivares se enfermarán más rápido, todos finalmente lo harán unos con mayor intensidad que otros. Por último, como se observa en algunas zonas la presencia permanente de infecciones durante todo el año, debido a las condiciones ambientales propicias para el desarrollo del hongo, se debe establecer un adecuado control de esta enfermedad, sobre todo cuando se está bajo condiciones de alta humedad, temperaturas medias alrededor de los 15°C y cuando el cultivar de olivo es susceptible.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a las condiciones en que se realizó este estudio es posible concluir que:

- Existe estacionalidad en los períodos críticos de infección de *F. oleagineum*. Siendo los meses de otoño-invierno los más severos. Se confirma la importancia de la existencia de agua libre producto de rocíos, los cuales dan inicio a las infecciones, en ausencia de precipitaciones.
- Se pudo establecer la dinámica de esporulación de *F. oleagineum*, confirmándose dos períodos de mayor esporulación, otoño y primavera, los que corresponden a los períodos de mayor infección. Si las condiciones de humedad lo permiten *F. oleagineum* puede producir conidias durante todo el año, existiendo permanentemente inóculo disponible para producir infecciones y continuar con el desarrollo del ciclo del hongo.
- Los cultivares más susceptibles a *F. oleagineum* son Coratina y Bossana, el resto de los cultivares evaluados Arbosana, Frantoio, Koroneiki y Leccino fueron moderadamente susceptibles.

**BIBLIOGRAFÍA CITADA**

ANTÓN, A. y LABORDA, E. 1989. Estudio de la susceptibilidad/resistencia de cultivares del olivo (*Olea europea* L.) al patógeno *Cycloconium oleaginum* (Cast.) (*Spilocaea oleagina* Hugh.). Bol. San. Veg. Plagas, 4:385-403.

ANTÓN, A., LABORDA, E. y ALONSO, C. 1989. Observaciones del “Repilo del olivo” (*Spilocaea oleagina* Hugh.= *Cycloconium oleaginum* Cast.) al microscopio electrónico de barrido. Bol. San. Veg. Plagas, 4: 375:383.

BENÍTEZ, Y., BOTELLA, M., TRAPERO, A., ALSALIMIYA, M., CABALLERO, J., DORADO, G. and MUÑOZ-BLANCO, J. 2005a. Molecular analysis of the interaction between *Olea europaea* and the biotrophic fungus *Spilocaea oleagina*. Molecular Plant Pathology, 6 (4): 425-438.

BENÍTEZ, Y., GARCÍA-LIMONES, C., MOYANO, E., TRAPERO, A., CABALLERO, J., MUÑOZ-BLANCO, J. y DORADO, G. 2005b. Estudio molecular de la enfermedad del repilo: clonación de genes implicados en la interacción *Olea europea/Spilocaea oleagina*, cuantificación de su expresión génica mediante PCR a tiempo real (QRT-PCR) y análisis del polimorfismo entre cultivares de olivo. XII Simposium Científico-Técnico Expoliva 2005 12 a 13 de Mayo. Foro del Olivar y medio Ambiente. 6 p.

BENÍTEZ, Y., GARCÍA-LIMONES, C., MOYANO, E., TRAPERO, A., CABALLERO, J., MUÑOZ-BLANCO, J. y DORADO, G. 2007. El repilo del olivo: clonación, cuantificación de la expresión génica y análisis del polimorfismo entre cultivares de genes expresados diferencialmente. En: I Congreso de Cultura del Olivo. España. pp. 663-671.

CIVANTOS, C. 1992. El repilo del olivo, etiología, epidemiología y lucha. Agricultura, 723: 872-876.

CONTRERAS, F. 2005. Control integrado de Repilo. Informativo N° 24. INIA INTIHUASI. Disponible en: <http://www.inia.cl/medios/intihuasi/documentos/informativos/Informativo-24.pdf> leído 01 de mayo del 2009.

CONTRERAS, R. 2006. Evaluación de diferentes fungicidas de uso orgánico en el control de *Spilocaea oleagina* Hughes (agente causal del Repilo en olivos). Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 36p.

