



<b>Nombre del proyecto</b>	Manejo integrado para el control de especies de <i>Phytophthora</i> que afectan al nogal en Chile.
<b>Código del proyecto</b>	PYT – 2016 - 0065
<b>Informe final</b>	1/03/2016
<b>Período informado</b> (considerar todo el período de ejecución)	Desde el 01/03/2016 hasta el 13/03/2020
<b>Fecha de entrega</b>	30/03/2020

## **INFORME TECNICO FINAL**

<b>Nombre coordinador</b>	Jessica Millar
<b>Firma</b>	

## CONTENIDO

1.	ANTECEDENTES GENERALES .....	3
2.	EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO .....	3
3.	RESUMEN EJECUTIVO .....	4
4.	OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO .....	7
5.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE) .....	7
6.	RESULTADOS ESPERADOS (RE) .....	8
7.	CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO .....	22
8.	ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO .....	27
9.	POTENCIAL IMPACTO .....	28
10.	CAMBIOS EN EL ENTORNO .....	29
11.	DIFUSIÓN .....	29
12.	PRODUCTORES PARTICIPANTES .....	31
13.	CONSIDERACIONES GENERALES .....	31
14.	CONCLUSIONES .....	33
15.	RECOMENDACIONES .....	34
16.	ANEXOS .....	35
17.	BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA .....	90

## 1. ANTECEDENTES GENERALES

Nombre Ejecutor:	Asociación Gremial de Productores y Exportadores de Nueces de Chile A.G.
Nombre(s) Asociado(s):	Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Coordinador del Proyecto:	Jessica Millar A.
Regiones de ejecución:	Valparaíso y Metropolitana
Fecha de inicio iniciativa:	1 de marzo 2016
Fecha término Iniciativa:	13 de marzo 2020

## 2. EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO

Costo total del proyecto			
Aporte total FIA			
Aporte Contraparte	Pecuniario		
	No Pecuniario		
	Total		

Acumulados a la Fecha		Monto (\$)
Aportes FIA del proyecto		
1. Total, de aportes FIA entregados		
2. Total, de aportes FIA gastados		
3. Saldo real disponible (Nº1 – Nº2) de aportes FIA		
Aportes Contraparte del proyecto		
1. Aportes Contraparte programado	Pecuniario	
	No Pecuniario	
2. Total, de aportes Contraparte gastados	Pecuniario	
	No Pecuniario	
3. Saldo real disponible (Nº1 – Nº2) de aportes Contraparte	Pecuniario	
	No Pecuniario	

### 3. RESUMEN EJECUTIVO

#### 3.1 Resumen del período no informado

Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos durante el período comprendido entre el último informe técnico de avance y el informe final. Entregar valores cuantitativos y cualitativos.

- Se publicó artículo científico en el Journal “Hortscience” de la ISHS relacionado con el resultado esperado 4.
- Se publicó artículo científico en el Journal “Plant Disease” de la APS relacionado con el resultado esperado 7.
- Se elaboró un segundo artículo científico relacionado con el resultado esperado 7.
- Se realizó el taller N°6 con asesores de nogal, en donde se presentaron los resultados del proyecto y se discutieron diversas temáticas.
- Se presentaron algunos de los resultados obtenidos en cuatro charlas técnicas organizadas por la empresa Compo Expert.
- En relación al resultado esperado 8, se elaboró manual técnico sobre el Manejo integrado para el control de especies de *Phytophthora* que afectan al nogal en Chile y un folleto informativo relacionado con el manual.
- Se realizó seminario de cierre del proyecto, en donde participaron productores, asesores, académicos, extensionistas y autoridades regionales. Durante aquella instancia, se presentaron los principales resultados y se entregaron ejemplares del manual técnico y folleto. A este seminario de cierre asistieron XX personas.

#### 3.2 Resumen del proyecto

Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos durante todo el período de ejecución del proyecto. Entregar valores cuantitativos y cualitativos.

Este proyecto tuvo como objetivo principal desarrollar un manejo integrado de la enfermedad pudrición de cuello y raíces causado por especies de *Phytophthora* que afectan al nogal en Chile. Para lograr este objetivo, fue necesario en una primera instancia identificar las especies de *Phytophthora* presentes en la zona central de Chile (desde la Región de Coquimbo hasta la Región del Maule). A partir de la prospección de huertos realizada durante el año 2015 hasta mediados del año 2016 se obtuvo que, de 49 huertos de nogal prospectados, 25 de ellos tenían presencia de *P. cinnamomi*, la cual se extendía en todas las regiones. Además, se detectó la presencia de *P. humicola* en las regiones de Coquimbo y Maule, la presencia de *Phytophthora vexans* en las regiones de Coquimbo, Valparaíso, Metropolitana y O’Higgins, y *P. citrophthora* en la Región de Valparaíso. Posterior a la obtención de aquellos resultados, se hicieron pruebas de patogenicidad con plantas de *Juglans regia*, las cuales eran inoculadas con las especies encontradas, obteniéndose que sólo *P. cinnamomi* y *P. citrophthora* eran patogénicas para el nogal, siendo ambas especies capaces de generar cancro a nivel del cuello y exudados de color café oscuro. En todos los ensayos efectuados, *P. cinnamomi* fue más rápida en causar marchitez y muerte de las plantas.

Luego de tener claridad de las especies patogénicas de *Phytophthora* presentes en Chile para el nogal, se comenzó a desarrollar una estrategia de manejo integrado. Esta estrategia consideró el manejo de las horas de saturación de suelo, uso de fertilización nitrogenada y uso de productos químicos. Para ello, se montaron diferentes ensayos en invernadero utilizando plantas jóvenes de nogal (5 meses) en macetas de 7 litros inoculadas con *P. cinnamomi* y *P. citrophthora*. Los

resultados permitieron aclarar que desde 6 horas de saturación y más, el efecto de la inoculación aumentaba el daño a diferencia de un suelo que no era saturado.

No obstante, el mayor daño en una planta se generó a las 48 horas de saturación de suelo. Por otro lado, en relación a la fertilización nitrogenada, se quiso estudiar adicionalmente el efecto de la fuente nitrogenada, además de la dosis a partir de un ensayo *In vitro*, lo cual indicó que las dosis altas de sulfato de amonio y nitrato de amonio a diferencia del nitrato de potasio y nitrato de calcio, inhibieron el crecimiento del micelio de estos patógenos. Este resultado concreto permitió elegir al nitrato de amonio como una fuente nitrogenada para probar en invernadero distintas dosis (0, 35, 70, 140, 210 y 1050 ppm). Los resultados de dicho ensayo mostraron que el mayor daño se presentó en plantas no fertilizadas (0 ppm) y fertilizadas en exceso (1050 ppm), en cambio, las plantas fertilizadas con 70 ppm presentaron el menor daño. Por último, se hicieron ensayos con 8 productos, tanto químicos como biológicos para el control preventivo y curativo de *Phytophthora*. Los resultados indicaron que para el control preventivo de *P. cinnamomi*, los productos asociados a un menor daño correspondieron a Aliette 80WP y Fosforend y para control curativo los productos Ridomil Gold 480 SL y Fosforend. En el caso de *P. citrophthora*, todos los productos controlaron preventivamente al patógeno, a excepción de Harztop (*Trichoderma harzianum*) produjo un mayor daño. El menor daño en el control curativo se produjo con los productos Ridomil Gold 480 SL, Aliette 80 WP (al suelo), Fosforend y Defense 80 WP.

Además de generar este paquete de manejo integrado, se quiso probar y validar el grado de resistencia que tienen los portainjertos clonales de nogal inoculados con *Phytophthora*. Se analizaron variables morfológicas, como el crecimiento de las plantas en relación al diámetro y altura y volumen y peso de raíces, los cuales fueron mayores en los portainjertos clonales en comparación al portainjerto franco (*J. regia*), sobre todo en Vlach y VX211, además de que ninguno presentó cancro a nivel de cuello. Por otro lado, se evaluaron variables bioquímicas a partir de cortes histológicos, concentración de fenoles y control patogénico que permitieron comprobar la efectividad de los portainjertos clonales de nogal en el control de *Phytophthora*. Los resultados de estos ensayos indicaron que VX211 y Vlach aumentaron la concentración de azúcares solubles y RX1 mostró un aumento en los niveles de almidón en raíces. Finalmente, los portainjertos clonales de nogal respondieron favorablemente al crecimiento y al control del patógeno luego de la inoculación. Lo anterior se logró a partir de la formación de barreras químicas y morfológicas de las raíces, presentando una mayor tasa de crecimiento y cantidad de raíces en comparación a *J. regia*.