DGAC. Dirección General de Aeronáutica Civil. Dirección meteorológica de Chile. 2011. Climas de Chile. Disponible en: <http://www.meteochile.gob.cl/climas/climas.html> leído el 3 de octubre del 2011.

EL AABIDINE, A., BAISSAC, Y., MOUKHLI, A., JAY-ALLEMAND, C., KHADARI, B. and EL MODAFAR, C. 2010. Resistance of olive tree to *Spilocaea oleagina* is mediated by the synthesis of phenolic compounds. *International Journal of Agriculture & Biology*, 12:61-67.

FDF-INIA-DMC. Sistema Agroclimático. Disponible en <http://www.agroclima.cl/> leído el 10 de enero del 2011.

GIL-ALBARELLOS, C. 2011. Enfermedades del olivo: Descripción, síntomas y métodos de lucha del repilo, el emplomado, la seca y la tuberculosis. *Cuaderno de Campo*, 46: 29-33.

GONZÁLEZ-LAMOTHE, R., SEGURA, R., TRAPERO, A., BALDONI, L., BOTELLA, M. and VALPUESTA, V. 2002. Phylogeny of the fungus *Spilocaea oleagina*, the causal agent of peacock leaf spot in olive. *FEMS Microbiology Letters*, 210:149-155.

Google Maps. 2011. Disponible en: <http://maps.google.cl/> leído el 05 de octubre del 2011.

IANNOTTA, N., MONARDO, D. and PERRI, L. 2002. Effects of different treatments against *Spilocaea oleagina* (Cast.) Hugh. *Acta Hort.* 586: 741-744.

IGLESIAS, R. 2010. Aceite de oliva en Chile. *Mercados Agropecuarios*. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Boletín N° 219, pp: 9-13.

INIA. Instituto de Investigación Agropecuaria. 1989. Mapa agroclimático de Chile. 221 p.

INIA. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. 2003. Mancha ocular del olivo u ojo de pavo. *Manual del Cultivo del Olivo*, Boletín N° 101: 116-118.

LÓPEZ-DONCEL, L and TRAPERO, A. 1999. Resistance of olive tree cultivars to leaf spot caused by *Spilocaea oleagina*. *Acta Hort.* 474: 549-553.

LÓPEZ-DONCEL, L., VIRUEGA, J. y TRAPERO, A. 2000. Respuesta del olivo a la inoculación con *Spilocaea oleagina*, agente del Repilo. *Bol. San. Veg. Plagas*, 26: 349-363.

MORAL, J., ÁVILA, A., LÓPEZ-DONCEL, L., ALSALIMIYA, M., OLIVEIRA, R., GUTIÉRREZ, F., NAVARRO, N., BOUHMIDI, K., BENALI, A., ROCA, L. y TRAPERO, A. 2005. Resistencia del olivo a los "Repilos". XII Simposium Científico-Técnico Expoliva 2005 Jaén, 12 a 13 de Mayo. *Foro del olivar y medio ambiente*. 10 p.

MUNGIANU, M., OTGIANU, L., TOLU, G., GARAU, R., PROTA, V. and PROTA, U. 2002. Investigations on olive leaf spot in Sardinia. *Acta Hort.* 586: 769-772.