Cabe destacar que gran parte de los resultados obtenidos en los ensayos han sido publicado en revistas de extensión como Red Agrícola y Revista de Chilenuit, y en journals científicos como Plant Disease y Hortscience, específicamente los resultados relacionados con la identificación de especies de *Phytophthora* y su patogenicidad (dos), manejo de fertilización nitrogenada (uno) y uso de portainjertos clonales contra *Phytophthora* (uno). También los resultados fueron presentados en diversos seminarios, charlas y congresos durante los años del proyecto, por ejemplo, en el Congreso Chileno de Fitopatología de la SOCHIFIT (2017 y 2018), en el VIII International Symposium on Walnut Cashew and Pecan (2017), en la Exponut 2018 y en el congreso internacional ICPP Boston (USA) "Plant Health a Global Economy" (2018).

Por último, se desarrolló una estrategia de transferencia tecnológica llamada ASISTE (Audiencia-Solución-Información Simple-Transferencia-Evaluación) de la Universidad de California en Davis propuesta por la extensionista Sra. Elana Peach-Fine. La cual consistió en una primera instancia, en realizar un total de 96 encuestas entre los meses de mayo de 2016 y diciembre de 2017 a

productores de nueces ubicados entre las regiones de Coquimbo y Biobío. A partir de las encuestas, se caracterizaron a los distintos productores y huertos de cada zona productiva para generar un diagnóstico certero y posibles soluciones a cada productor. Dentro de los resultados obtenidos, las encuestas arrojaron que no existían redes de comunicación horizontal entre productores, como también, indicaron que las principales fuentes de información de los productores eran los asesores públicos y privados. Esto último, permitió sugerir emplear el método de extensión TOT= "Training of Trainers", es decir, entregar la información obtenida de los ensayos a los asesores para que luego ellos la transmitan a los productores. Para aplicar este método, se realizaron 6 talleres para un total de 29 asesores en donde se presentaron los principales resultados del proyecto y se conocieron las técnicas utilizadas en terreno y brechas existentes entre asesores públicos y privados. Terminado los talleres, cada asesor evaluaba la actividad a partir de encuestas que tenían como finalidad detectar falencias y/o recibir consejos para mejorar estas actividades.

Finalmente, toda la información recopilada a partir de los ensayos, encuestas, talleres y evaluaciones fueron un gran aporte en la creación de un manual técnico y folletos sobre el manejo integrado del nogal, los cuales fueron entregados en un seminario final realizado para productores, extensionistas y asesores del cultivo del nogal.

#### 4. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Desarrollar un manejo integrado de la pudrición de cuello y raíces causado por especies de *Phytophthora* que afectan al nogal, que incluya el manejo del riego, la fertilización nitrogenada, control con fungicidas específicos, y determinar la tolerancia o resistencia de portainjertos clonales a cepas virulentas de especies de *Phytophthora* presentes en Chile. A partir de esta información desarrollar un programa de transferencia de la tecnología obtenida.

#### 5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE)

##### 5.1 Porcentaje de Avance

El porcentaje de avance de cada objetivo específico se calcula luego de determinar el grado de avance de los resultados asociados a éstos. El cumplimiento de un 100% de un objetivo específico se logra cuando el 100% de los resultados asociados son alcanzados.

Nº OE	Descripción del OE	% de avance al término del proyecto <sup>1</sup>
1	Determinar la patogenicidad en plantas de nogal ( <i>Juglans regia</i> ) de las especies de <i>Phytophthora</i> de mayor incidencia o prevalencia detectadas en la zona central de Chile, los principales síntomas asociados y las cepas más virulentas.	100%
2	Desarrollar un programa de manejo integrado de nogales, que incluya riego, fertilización nitrogenada y control químico, que permita minimizar el daño causado por las especies de <i>Phytophthora</i> involucradas en la pudrición de raíces y cuello del nogal en Chile.	100%
3	Evaluar los portainjertos clonales de nogal actualmente propagados en Chile, con los aislados más virulentos de las principales especies de <i>Phytophthora</i> que afectan al cultivo del nogal.	100%
4	Desarrollar una estrategia de transferencia tecnológica del manejo integral para el control de <i>Phytophthora</i> en nocardales, de pequeños a grandes productores de la industria del nogal en Chile	80%

<sup>1</sup> Para obtener el porcentaje de avance de cada Objetivo específico (OE) se promedian los porcentajes de avances de los resultados esperados ligados a cada objetivo específico para obtener el porcentaje de avance de este último.

## **6. RESULTADOS ESPERADOS (RE)**

Para cada resultado esperado debe completar la descripción del cumplimiento y la documentación de respaldo.

### **6.1 Cuantificación del avance de los RE al término del proyecto**

El porcentaje de cumplimiento es el porcentaje de avance del resultado en relación con la línea base y la meta planteada. Se determina en función de los valores obtenidos en las mediciones realizadas para cada indicador de resultado.

El porcentaje de avance de un resultado no se define según el grado de avance que han tenido las actividades asociadas a éste. Acorde a esta lógica, se puede realizar por completo una actividad sin lograr el resultado esperado que fue especificado en el Plan Operativo. En otros casos se puede estar en la mitad de la actividad y ya haber logrado el 100% del resultado esperado.

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado <sup>2</sup> (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta programada <sup>7</sup>	Fecha alcance meta real <sup>8</sup>	% de cumplimiento
			Nombre del indicador <sup>3</sup>	Fórmula de cálculo <sup>4</sup>	Línea base <sup>5</sup>	Meta del indicador <sup>6</sup> (situación final)				
1	1	Número de especies de <i>Phytophthora</i> identificadas en la zona central de Chile	Especies de <i>Phytophthora</i> identificadas	Nº de especies de <i>Phytophthora</i>	0	2 ó más	30-12-2016	30-12-2016	100%	
<b>Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.</b>										
<p>Entre el año 2015 y 2016 se realizaron dos prospecciones a huertos de nogal en la zona central de Chile. En total se encuestaron 49 huertos de nogal, los cuales se ubicaron entre las regiones de Coquimbo y Biobío. De cada huerto, se seleccionaron árboles al azar de <i>J. regia</i> con el objetivo de determinar la presencia de <i>Phytophthora</i> en los huertos. Lo anterior se logró recolectando muestras del cuello y raíz de las plantas enfermas. Posteriormente, en el Laboratorio de Fitopatología de la PUCV se aisló el patógeno en medio Semi-selectivo P5ARP. La identificación del oomiceto se realizó morfológicamente y molecularmente a partir de secuencias ITS en el gen de ADNr y el gen <math>\beta</math>-tubulina en la empresa Macrogen, ubicada en Corea.</p> <p>Los resultados de la Prospección y posteriores análisis permitieron identificar distintas especies de <i>Phytophthora</i> y <i>Phytophythium</i>. Se logró aislar <i>P. cinnamomi</i> en 25 de los 49 huertos analizados. Esta especie fue encontrada en todas las regiones muestreadas. Además, se encontró <i>P. humicola</i> en las regiones de Coquimbo y Maule. Igualmente, se detectó la presencia de <i>Phytophythium vexans</i>, microorganismo cercano filogenéticamente a <i>Phytophthora</i>, en las regiones de Coquimbo, Valparaíso, Metropolitana y O'Higgins. Cabe destacar que no se logró aislar <i>P. cactorum</i>, sin embargo, esto no implica que esta especie no esté presente en nogales en Chile.</p>										

**Documentación de respaldo**

Resultados se informan en el Anexo 1 del presente Informe

<sup>2</sup> Resultado Esperado (RE): corresponde al mismo nombre del Resultado Esperado indicado en el Plan Operativo.

<sup>3</sup> Nombre del indicador: corresponde al mismo nombre del indicador del Resultado Esperado descrito en el Plan Operativo.

<sup>4</sup> Fórmula de cálculo: corresponde a la manera en que se calculan las variables de medición para obtener el valor del resultado del indicador.

<sup>5</sup> Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

<sup>6</sup> Meta del indicador (situación final): es el valor establecido como meta en el Plan Operativo.

<sup>7</sup> Fecha alcance meta programada: es la fecha de cumplimiento de la meta indicada en el Plan Operativo.

<sup>8</sup> Fecha alcance meta real: es la fecha real de cumplimiento al 100% de la meta. Si la meta no es alcanzada, no hay fecha de cumplimiento.