- OBANOR, F., WALTER, M., JONES, E. and JASPERS, M. 2005a. Sources of variation in a field evaluation of the incidence and severity of olive leaf spot. *New Zealand Plant Protection*, 58:273-277.
- OBANOR, F., WALTER, M., JONES, E. and JASPERS, M. 2005b. In vitro effects of fungicides on conidium of *Spilocaea oleagina*, the cause of olive leaf spot. *New Zealand Plant Protection*, 58:278-282.
- OBANOR, F., WALTER, M., JONES, E. and JASPERS, M. 2008a. Effect of temperature, relative humidity, leaf wetness and leaf age on *Spilocaea oleagina* conidium germination on olive leaves, *Eur. J. Plant Pathol.* 120:211-222.
- OBANOR, F., JASPERS, E., JONES, E. and WALTER, M. 2008b. Greenhouse and field evaluation of fungicides for control of olive leaf spot in New Zealand. *Crop Protection*, 27: 1335-1342.
- OBANOR, F., WALTER, M., JONES, E. and JASPERS, M. 2011. Effects of temperature, inoculum concentration, leaf age and continuous and interrupted wetness on infection of olive plants by *Fusicladium oleagineum*. *Plant Pathology*, 60: 190-199.
- ROCA, L., VIRUEGA, J., LÓPEZ-DONCEL, L., NAVARRO, N., SEGURA, R., ALSALIMIYA, M. y TRAPERO, A. 2006. El repilo del olivo y del acebuche. Servicio de Ordenación de los Recursos Forestales, Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, 6 p.
- ROCA, L., MORAL, J., VIRUEGA, J., ÁVILA, A., OLIVERIA, R. y TRAPERO, A. 2007. Los fungicidas cúpricos en el control de las enfermedades del olivo. En: Estudios actuales en relación a su aplicación y alternativas de control. Dossier, *Vida Rural*: 52-60.
- SANEI, F. and RAZAVI, F. 2011. Survey of *Spilocaea oleagina*, causal agent of olive leaf spot, in North of Iran. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 2(3): 33-38.
- SCHUBERT, K., RITSCHEL, A. and BRAUN, U. 2003. A monograph of *Fusicladium* s. lat. (Hyphomycetes). *Schelchtendalia*, 9:1-132.
- SERGEEVA, V., BRAUN, U., SPOONER-HART, R. and NAIR, N. 2009. Observations on spot caused by *Fusicladium oleagineum* on olives (*Olea europaea*) in New South Wales, Australia. *Australasian Plant Disease Notes*, 4: 26-28.
- SHABI, E., BIRGER, R. and LAVEE, F. 1994. Leaf Spot (*Spilocaea oleagina*) of olive in Israel and its control. *Acta Hort.* 356: 390-394.
- SORIANO, M. 2006. El Olivar de Castilla-La Mancha y su protección fitosanitaria. *Cuadernos de Estudios Manchegos*, 30: 9-42.

SORIANO, M., PORRAS, A., TORRES, A. y VEGA, M. 1997. El “repilo” en Ciudad Real: Influencia de la orientación y altura del ramo sobre la incidencia y severidad del Repilo en olivos Cornicabra de la provincia de Ciudad Real. Agricultura, Revista Agropecuaria, Olivar y Aceite, 782: 734-737.

TEVIOTDALE, B. and STEVEN, G. 1995. Consistent annual treatment helps future olive leaf spot control. California Agriculture 49(5):27-32.

TRAPERO, A. 1995. *Spilocaea oleagina*: El Repilo del olivo. Agricultura, Revista Agropecuaria, Olivar y Aceite, 750: 62-64.

TRAPERO, A., LÓPEZ, L. y VIRUEGA, J. 1998. Los “Repilos” del olivo: etiología, epidemiología y estrategias de control. Phytoma. España, 102: 154-158.

TRAPERO, A.; VIRUEGA, J y LÓPEZ, L. 2001. El repilo o caída de las hojas del olivo en España. Vida Rural. Cultivos Leñosos, 126: 46-50.

TRAPERO, A y BLANCO, M. 2008. Enfermedades. pp. 597-655. En: El cultivo del olivo. Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, L. 6º ed. Plaza de edición Madrid. 846 p.

VIRUEGA, J. and TRAPERO, A. 1999. Epidemiology of leaf spot of olive tree caused by *Spilocaea oleagina* in southern Spain. Acta Hort. 474: 531-534.

VIRUEGA, J., ROCA, L., MORAL, J. and TRAPERO, A. 2011. Factors affecting infection and disease development on olive leaves inoculated with *Fusicladium oleagineum*. Plant Disease, 95:1139-1146.

ZARCO, A., VIRUEGA, J., ROCA, L., y TRAPERO, A. 2007. Detección de las infecciones latentes de *Spilocaea oleagina* en hojas de olivo. Bol. San. Veg. Plagas, 33: 235-248.

## APÉNDICE I.

Cuadro 1. Niveles de incidencia y severidad en ensayo de periodos críticos de infección por *F. oleagineum* en olivos. Ensayo embolsado de ramas.

## a) Huerto Lumbreras

N° Rama	Período de exposición (PE)		N° Total ramas	N° Ramas infectadas	Incidencia (%)	Severidad (%)
	N°	Fecha				
0	1	Enero hasta 15/04/10	39	9	23,1	3,5
1	2	15/04/10 a 18/05/10	50	26	52,0	11,7
2	3	18/05/10 a 16/06/10	50	30	60,0	16,5
3	4	16/06/10 a 22/07/10	47	15	31,9	6,6
4	5	22/07/10 a 19/08//10	46	11	23,9	4,4
5	6	19/08/10 a16/09/10	45	12	26,7	4,5
6	7	16/09/10 a 21/10/10	41	12	29,3	4,9
7	8	Enero a Octubre	50	50	100,0	85,5

## b) Huerto Ruta del Sol

N° Rama	Período de exposición (PE)		N° Total ramas	N° Ramas infectadas	Incidencia (%)	Severidad (%)
	N°	Fecha				
0	1	Enero hasta 22/04/10	32	18	56,3	15,3
1	2	22/04/10 a 18/05/10	42	34	81,0	24,5
2	3	18/05/10 a 22/06/10	40	31	77,5	28,1
3	4	22/06/10 a 22/07/10	38	30	78,9	23,5
4	5	22/07/10 a 19/08//10	37	23	62,2	18,7
5	6	19/08/10 a16/09/10	34	27	79,4	27,1
6	7	16/09/10 a 28/10/10	35	31	88,6	38,7
7	8	Enero a Octubre	50	50	100,0	62,6

## c) Huerto Los Lirios

N° Rama	Período de exposición (PE)		N° Total ramas	N° Ramas infectadas	Incidencia (%)	Severidad (%)
	N°	Fecha				
0	1	Enero hasta 06/03/10	49	2	4,1	1,3
1	2	06/03/10 a 01/04/10	45	4	8,9	1,9
2	3	01/04/10 a 07/05/10	46	7	15,2	2,4
3	4	07/05/10 a 08/06/10	49	25	51,0	12,8
4	5	08/06/10 a 09/07//10	50	15	30,0	7,5
5	6	09/07/10 a 10/08/10	48	4	8,3	1,3
6	7	10/08/10 a 11/09/10	50	2	4,0	0,7
7	8	11/09/10 a 20/11/10	48	3	6,3	1,0
8	9	Enero a Noviembre	50	41	82,0	29,2

Cuadro 2. Infecciones latentes según prueba de la sosa, en hojas de plantas en bolsa puestas bajo la copa de árboles sintomáticos de la variedad Arbequina para detectar infecciones.

Repetición/Fecha	Hojas con infección latente				
	06/10/2008	14/10/2008	30/10/2008	18/11/2008	05/12/2008
R1	0	0	2	0	0
R2	0	3	0	0	0
R3	0	5	1	0	0
R4	0	0	0	0	0
total hojas analizadas	16	20	20	20	20

Cuadro 3. N° de conidias por cm de diámetro de mancha de repilo, ensayo de seguimiento a una misma mancha de repilo.

## a) Huerto San Mariano

N° Lavado	Fecha	Prom. conidias/lavado
1	23/10/2009	6170
2	26/11/2009	332
3	15/12/2009	128
4	29/12/2009	195
5	13/01/2010	0

## b) Huerto Altamira

<b>Nº</b>	<b>Fecha</b>	<b>Prom. conidias/Lavado</b>
1	23/10/2009	2237
2	09/11/2009	688
3	26/11/2009	271
4	15/12/2009	372
5	29/12/2009	59
6	13/01/2010	1173

Cuadro 4. Ensayo de susceptibilidad, de 6 cultivares de olivo a infección por *F. oleagineum*.

Niveles de incidencia y severidad obtenidas en el ensayo de susceptibilidad, huerto Lumbreras, Melipilla, RM.