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
1	2	Patogenicidad de cada especie y cepa de <i>Phytophthora</i> identificada.	IDa	Largo y ancho de brotes Altura de la planta Diámetro del tronco Largo y ancho del cancro	0	Daño máximo por especie y aislados	30-12-2016	30-12-2016	100%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
<p>Las pruebas de patogenicidad en plantas de <i>J. regia</i> se practicaron en un invernadero climatizado, para dar las condiciones óptimas de desarrollo de la enfermedad. Se utilizaron plantas de 5 meses de nogal en macetas de 3 L, las cuales fueron inoculadas con zoosporas de los oomycetos. Sin embargo, las especies que no mostraron enfermedad al ser inoculadas de esta manera, fueron igualmente inoculadas con un parche de micelio en el cuello de la planta. Se evaluó 3 aislados para <i>P. cinnamomi</i>, 3 para <i>Phytophthora vexans</i>, 2 aislados de <i>P. humicola</i> y 2 de <i>P. citrophthora</i>. Se evaluó el índice de daño aéreo (IDa) y el índice de daño radicular (IDr), los cuales se explican en el Anexo 3. Finalmente, la patogenicidad de cada una de estas especies se comprobó no tan sólo por el daño ocasionado en la planta; sino que también por volver a aislar el patógeno desde lesiones en plantas inoculadas. En las variables aéreas no hubo diferencia significativa, con excepción de las plantas inoculadas con el <i>P. cinnamomi</i> que mostraron un menor largo de tallo respecto al testigo, además las plantas inoculadas mostraron desarrollo de cancro en el cuello, y no así los testigos. Por otra parte, a nivel radicular las especies que resultaron ser patogénicas fueron <i>P. cinnamomi</i> y <i>P. citrophthora</i>. En el caso de <i>P. cinnamomi</i> todas las plantas inoculadas presentaron un daño radicular superior al 75%, mientras que <i>P. citrophthora</i> presentó un daño radicular variable entre un 25 y 100%. Finalmente, se comprobó la patogenicidad de <i>P. cinnamomi</i> y <i>P. citrophthora</i> en plantas de <i>J. regia</i>. Ambas especies fueron capaces de causar cancro y una exudación de color café oscura.</p>									
Documentación de respaldo									
Resultados se informan en el Anexo 2 del presente Informe									

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado <sup>9</sup> (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta real <sup>15</sup>	% de cumplimiento
			Nombre del indicador <sup>10</sup>	Fórmula de cálculo <sup>11</sup>	Línea base <sup>12</sup>	Meta del indicador <sup>13</sup> (situación final)	Fecha alcance meta programada <sup>14</sup>		
2	3	Efecto de las horas de saturación de suelo en el nivel de daño causado por <i>Phytophthora</i>	IDa	Evaluación posterior a la saturación e inoculación.	0	1 ciclo de inundación sobre 6 horas de saturación	31-02-2018	31-07-2017	100%
		IDr							

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

En este ensayo se utilizaron plantas de *J. Regia*, las cuales fueron inoculadas con un aislado de *P. cinnamomi*. Plantas sin inocular fueron dejadas como testigos. Los niveles de saturación utilizados fueron de 0, 6, 12, 18, 24, 36 y 48 horas. Antes de la inoculación y en la posterior evaluación se midió la altura de las plantas, diámetro del tallo y presencia de cancro para definir el índice de daño aéreo (IDa) de cada planta. En el caso del índice de daño radicular (IDr), se utilizó la escala propuesta por Vettrano *et al.*, (2003). Los resultados mostraron que en cuanto al IDa, no hubo diferencias significativas en la altura de las plantas, pero sí en el diámetro de estas. Las plantas con menor diámetro fueron aquellas inoculadas y saturadas por 36 y 48 horas, lo contrario ocurrió con plantas inoculadas y saturadas por 6 y 18 horas. A nivel radicular, el mayor peso y menor porcentaje de pudrición lo obtuvieron las plantas inoculadas con 0 horas de saturación y las no inoculadas de 0 y 48 horas, lo contrario ocurrió con plantas inoculadas con *P. cinnamomi* y saturadas por 48 horas, presentando menor peso y mayor porcentaje de pudrición. Es importante destacar que sobre 6 horas de saturación se puede generar graves daños en la raíz.

Documentación de respaldo

Resultados se informan en el Anexo 4 del presente Informe

<sup>9</sup> Resultado Esperado (RE): corresponde al mismo nombre del Resultado Esperado indicado en el Plan Operativo.

<sup>10</sup> Nombre del indicador: corresponde al mismo nombre del indicador del Resultado Esperado descrito en el Plan Operativo.

<sup>11</sup> Fórmula de cálculo: corresponde a la manera en que se calculan las variables de medición para obtener el valor del resultado del indicador.

<sup>12</sup> Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

<sup>13</sup> Meta del indicador (situación final): es el valor establecido como meta en el Plan Operativo.

<sup>14</sup> Fecha alcance meta programada: es la fecha de cumplimiento de la meta indicada en el Plan Operativo.

<sup>15</sup> Fecha alcance meta real: es la fecha real de cumplimiento al 100% de la meta. Si la meta no es alcanzada, no hay fecha de cumplimiento.

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)				
2	4	Efecto de las dosis de fertilización nitrogenada y el nivel de daño causado por <i>Phytophthora</i>	IDa	Evaluación posterior a la fertilización e inoculación	0	Dosis de fertilización asociada al menor ID	31-08-2018	31-08-2018	100%	
		IDr								
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.										
<p>La evaluación del efecto de la fertilización nitrogenada y el nivel de daño causada por <i>Phytophthora</i> consideró un ensayo <i>In vitro</i> y un ensayo a nivel de invernadero. El ensayo <i>In vitro</i> fue realizado en el Laboratorio de Fitopatología de la PUCV y se evaluó distintas dosis y fuentes nitrogenadas y su efecto sobre el crecimiento micelial de <i>P. cinnamomi</i>. Los resultados indicaron una relación directa entre la inhibición del micelio de <i>Phytophthora</i> y la dosis de nitrógeno. Las fuentes que provocaron mayor inhibición correspondieron a nitrato de amonio (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) y el sulfato de amonio [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>], en comparación con la aplicación de nitrato de calcio [Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] y el nitrato de potasio (KNO<sub>3</sub>) cuando se aplicó 1000 ppm de N. Lo anterior permitió seleccionar al nitrato de amonio como fuente nitrogenada del ensayo en terreno. El ensayo bajo invernadero utilizó plantas de <i>J. regia</i> de 5 meses en macetas de 7 litros. Las plantas fueron sometidas a diferentes dosis de fertilización nitrogenada (0, 25, 70, 140, 210 y 1050 ppm). Tras 45 días de haber fertilizado, estas fueron inoculadas con zoosporas del aislado de PN1955 correspondiente a <i>P. cinnamomi</i> y a los 90 días, las plantas fueron cosechadas. Se evaluó el crecimiento de la planta en relación a la altura y diámetro del tallo, como también la presencia de cancro que correspondía al índice de daño aéreo (IDa) e índice de daño de raíz (IDr), esta escala se definió en base Vetraino <i>et al.</i>, (2003).</p> <p>Los resultados indicaron que el mayor daño se presentó en plantas no fertilizadas (0 ppm) y fertilizadas en exceso (1050 ppm), en cambio, las plantas fertilizadas e inoculadas con 70 ppm presentaron el menor daño. Finalmente, los resultados del ensayo <i>In vitro</i> y de invernadero coincidieron en que las concentraciones elevadas de N inhibieron el crecimiento del micelio de <i>P. cinnamomi</i>, ya que el daño asociado a 1050 ppm se debió a la fitotoxicidad generada por el N, que, a su vez, posiblemente generó la inhibición del patógeno. Esto proporcionó evidencia adicional de que la fertilización con N, considerando fuentes nitrato de amonio y a dosis apropiadas, contribuyen al manejo integrado de esta enfermedad.</p>										
Documentación de respaldo										
Resultados se informan en el Anexo 5 del presente Informe										

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
2	5	Efecto de los tratamientos químicos en el control de Phytophthora	IDa	Evaluación posterior a la aplicación de productos químicos e inoculación.	0	Fungicida asociado al menor ID	31-12-2017	31-12-2017	100%
		IDr							
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
<p>El ensayo consideró la evaluación de productos aplicados de forma preventiva (Cuadro 1) y curativa (Cuadro 2), para esto se utilizaron plantas de <i>J. regia</i> de 5 meses trasplantadas en macetas de 7 litros y puestas bajo invernadero. En el ensayo preventivo se evaluaron ocho productos comerciales, cinco de éstos de origen químico y tres de origen biológico y en el ensayo curativo (post-infección) se evaluaron cinco productos comerciales, todos de origen químico. Para el ensayo preventivo los productos fueron aplicados dos veces con una frecuencia de 15 días, a inicios del crecimiento radicular. Posteriormente, las plantas fueron inoculadas con <i>P. cinnamomi</i>. Luego de la inoculación, las plantas fueron sometidas a 48 horas de saturación de suelo. Tras la inoculación las plantas fueron cosechadas con el objetivo de evaluar el daño. En el caso del ensayo curativo a inicios de la actividad radical, las plantas se inocularon con <i>P. cinnamomi</i> y luego fueron sometidas a saturación de suelo por 48 horas. Después de tres días de la inoculación, se realizó la primera aplicación de los productos, y 15 días después se realizó una segunda aplicación.</p> <p>Respecto a los resultados, la evaluación de productos preventivos demostró que Metalaxil, Fosforend, Ridomil Gold, Aliette, Vitánica RZ y Trichonativa fueron los productos que mostraron un menor ID a nivel aéreo y radicular. Por otra parte, la evaluación del ensayo curativo demostró que los productos más efectivos para lograr un efecto curativo fueron Ridomil Gold, Fosforend y Aliette (en 2 de tres ensayos efectuados).</p>									