<b>Variedad</b>	<b>Incidencia<sup>1</sup> (%)</b>	<b>Severidad<sup>2</sup> (%)</b>	<b>Incidencia<sup>3</sup> (%)</b>	<b>Severidad<sup>4</sup> (%)</b>
Arbosana	5	9,1	20	15,0
Koroneiki	0	0,0	0	0,0
Bossana	40	30,3	75	31,7
Coratina	10	37,1	70	49,1
Leccino	0	0,0	15	16,7
Frantoio	0	0,0	5	10,0

<sup>1</sup> Porcentaje de ramas con síntomas de repilo por árbol. Primer ensayo.

<sup>2</sup> Porcentaje de hojas con síntomas de repilo por rama. Primer ensayo.

<sup>3</sup> Porcentaje de ramas con síntomas de repilo por árbol. Segundo ensayo.

<sup>4</sup> Porcentaje de hojas con síntomas de repilo por rama. Segundo ensayo.

## APÉNDICE II

### ANOVA para los ensayos de susceptibilidad de 6 cultivares de olivo a infección por *F. oleagineum*.

- **1º evaluación Huerto Lumbreras, Melipilla, RM. ANOVA para el efecto de la inoculación EI.**

ANOVA unidireccional: Rango vs. trat

Fuente	GL	SC	MC	F	P
trat	5	472,5	94,5	5,04	0,005
Error	18	337,5	18,8		
Total	23	810,0			

S = 4,330 R-cuad. = 58,33% R-cuad.(ajustado) = 46,76%

		ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada			
Nivel	N	Media	Desv.Est.		
1	4	9,500	0,000	-----*-----	
2	4	16,250	10,243	-----*-----	
3	4	20,750	2,754	-----*-----	
4	4	9,500	0,000	-----*-----	
5	4	9,500	0,000	-----*-----	
6	4	9,500	0,000	-----*-----	
			-----+-----+-----+-----		
			6,0	12,0	18,0 24,0

Desv.Est. agrupada = 4,330

- **2º evaluación Huerto Lumbreras, Melipilla, RM. ANOVA para las ramas testigo acumulado.**

ANOVA unidireccional: Rango vs. trat

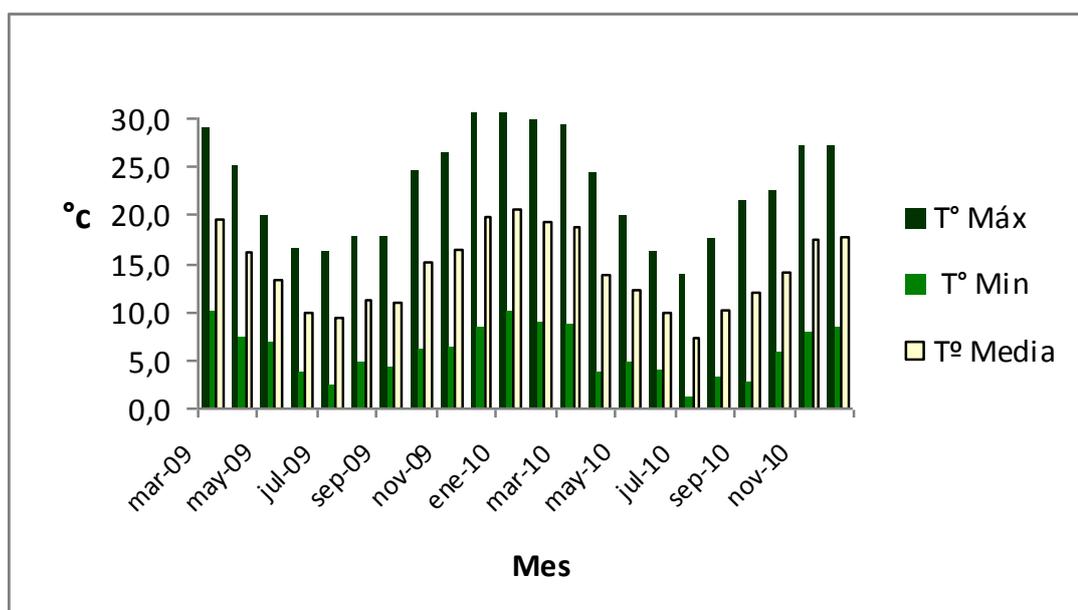
Fuente	GL	SC	MC	F	P
trat	5	755,7	151,1	13,16	0,000
Error	17	195,3	11,5		
Total	22	951,0			



## ANEXO

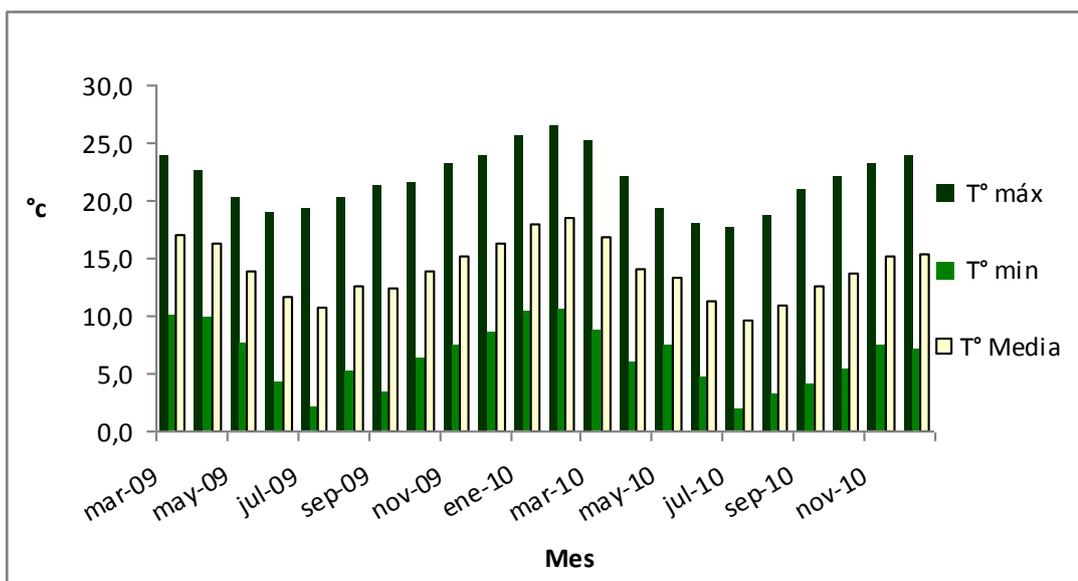
**Temperaturas medias mensuales máximas y mínimas en los distintos huertos de estudio. Datos obtenidos de Sistema Agroclimático FDI-INIA-DMC.**

a)



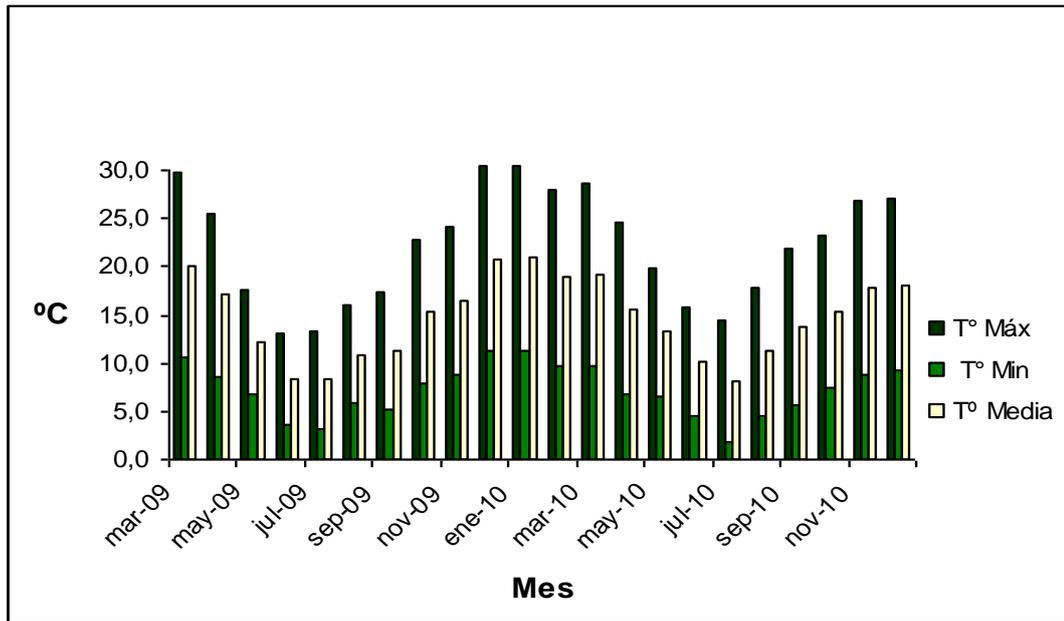
**Figura 1.** Temperaturas medias mensuales máximas y mínimas registradas durante los años 2009-2010 en la localidad San Pedro, Melipilla. Cercana a huerto San Mariano.