**Cuadro 1.** Tratamientos preventivos aplicados en plantas de nogal para evaluar control de *P. cinnamomi*

Tratamiento		Ingrediente activo	Forma de aplicación	Dosis	Inoculación
T0	Testigo absoluto	-	-	-	No
T0	Testigo inoculado	-	-	-	Si
T7	Metalaxil 25 DP	Metalaxil	Al suelo	10 g/m <sup>2</sup>	Si
T8	Defense 80 WP	Fosetil-Al	Al follaje	300 g/100 L	Si
T9	Fosforend	Quitosano y ácido fosforoso	Al suelo	2 L /ha	Si
T10	Ridomild Gold 480 SL	Metalaxilo-M	Al suelo	1,5 ml /m <sup>2</sup>	Si
T11	Aliette 80WP	Fosetil-Al	A follaje	300 g/100	Si
T12	Harztop	<i>Trichoderma harzianum</i>	Al suelo	20-30 L/ha	Si
T13	Vitanica RZ	NK + <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Al suelo	15 L/ha	Si
T14	Trichonativa	<i>Trichoderma</i> spp.	Al suelo	5 ml/L	Si

**Cuadro 2.** Tratamientos Curativos aplicados en plantas de nogal para evaluar control de *P. cinnamomi*

Tratamiento		Ingrediente activo	Forma de aplicación	Dosis	Inoculación
T00	Testigo absoluto	-	-	-	No
T0	Testigo inoculado	-	-	-	Si
T1	Ridomild Gold 480 SL	Metalaxilo-M	Al suelo	1,5 ml /m <sup>2</sup>	Si
T2	Aliette 80WP	Fosetil-Al	Al follaje	300 g/100	Si
T3	Fosforend	Fósforo (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) Poli-(2-desoxi-2-aminoD-glucosa)	Al suelo	20-30 L/ha	Si
T4	Metalaxil 25 DP	Metalaxilo	Al suelo	10 g/m <sup>2</sup>	Si
T5	Defense 80 WP	Fosetil-Al	Al follaje	300 g/100 L	Si

Documentación de respaldo

Resultados se informan en el Anexo 6 del presente Informe

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
3	6	Determinar el grado de resistencia a <i>Phytophthora</i> de los portainjertos clonales RX1, Vlach y VX211	IDa	Evaluación del ID posterior a la inoculación para cada uno de los portainjertos.	0	Portainjerto asociado a un menor ID	31-12-2018	31-12-2018	100%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
<p>En este ensayo se comparó el grado de Patogenicidad de <i>P. cinnamomi</i> y <i>P. citrophthora</i> y crecimiento en portainjertos clonales versus <i>J. regia</i> en condiciones de invernadero. Los portainjertos clonales utilizados fueron Vlach, VX211 y RX1. En este ensayo se utilizaron plantas de 1 año en recipientes de 10 litros. El IDa se definió por las variables; largo y ancho de brotes, altura de la planta, diámetro del tronco y largo y ancho del cancro. Los resultados mostraron que tanto Vlach y VX211 inoculadas con <i>P. cinnamomi</i> o <i>P. citrophthora</i> aumentaron el peso fresco, peso seco y volumen de raíz. Respecto a la evolución del diámetro del tallo y altura de planta, Vlach y VX211 aumentaron, RX1 no presentó variación y <i>J. Regia</i> disminuyeron. Por otra parte, Vlach, VX211 y RX1 inoculados no mostraron diferencias en índices de daño en follaje respecto a Vlach, VX211 y RX1 no inoculados. En cuanto al largo del cancro, Vlach, VX211 y RX1 inoculados no se diferenciaron de las plantas no inoculadas.</p>									

Documentación de respaldo
Resultados se informan en el Anexo 7 del presente Informe

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
3	7	Determinar el grado de resistencia a <i>Phytophthora</i> de los portainjertos clonales RX1, Vlach y VX211	IDr	Evaluación del ID posterior a la inoculación para cada uno de los portainjertos.	0	Portainjerto asociado a un menor ID	31-12-2018	31-12-2018	100%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
<p>Se comparó el grado de resistencia a <i>Phytophthora</i> de portainjertos clonales versus <i>J. regia</i> en condiciones de invernadero. Para lo anterior, se consideró un primer ensayo en el cual se evaluó la patogenicidad de <i>Phytophthora</i> sobre los portainjertos y su efecto sobre el crecimiento radicular (IDr). Además de un segundo ensayo, se evaluó la dinámica radicular para lo cual se trasplantaron a macetas de 5 litros y también se utilizaron rizotrones. Por último, se evaluó la dinámica de carbohidratos y compuestos fenólicos, en el cual se empleó macetas de 7 litros. En el Cuadro 3, se detalla con más claridad lo evaluado por cada uno de los ensayos.</p>									

<b>Cuadro 3. Descripción de ensayos</b>				
<b>Ensayo</b>	<b>Unidad experimental</b>	<b>Factores</b>		<b>Variable respuesta</b>
		<b>Inoculación</b>	<b>Intervalo de tiempo</b>	
Patogenicidad y crecimiento radicular.	<i>J. regia</i> , Vlach, VX211, RX1	<i>P. cinnamomi</i> <i>P. citrophthora</i> No inoculada		ID <sub>A</sub> ID <sub>R</sub>
Crecimiento radicular (Rizotronos)	<i>J. regia</i> , Vlach, VX211, RX1	<i>P. cinnamomi</i> No inoculada	10- 0 días ADI 0-10 días DDI 10-20 días DDI 20-30 días DDI	Crecimiento relativo de raíz
Dinámica de carbohidratos	<i>J. regia</i> , Vlach, VX211, RX1	<i>P. cinnamomi</i>	0 HDI 240 HDI	Contenido de carbohidratos en raíz
Dinámica de compuestos fenólicos	<i>J. regia</i> , Vlach, VX211, RX1	<i>P. cinnamomi</i>	0 HDI 12 HDI 24 HDI 48 HDI	Contenido de compuestos fenólicos en raíz

\*DAI: días antes de inoculación; DDI: días después de inoculación; HDI: horas después de inoculación.

*Índice de daño radicular*

Los resultados indicaron que los tres portainjertos clonales tuvieron bajos índices de daños a nivel de raíz respecto al portainjerto *J. regia* al ser inoculadas con *P. cinnamomi* y *P. citrophthora*. Además, el peso y volumen de raíz de los portainjertos Vlach y VX211 fueron mayores, mientras que el portainjerto RX1 presentó un alza moderada en el crecimiento de raíces inmediatamente luego de inocular.

*Dinámica de carbohidratos y compuestos fenólicos*

Cabe señalar que además de cumplir con la meta del indicador en su totalidad, se realizaron ensayos complementarios (cortes histológicos, concentración de fenoles y control patogénico) que permitieron comprobar la efectividad de los portainjertos clonales de nogal en el control de *Phytophthora*. Los resultados de estos ensayos indicaron que VX211 y Vlach aumentaron la concentración de azúcares solubles, lo cual fundamentó los mayores crecimientos foliares y radicales luego de la inoculación. Por otra parte, RX1 mostró un aumento en los niveles de almidón en raíces. Finalmente, los portainjertos clonales de nogal respondieron favorablemente al crecimiento y al control del patógeno luego de la inoculación. Lo anterior se logró a partir de la formación de barreras químicas y morfológicas de las raíces, presentando una mayor tasa de crecimiento y cantidad de raíces en comparación a *J. regia*.