b)



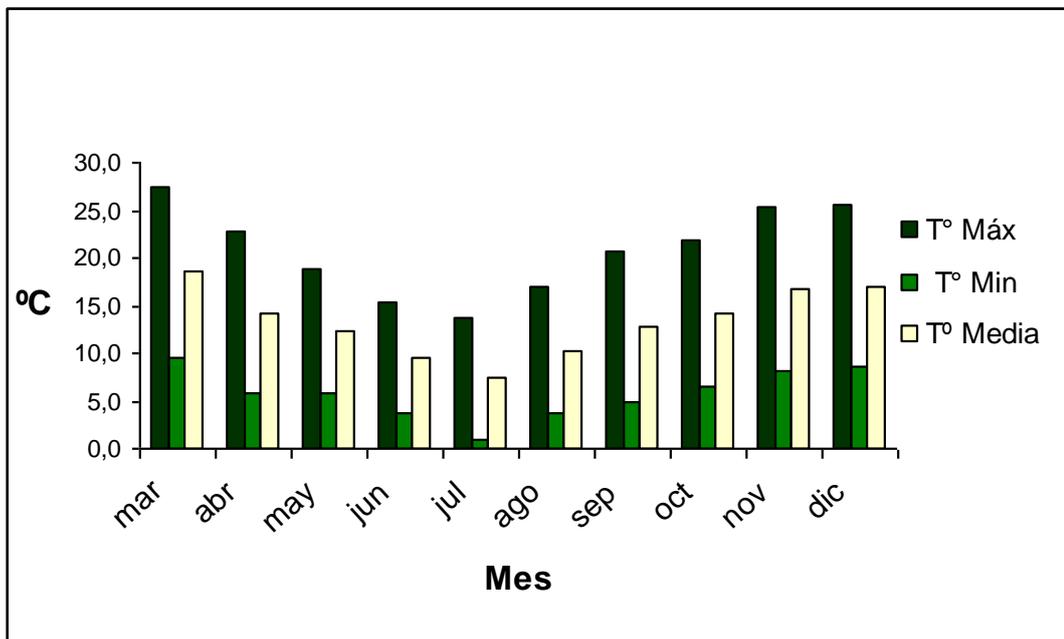
**Figura 2.** Temperaturas medias mensuales máximas y mínimas registradas durante los años 2009-2010 en la localidad de Freirina.

c)