Documentación de respaldo
Resultados se informan en el Anexo 7 del presente Informe

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta real	% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada		
4	8	Tecnología transferida	Manuales de Manejo Integral y folletos de difusión	Cantidad de manuales de Manejo Integral difundidos en impreso o electrónico	0	500 manuales de manejo integral + 1 manual en versión digital (pdf) 1000 folletos de difusión	30-08-2019	11-03-2020	100%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
<p>El manual técnico fue el resultado de la recopilación de todos los ensayos realizados a lo largo del proyecto, lo cual fue complementado con información bibliográfica. El manual se denominó <b>“Manejo integrado para el control de especies de <i>Phytophthora</i> que afectan al nogal en Chile”</b>. Se compuso de tres módulos, el primero muestra los antecedentes del cultivo, el segundo trata sobre <i>Phytophthora</i> en nogal y el tercero sobre el manejo integrado de la enfermedad. Todo lo anterior dio paso a un completo manual con un total de 86 páginas, el cual fue entregado en el seminario de cierre del proyecto (Adjunto 1).</p> <p>Por otra parte, se diseñó un folleto, el cual resume la principal información entregada por el manual técnico. Este folleto al igual que el manual, fue entregado en el seminario de cierre realizado el 11 de marzo de 2020 (Adjunto 2).</p>									
Documentación de respaldo									
Resultados se informan en el Anexo 8 del presente Informe									

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta real	% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada		
4	9	Tecnología Transferida	Agricultores con tecnología transferida / ASISTE	Cantidad de agricultores con tecnología transferida vía método ASISTE	0	10 talleres en total. 5 personas fuentes de información (canales de información) por taller. 5 x 10 = 50 personas que son canales de información	29-02-2020	100%	80%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									

#### *Encuestas a productores*

Entre los meses de mayo del año 2016 y diciembre de 2017 se realizaron un total de 96 encuestas a diferentes productores de nueces ubicados entre las regiones de Coquimbo y Bio Bío. Dichas encuestas se enmarcaron en la metodología de transferencia ASISTE de la Universidad de California en Davis (Audiencia-Solución-Información Simple-Transferencia-Evaluación) propuesta por la extensionista Elana Peach-Fine. Finalmente, estas encuestas permitieron caracterizar los distintos huertos en cada zona productiva, los productores y así generar un diagnóstico y posibles soluciones a cada productor. Dentro de los resultados de las encuestas, se destacó que no existían redes de comunicación horizontal entre productores y que las principales fuentes de información eran los asesores privados y públicos. A partir de esto, se sugirió el método de extensión TOT: "Training of Trainers", o sea entregar la información obtenida de los ensayos a los asesores para que luego ellos la transmitan a los productores. Esto último se realizó a partir de distintos talleres con asesores públicos y privados.

#### *Talleres con asesores*

Se realizaron en total 6 talleres con asesores públicos y privados de nogal (30 asesores en total). En donde los asistentes abordaron diferentes temáticas relacionadas con *Phytophthora* en huertos de nogal (Ver Adjunto 4). En cada uno de estos talleres los asistentes respondieron encuestas que permitieron mejorar continuamente los talleres. Finalmente, estos talleres permitieron detectar las principales diferencias y puntos de encuentros entre asesores públicos y privados.

Se considera un 60% de avance, ya que se realizaron en total 6 talleres con asesores públicos y privados de nogal (30 asesores en total, ver Adjunto 3), durante aquellas ocasiones se han podido abordar diferentes

temáticas relacionadas con el daño que genera *Phytophthora* en huertos de nogal, como también entender las claras diferencias entre un asesor público y uno privado. Cabe destacar que durante los talleres se presentaban los resultados principales del proyecto, se realizaban lluvias de ideas para que cada asesor entregara su opinión, realizara preguntas y además se entregaban recomendaciones que pudiesen ser utilizadas por otro asesor en terreno. No obstante, el día del seminario final del proyecto, asistieron 90 personas entre asesores, productores, exportadores y afines a la industria.

#### Documentación de respaldo

Resultados de las encuestas se informan en el Anexo 9 y los resultados de los talleres se informan en el Anexo 10 del presente Informe.

## 6.2 Análisis de brecha.

Cuando corresponda, justificar las discrepancias entre los resultados programados y los obtenidos.

Las discrepancias que se pueden resaltar en relación a los resultados programados y obtenidos corresponden al resultado esperado 9 (objetivo específico 4), el cual tenía como meta realizar 10 talleres con 5 personas como fuente de información, es decir, 50 personas. No obstante, solamente se realizaron 6 talleres con la participación de 29 asesores de nogal. Lo anterior, se debe principalmente a la falta de extensionistas (asesores públicos y privados) que se dediquen específicamente al cultivo del nogal.

## 7. CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO

Especificar los cambios y/o problemas enfrentados durante el desarrollo del proyecto. Se debe considerar aspectos como: conformación del equipo técnico, problemas metodológicos, adaptaciones y/o modificaciones de actividades, cambios de resultados, gestión y administrativos.

Describir cambios y/o problemas	Consecuencias (positivas o negativas), para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos	Ajustes realizados al proyecto para abordar los cambios y/o problemas
Cambio del recinto donde se realizaron los ensayos de patogenicidad en <i>J. regia</i> .	En el Plan Operativo se indicó que los ensayos se realizarían en un sombreadero, sin embargo, por motivo del receso invernal propio de las plantas de nogal, finalmente se realizaron los ensayos de patogenicidad dentro de un invernadero climatizado.	Habilitación de invernadero climatizado.
Cambio de tamaño de maceta.	En el Plan Operativo se indicó que se trabajaría en los ensayos con macetas de 35 litros, sin embargo, se determinó trabajar con macetas de 3 litros para las pruebas de patogenicidad en <i>J. regia</i> , y con macetas de 4,3 litros en los ensayos restantes. La razón del cambio fue que se trabajaría con plantas sanas producidas en el invernadero, las cuales no requerían macetas de mayor tamaño para lograr los objetivos deseados.	Compra de macetas de diferente tamaño.
Producción propia de las plantas de nogal para los ensayos.	Al producir las plantas permitió asegurar que estuviesen libres de patógenos previo a la inoculación, esto ocurrió en el caso de los primeros ensayos.	Producción de plantas de <i>J. regia</i> bajo un estricto protocolo sanitario.
Mejora metodológica: Aumento en las horas de saturación, metodología de inoculación de <i>Phytophthora</i> spp.	Con el aumento de horas de saturación con agua para las plantas inoculadas se aseguró la dispersión del microorganismo, sin verse afectadas las plantas de nogal por la saturación.	Las plantas permanecieron 48 horas en estado de saturación de agua v/s las 24 horas inicialmente propuestas.
Aumento de especies a evaluar en pruebas de patogenicidad	Se requirió mayor cantidad de plantas de <i>J. regia</i> para evaluar patogenicidad de las especies aisladas.	Se realizó compra de plantas de <i>J. regia</i> , y se probó patogenicidad de <i>P. cinnamomi</i> , <i>P. humicola</i> , <i>P. sp.</i> y <i>Phytophthora vexans</i> .
Cambio horas de saturación	Se redefinió el diseño experimental del ensayo y se adaptó al sistema de fertirrigación construido.	Basado en el estudio realizado por Besoain <i>et al.</i> , (2005) se establecieron

		horas de saturación parecidas, pero más bien intermedias con un menor rango entre ellas para tener mayor certeza respecto a las horas de saturación que más predisponen a <i>Phytophthora</i> .
Cambio dosis de nitrógeno	Se redefinió el diseño experimental del ensayo y se adaptó al sistema de fertirrigación construido.	Basado en el estudio de Goodman <i>et al.</i> , (2013), y según lo conversado con viveristas de nogal, se establecieron nuevas dosis de nitrógeno respecto al consumo deficitario, óptimo y de lujo de nutrientes que requerían las plantas.
Adición de ensayo de fertilizantes <i>in vitro</i> .	Se realizó un nuevo ensayo basado en el estudio de Scarlett <i>et al.</i> , (2013) para probar distintas fuentes y dosis de fertilizantes nitrogenados sobre el crecimiento de <i>Phytophthora</i> .	Se compraron fertilizantes y materiales de laboratorio para observar el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Phytophthora</i> .
Renuncia de Bióloga Molecular e ingreso de reemplazo en diciembre.	No hubo consecuencias del cambio, ni retraso en el cumplimiento de los objetivos.	El trabajo de la Bióloga Molecular, MSc Rocío Camps, fue suplido por el la Biol. M Sc Natalia Riquelme.
Disminución del número de repeticiones en el ensayo de saturación y fertilización.	Esto permitió validar los resultados obtenidos en los ensayos.	Se modificó el número de repeticiones de los ensayos.
Eliminación de medida de largo y ancho de brotes, en evaluación de Índice de Daño aéreo (IDa).	Dado que se utilizó plantas de <i>J. regia</i> de 3 meses de edad, las variables largo y ancho de brotes no pudieron ser medidas ya que las plantas jóvenes eran irregulares en presencia de brotes.	El IDa se evaluó con medición de altura de la planta, diámetro de tallo y largo de cancro.
En el ensayo de saturación no se obtuvieron los resultados esperados.	No se logró cumplir el hito crítico asociado al RE3.	Se sugirió repetir el ensayo, realizando mejoras metodológicas, como fue la realización del ensayo en un invernadero climatizado.
En el ensayo de fertilización nitrogenada, no se observó un efecto claro de las dosis de nitrógeno sobre la	Se sugirió agregar un nivel excesivo de nitrógeno (1050 ppm) para apoyar resultados obtenidos.	Se requirió utilizar plantas de <i>J. regia</i> adicionales a las programadas durante la ejecución de la segunda etapa del ensayo.

incidencia de la enfermedad.		
Ensayo de control químico se realizó preventivo y preventivo + curativo.	Se logró evaluar el efecto preventivo de los tratamientos, y por otra parte se evaluó su efecto preventivo y curativo, sobre la enfermedad.	Se adicionó a la metodología la aplicación de productos químicos en forma preventiva.
Cambio en el periodo de evaluación de ID en plantas de ensayo control químico.	En la metodología se indicó que las plantas se evaluarían a los 3 y 6 meses de aplicados los tratamientos fungicidas, sin embargo, dado que los efectos se pudieron observar con rapidez, las plantas fueron evaluadas a los 27 Y 41 días de realizada la inoculación.	Fue necesario adelantar la evaluación del ensayo por la rápida aparición de síntomas en las plantas testigo.
Repetición del ensayo de control químico.	Se validaron los resultados obtenidos.	Se sugirió repetir el ensayo, incluyendo un mayor número de tratamientos.
Cambio de localización de los ensayos.	La eliminación de variables como condiciones climáticas y plagas, permitieron obtener resultados fidedignos sin alteración externa, mejorando la metodología experimental del ensayo.	Los nuevos ensayos se hicieron dentro de invernadero para evitar condiciones climáticas extremas (lluvias, heladas, temperaturas altas) y ataque de plagas externas.
Se incorporó ensayo de crecimiento relativo de raíces para cada portainjerto inoculado con <i>Phytophthora</i> .	Debido a la necesidad de incluir el factor tiempo dentro de las mediciones de desarrollo de raíz y ante la imposibilidad de realizarlo con las mismas plantas del ensayo es que se incorporó la utilización de 5 repeticiones por portainjerto destinadas a la evaluación de mm/día de crecimiento de raíz, esto por medio de rizotrones que permitieron visualizar y cuantificar el crecimiento de las raíces de cada portainjerto antes y después de ser inoculados con <i>Phytophthora cinnamomi</i> . Se utilizó solo ésta especie al ser la principalmente identificada en causar daño en nogal y por la cantidad de plantas disponibles.	Se incrementó la cantidad de plantas utilizadas y a su vez ciertos materiales básicos de bajo costo para la instauración de los rizotrones.
En el ensayo de ciclos de inundación se adicionó un nuevo tratamiento y se probó con una sola especie de <i>Phytophthora</i> .	Esto debido a que se continuó la línea de los otros tratamientos (0, 6, 12, 18, 24 y 48 horas), los cuales iban aumentando 6 horas de saturación por nivel. De esta manera se tuvo más	Se repitió ensayo con un aislado de <i>P. cinnamomi</i> y se agregó nivel de 36 horas de saturación.

	certeza en la selección del tratamiento con menor ID. Además, se utilizó el aislado más agresivo de <i>P. cinnamomi</i> , puesto que fue la especie más encontrada en Chile y presenta mayor agresividad que el resto.	
En el ensayo de fertilización nitrogenada, se incluyó un tratamiento de nitrógeno adicional.	Se agregó un nivel excesivo de nitrógeno (1050 ppm) para apoyar resultados obtenidos y no de 410 ppm, debido a que no era tan alta la dosis para provocar diferencia con los otros tratamientos.	Se utilizaron plantas de <i>J. regia</i> adicionales a las programadas.
Ensayo de control químico se realizó preventivo y curativo con nuevos productos del tipo químico y biológico.	Se aumentó el número de productos para aplicar controles curativos y preventivos. Además, no solo se utilizaron productos químicos, sino que también biológicos para probar su efectividad y encontrar el que resultara con un menor ID.	Se modificó la metodología y se hicieron dos ensayos por separado con mayor cantidad de tratamientos.
Anticipación de la evaluación de los ensayos.	A modo general, las evaluaciones de los ensayos se realizaron antes de lo presupuestado en el plan operativo debido a la aparición temprana de los síntomas. Los ensayos relacionados con el OE2 del proyecto debían ser evaluados a los 3 y 6 meses posterior a la inoculación, los relacionados con el OE3 debían ser a los 18 meses. En cambio, se evaluaron a los 2 y 3 meses respectivamente.	Esto permitió avanzar en la obtención de resultados y tener mayor tiempo para un análisis profundo de los datos.
Se adicionó la medición de índice de daño aéreo (IDa) a partir de una escala de daño.	Se utilizó una escala que va de 0 a 4, siendo 0 una planta sana y 4 una planta muerta para identificar el índice de daño aéreo de la planta. Cabe destacar que cada nota estuvo asociada a una condición particular de la planta (clorosis, necrosis, decaimiento, etc).	Esto permitió tener un análisis acabado del ID aéreo, el cual muchas veces no se vio representado totalmente por la altura y diámetro del tallo.
Se eliminó la variable "ancho del cancro"	La decisión radicó en la irregularidad del cancro respecto al ancho, haciéndose más representativa solamente la medición del largo.	Esto permitió tener resultados fidedignos respecto al avance que tiene en cancro en la parte aérea de la planta.
Se aplicó un solo ciclo de inundación en los ensayos de saturación.	Inicialmente se mencionó realizar ciclos quincenales de inundación a diferentes horas. Sin embargo, en la práctica solamente se hizo necesario un ciclo de inundación, de manera que	Se hizo un cambio en la metodología y el ensayo tuvo una menor duración.

	se observará el efecto de la saturación y no evidenciar daños por anoxia.	
No se utilizó producto Ranma 400SC en la repetición del ensayo químico.	No se utilizó el producto ya que en la repetición del ensayo se comprometió utilizar productos que exclusivamente se utilizaran para el control de <i>Phytophthora</i> y que se encontrará en sus respectivos etiquetados, lo cual no ocurrió con dicho producto.	Se utilizó una alta gama de productos que han tenido mejores resultados que Ranma respecto al control de <i>Phytophthora</i> .
Se incorporaron nuevas mediciones para los ensayos con portainjertos clonales.	Las incorporaciones de cambios en las mediciones tuvieron una consecuencia positiva para el proyecto. Se adicionó la medición de fenoles a nivel de raíz para cada portainjerto y se realizaron cortes histológicos de raíces para visualizar la lignificación de la raíz.	Esto significó mayor tiempo de dedicación para la realización de los ensayos, como también se requirieron los servicios del Laboratorio de Histología Vegetal de la PUCV. Además, se tuvo que comprar los reactivos necesarios para la cuantificación de fenoles.
Se identificó un segundo gen ( $\beta$ -tubulina) para los aislados de Oomycetos anteriormente identificados.	Esta información permitió complementar la información entregada en el escrito científico, lo cual fue indispensable para hacer efectiva la publicación en Plant Disease.	La identificación de estas nuevas secuencias, implicó gasto en materiales e insumos asociados a la extracción del ADN, como también el pago de servicio a terceros a Macrogen (Korea). Este último gasto implicó la reitemización de gastos para cubrir costos de este servicio.
Se incorporaron nuevas mediciones para los ensayos con portainjertos clonales.	Las incorporaciones de cambios en las mediciones tuvieron consecuencias positivas para el proyecto. Se adicionó la medición de fenoles a nivel de raíz para cada portainjerto y se realizaron cortes histológicos de raíces para visualizar la lignificación de la raíz.	Esto significó mayor tiempo de dedicación para la realización de los ensayos, como también se requirieron los servicios del Laboratorio de Histología Vegetal de la PUCV. Además, se tuvo que comprar los reactivos necesarios para la cuantificación de fenoles.
Se identificó un segundo gen ( $\beta$ -tubulina) para los aislados de Oomycetos anteriormente identificados.	Esta información permitió complementar la información entregada en el escrito científico, lo cual fue indispensable para hacer	La identificación de estas nuevas secuencias, implicó gasto en materiales e insumos asociados a la extracción del ADN, como

	efectiva la publicación en Plant Disease.	también el pago de servicio a terceros a Macrogen (Corea). Este último gasto implicó la reitemización de gastos para cubrir costos de este servicio.
Prórroga para entrega final de manual técnico de manejo integrado de <i>Phytophthora</i> para el 30 de septiembre en vez de 30 de agosto de 2019.	Este cambio no generó consecuencias negativas en el proyecto, ya que el seminario final en donde se entregó el manual se realizó en 11 de marzo del 2020.	Modificación de la fecha de entrega final para el 30 de noviembre de 2019. De manera que se obtenga un manual completo con diseño interactivo y de alta calidad.

## 8. ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO

### 8.1 Actividades programadas en el plan operativo y realizadas durante el período de ejecución para la obtención de los objetivos.