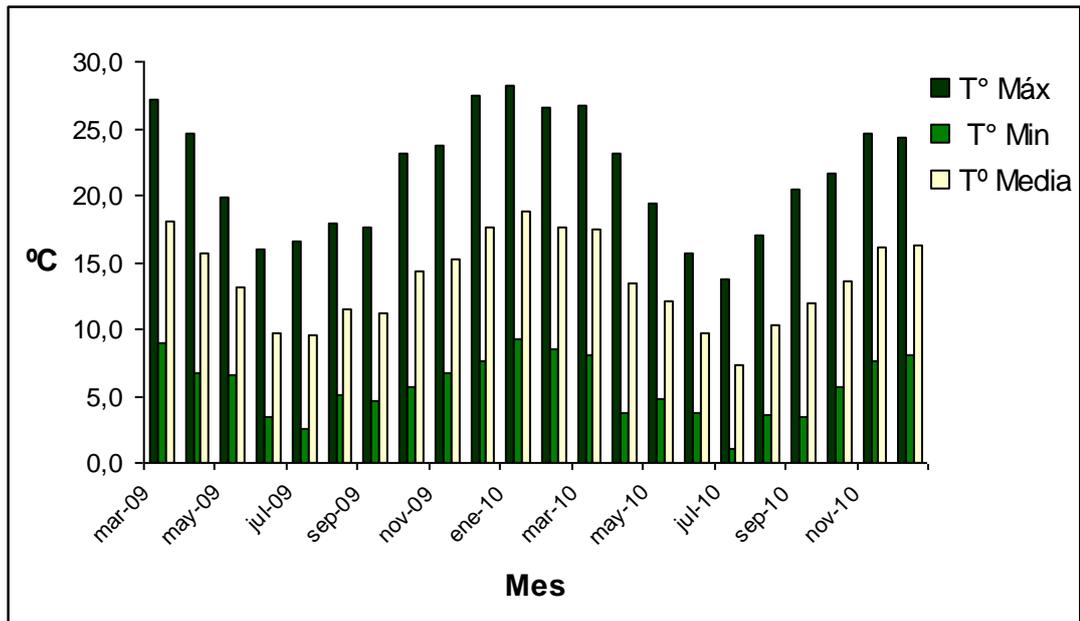
**Figura 3.** Temperaturas medias mensuales máximas y mínimas registradas durante los años 2009-2010 en el huerto Altamira, comuna de María Pinto.

d)



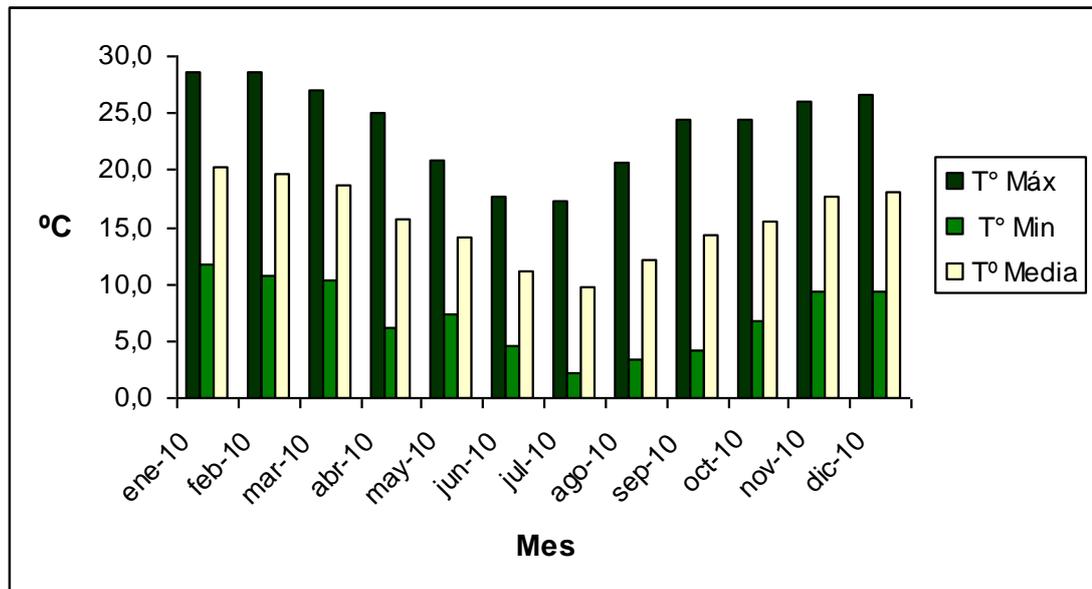
**Figura 4.** Temperaturas medias mensuales máximas y mínimas registradas durante el año 2010 en el huerto Lumbreras.

e)



**Figura 5.** Temperaturas medias mensuales máximas y mínimas registradas durante los años 2009-2010 en la localidad de Leyda, cercana al huerto Ruta del Sol.

f)



**Figura 6.** Temperaturas medias mensuales máximas y mínimas registradas durante el año 2010 en la localidad de Punitaqui, en las cercanías del huerto Los Lirios.