En base a la carta Gantt del plan operativo las actividades principales programadas durante el proyecto fueron los siguientes:

- Determinar la patogenicidad en plantas de nogal (*J. regia*) de las especies de *Phytophthora* de mayor incidencia o prevalencia detectadas en la zona central de Chile, los principales síntomas asociados y las cepas más virulentas.
- Desarrollar un programa de manejo integrado de nogales, que incluyó riego a partir del manejo de la saturación del suelo, efecto de la dosis y fuente de fertilización nitrogenada, ya sea en campo como en laboratorio, y control químico y biológicos tanto curativo como preventivo, que permitiera minimizar el daño causado por las especies de *Phytophthora* involucradas en la pudrición de raíces y cuello del nogal en Chile.
- Evaluar los portainjertos clonales de nogal actualmente propagados en Chile en relación a su resistencia, con los aislados más virulentos de las principales especies de *Phytophthora* que afectan al cultivo del nogal. Para evaluar la resistencia se consideró tanto las barreras morfológicas a partir del crecimiento de la planta y número, volumen, peso y tasa de crecimiento de las raíces, como también las barreras bioquímicas en base a la concentración de azúcares solubles y presencia de fenoles.
- Desarrollar una estrategia de transferencia tecnológica del manejo integral para el control de *Phytophthora* en nocardales, de pequeños a grandes productores de la industria del nogal en Chile, la cual consistió en la tecnología ASISTE y el entrenamiento a asesores de nogal (ToT). Consideró la realización de encuestas a productores, talleres a asesores de nogal y un manual técnico y folleto sobre el manejo integrado de *Phytophthora* en nogal.

## 8.2 Actividades programadas y no realizadas durante el período de ejecución para la obtención de los objetivos.

No aplica.

## 8.3 Analizar las brechas entre las actividades programadas y realizadas durante el período de ejecución del proyecto.

No aplica.

## 9. POTENCIAL IMPACTO

### 9.1 Resultados intermedios y finales del proyecto.

Descripción y cuantificación de los resultados obtenidos al final del proyecto, y estimación de lograr otros en el futuro, comparación con los esperados, y razones que explican las discrepancias; ventas y/o anuales (\$), nivel de empleo anual (JH), número de productores o unidades de negocio que pueden haberse replicado y generación de nuevas ventas y/o servicios; nuevos empleos generados por efecto del proyecto, nuevas capacidades o competencias científicas, técnicas y profesionales generadas.

Los resultados finales obtenidos corresponden a:

Creo que ya estaba descrita por Rojic y Cancino- La mayoría de los huertos de nogal que se encuentran en la zona central de Chile están afectadas en distintos grados de severidad por *Phytophthora* spp.

- Presencia de *Phytophthora cinnamomi* en la mayoría de los huertos prospectados.
- *Phytophthora humicola* y *Phytophthora vexans* que fueron aislados de huertos de nogal, no presentan patogenicidad en el cultivo.
- La saturación de suelo de 6 horas o más es predisponente al ataque de *Phytophthora*.
- La deficiencia y exceso de nitrógeno favorecen la inoculación de *Phytophthora*, como también es importante la fuente nitrogenada, ya que el sulfato de amonio y nitrato de amonio afectan al crecimiento del micelio de *Phytophthora*.
- El manejo preventivo ya sea con productos químicos y biológicos (Aliette 80WP y Fosforend) es esencial en el manejo de *Phytophthora*. En el caso del control curativo los productos como Ridomil Gold 480 SL y Fosforend presentan la mayor efectividad, Aliette frenó infecciones en 2 de 3 ensayos curativos realizados.
- Validación del uso de portainjerto clonales contra *Phytophthora*, puesto que estos presentan barreras morfológicas (crecimiento de la planta, mayor número, volumen, peso y tasa de crecimiento radicular) y bioquímicas (concentración de azúcares solubles y fitoalexinas).
- Realización de encuestas que permitieron conocer la realidad de los productores de nueces de la Región de Coquimbo hasta la Región de Biobío.

- Desarrollo de manual técnico para el manejo integrado de *Phytophthora* en nogal.
- Todos estos resultados podrían ayudar a futuro en los siguientes aspectos:
- Disminuir la incidencia en huertos de nogal.
  - Generar mayor conocimiento del cultivo y la relación con el patógeno que permita tener una industria más capacitada para enfrentar este tipo de problemáticas.
  - Promover el uso adecuado del agua a partir de sistemas de riego presurizados que evitan la saturación de suelo y pérdida de agua.
  - Disminución del uso indiscriminado de fertilizantes, favoreciendo un manejo adecuada de la fertilización en base a la cantidad y fuente correcta.
  - Disminución de costos de producción debido al uso de portainjertos clonales, los cuales, si bien tienen mayor valor comercial, estos permitirán reducir costos en el uso de agroquímicos.
  - Mayor información disponible en diversas plataformas para estudiantes, productores, docentes y asesores, es decir, es un bien público.

## 10. CAMBIOS EN EL ENTORNO

Indique si existieron cambios en el entorno que afectaron la ejecución del proyecto en los ámbitos tecnológico, de mercado, normativo y otros, y las medidas tomadas para enfrentar cada uno de ellos.

Los cambios que existieron en el entorno tienen relación con el ámbito social, ya que nuestro país durante los últimos meses se ha encontrado en crisis, por lo cual, se vio afectado el desarrollo del manual en relación a la edición e impresión.

Otro tipo de cambio fue en ámbito investigativo, ya que el proyecto favoreció la generación de un programa de mejoramiento de portainjertos clonales en campo por INIA y Biofrutales.

## 11. DIFUSIÓN

Describa las actividades de difusión realizadas durante la ejecución del proyecto. Considere como anexos el material de difusión preparado y/o distribuido, las charlas, presentaciones y otras actividades similares.

	Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes	Documentación Generada
1	Marzo 2017	Revista Impresa de Chilenut	Artículo técnico	2000	2000 revistas Anexo 11
2	Abril 2017	Revista Red Agrícola	Publicación de divulgación nacional	Revista distribuida a	Anexo 11

				nivel nacional	
3	Octubre 2017	Congreso de Fitopatología de la SOCHIFIT-Caribbean Division APS-ALF	Presentación	250	2 posters Anexo 11
4	Noviembre 2017	VIII International Symposium on Walnut Cashew and Pecan	Presentación póster	250	2 posters Anexo 11
5	Abril 2018	Charla a pequeños productores de Cuncumén	Presentación	25	3 posters 1 artículo de extensión Anexo 11
6	Abril 2018	Exponut 2018	Presentación	500	Anexo 11 Presentación ppt
7	Abril 2018	Revista Red Agrícola	Publicación de divulgación nacional	Revista distribuida a nivel nacional	Artículo de 3 páginas Anexo 11
8	Julio 2018	Congreso Internacional ICPP Boston (USA) "Plant Health in a Global Economy"	Presentación poster	500	Poster Anexo 11
9	Agosto 2018	Publicación científica Plant Diseases	Publicación de divulgación internacional	Revista con acceso online pagado	Anexo 11 Manuscrito científico
10	Noviembre 2018	XXVI Congreso Sociedad Chilena de Fitopatología	Presentación	120	Anexo 3 2 posters
11	Septiembre 2019	Publicación científica Plant Diseases	Publicación de divulgación internacional	Revista con acceso online pagado	Manuscrito científico Anexo 11
12	Diciembre 2019	Publicación científica HortScience	Publicación de divulgación internacional	Revista con acceso online pagado	Manuscrito científico Anexo 11
Total, participantes				<b>3645</b>	

## 12. PRODUCTORES PARTICIPANTES

Complete los siguientes cuadros con la información de los productores participantes del proyecto.

### 12.1 Antecedentes globales de participación de productores

Debe indicar el número de productores para cada Región de ejecución del proyecto.

Región	Tipo productor	N° de mujeres	N° de hombres	Etnia (Si corresponde, indicar el N° de productores por etnia)	Totales
	Productores pequeños	N/A	N/A	N/A	N/A
	Productores medianos-grandes	N/A	N/A	N/A	N/A
	Productores pequeños	N/A	N/A	N/A	N/A
	Productores medianos-grandes	N/A	N/A	N/A	N/A
	<b>Totales</b>	<b>N/A</b>	<b>N/A</b>	<b>N/A</b>	

### 12.2 Antecedentes específicos de participación de productores

Nombre	Ubicación Predio			Superficie Ha.	Fecha ingreso al proyecto
	Región	Comuna	Dirección Postal		
N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

## 13. CONSIDERACIONES GENERALES

### 13.1 ¿Considera que los resultados obtenidos permitieron alcanzar el objetivo general del proyecto?

El objetivo general del proyecto tenía dos aristas, la primera fue desarrollar un manejo integrado de la pudrición de cuello y raíces causado por especies de *Phytophthora* que afectan al nogal. Por otra parte, la segunda arista consideró la determinación de la tolerancia o resistencia de los portainjertos clonales a las cepas virulentas de especies de *Phytophthora* presentes en Chile. A partir de la información obtenida se desarrolló un programa de transferencia de la tecnología. Ambas aristas se lograron, ya que se cumplió en su totalidad con los ensayos, obteniéndose resultados concretos respecto a las especies de *Phytophthora* patogénicas para el nogal y presentes en Chile, y en base a lo anterior, se estudió el efecto de las horas de saturación, fertilización nitrogenada y uso de diferentes productos controladores de *Phytophthora* de manera preventiva y curativa. También se validó la resistencia y tolerancia de los portainjertos clonales. Esto permitió desarrollar una buena

estrategia de manejo para los productores considerando los tratamientos asociados a un menor índice de daño en plantas de nogal y a su vez proporcionar la información necesaria para alcanzar el objetivo final sin complicaciones.

**13.2 ¿Cómo fue el funcionamiento del equipo técnico del proyecto y la relación con los asociados, si los hubiere?**

A pesar de los cambios realizados en el equipo (profesionales de apoyo, técnicos y coordinador alterno), el equipo técnico funcionó sin problemas durante la realización del proyecto. Además, se destaca el trabajo en conjunto con los asociados de este proyecto, en este caso Chilenut y la ejecutiva del FIA, quienes participaron en forma crítica en todas las etapas del proyecto.

**13.3 A su juicio, ¿Cuál fue la innovación más importante alcanzada por el proyecto?**

Las innovaciones más importantes desarrollada en el proyecto fueron las herramientas de manejo integrado de *Phytophthora* obtenidas a partir de los ensayos de riego, nutrición, portainjertos clonales y productos químicos y biológicos. Todo este manejo orientado a disminuir la incidencia de *Phytophthora* en huertos de nogal. Estos procesos y herramientas desarrolladas fueron plasmados en el manual de manejo integrado de especies de *Phytophthora* que afectan al nogal en Chile.

Finalmente, como innovación principal a partir de los resultados obtenidos se realizaron cuatro publicaciones científicas, tres en la revista Plant Disease y uno en HortScience. Esto avala que gran parte de la información fue validada por pares externos. Incluso se espera durante el año 2020 realizar al menos una publicación adicional.

**13.4 Mencione otros aspectos que considere relevante informar, (si los hubiere).**

Un aspecto relevante a destacar fue el diagnóstico y sistema de transferencia de la tecnología denominada como ASISTE y la transferencia de la tecnología a asesores públicos y privados (ToT).

## 14. CONCLUSIONES

Realice un análisis global de las principales conclusiones obtenidas luego de la ejecución del proyecto.

Las principales conclusiones fueron:

- De 49 huertos prospectados en la zona central de Chile, el 93,4% tuvo algún grado de incidencia de *Phytophthora spp.* La especie con mayor presencia en los huertos fue *P. cinnamomi* (51% de los huertos prospectados). Se identificó a *P. citrophthora* como una especie patógena para el cultivo del nogal. Otras especies encontradas como *Phytophthora humicola* y *Phytophthora vexans* no presentaron patogenicidad en ninguno de los ensayos de patogenicidad empleados con plantas de nogal.

- El manejo integrado de *Phytophthora* consideró el uso del riego, fertilización nitrogenada y control preventivo y curativo a través de productos químicos y biológicos. Respecto al uso adecuado del agua es necesario evitar la saturación de suelo a partir de 6 horas, ya que es predisponente al ataque del patógeno. Para el caso de la fertilización, es importante mantener un equilibrio nutricional, puesto que, la deficiencia y exceso de este nutriente favorece el ataque del patógeno, y en el caso de la fuente nitrogenada el sulfato de amonio y nitrato de amonio afectan al crecimiento del micelio de *Phytophthora*. Por último, para el control preventivo los productos de mayor efectividad fueron Aliette 80WP, Fosforend, Vitanica RZ y Trichonativa y para el control curativo fueron Ridomil Gold 480 SL y Fosforend, Aliette fue efectivo en 2 de 3 ensayos efectuados.

- Los portainjertos clonales se comportaron como resistentes a *Phytophthora* presentaron barreras morfológicas (crecimiento de la planta, mayor número, volumen, peso y tasa de crecimiento radicular) y bioquímicas (concentración de azúcares solubles y fitoalexinas) que generaron resistencia y tolerancia al patógeno en comparación al portainjerto franco.

- La metodología de transferencia tecnológica ASISTE permitió hacer una caracterización y diagnóstico de los productores de nogal a través de encuestas. Dentro de la información obtenida, se pudo destacar que las fuentes de información más importante de los productores fueron los asesores, por lo tanto, la metodología de transferencia se enfocó en entregar las herramientas de información a los asesores a partir de talleres. Los resultados de las encuestas, talleres y ensayos en terreno y laboratorio favorecieron al desarrollo un manual técnico para el manejo integrado de *Phytophthora* en nogal.

En base a las conclusiones principales presentadas, el análisis global se enfoca en que los estudios realizados durante este proyecto permitieron obtener resultados concretos que servirán para redireccionar adecuadamente el manejo de este patógeno. Esto se debe principalmente a que se tiene certeza de las especies de *Phytophthora* presentes en la zona de mayor producción de nueces en Chile, se conoce la relación que tiene *Phytophthora* con el riego y nutrición, aspectos importantes dentro del manejo productivo de un huerto, evitando el riego en exceso y favoreciendo la fertilización nitrogenada equilibrada con fuentes que perjudiquen al patógeno. Por otro lado, a partir de las pruebas con diversos productos químicos y biológicos se obtuvo una respuesta clara de que productos realmente son efectivos como tratamiento preventivo y curativo. Lo anterior permitirá al productor evitar aplicar productos ineficientes que muchas veces están asociados a grandes costos. Además, la verificación de la resistencia y tolerancia de los portainjertos clonales frente a *Phytophthora* serán de gran ayuda para futuros huertos de nogal y huertos en proceso de replante, puesto que justificará la alta inversión inicial por el uso de estos portainjertos y evitar gastos futuros en insumos o prácticas culturales complejas debido a enfermedad. En relación a la metodología de transferencia del proyecto, está en un principio proporcionó información relevante respecto al tipo de productores presentes en Chile y las características de los huertos. Esto ayudó a generar un

diagnóstico respecto a la presencia de la enfermedad, limitantes del huerto que favorecían la enfermedad y tipo de manejo empleado. Todo este tipo de información es relevante para el asesor y el investigador, puesto que muestra el escenario real de la problemática y la diversidad que existe a nivel de herramientas de información alcanzables por cada uno de los productores. Además, en base a estos resultados se pudo evidenciar que los asesores eran la fuente de información más importante para el productor. Por lo tanto, era esencial capacitarlos, y con ayuda de ellos generar material informativo para los productores. Finalmente, toda la información adquirida durante este proyecto se plasmó en un manual técnico relacionado con el manejo integrado de especies de *Phytophthora* en nogal, el cual favorecerá a productores, investigadores, asesores, estudiantes y docentes a enfrentarse de mejor manera a este patógeno.

## 15. RECOMENDACIONES

Señale si tiene sugerencias en relación a lo trabajado durante el proyecto (considere aspectos técnicos, financieros, administrativos u otro).

- Planteamiento de ensayos, mejor planificación de ensayos.
- Problemas con flujo de ingresos por parte de Chilenut, lo que implicó pedir préstamos a la Universidad.
- Faltó más apoyo técnico en la realización de los ensayos en terreno específicamente a que te refieres? ¿Los de riego y nutrición? Si es así, se debe especificar. Esto hubiese permitido realizar muchas labores en un menor tiempo y más eficientemente.

## **16. ANEXOS**

**Anexo 1:** Identificación de especies de *Phytophthora* en la zona central de Chile

**Anexo 2:** Patogenicidad de especies de *Phytophthora* en plantas de *J. regia*

**Anexo 3:** Mediciones generales de los ensayos

**Anexo 4:** Ensayo de saturación con agua de riego

**Anexo 5:** Ensayo de fertilización nitrogenada

**Anexo 6:** Ensayo de control químico de *Phytophthora*

**Anexo 7:** Ensayo con portainjertos de nogal

**Anexo 8:** Tecnología de transferencia

**Anexo 9:** Tecnología ASISTE y Talleres de transferencia

**Anexo 10:** Talleres de transferencia

**Anexo 11:** Difusión

**Anexo 12:** Artículos científicos publicados

### Anexo 1: Identificación de especies de *Phytophthora* en la zona central de Chile

Los resultados de la prospección del 2015 se muestran en la Cuadro 4, mientras que los resultados de la prospección del 2016 realizada en marzo y agosto se muestra en el Cuadro 5.

**Cuadro 4.** Especies de *Phytophthora* y *Phytopythium* identificados en huertos de nogal de la zona central de Chile durante el año 2015.

Región	Comuna	Especie identificada
Coquimbo	Montepatria	<i>Phytopythium vexans</i>
	Illapel	<i>Phytopythium sp.</i>
	Illapel	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
Valparaíso	Cabildo	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
	Petorca	<i>Phytopythium vexans</i>
	Putendo	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
	Los Andes	<i>Phytopythium vexans</i> <i>Phytopythium sp.</i>
O'Higgins	Las Cabras	<i>Phytopythium vexans</i>
	Tunca	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
	Chimbarongo	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
	Chimbarongo	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
	Rengo	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
Maule	Teno	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
	Curicó	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
	San Clemente	<i>Phytophthora humicola</i>

¿También se identificaron como 11 cepas de Pythium, por qué no se colocaron? La otra posibilidad es que este capítulo sean los dos paper de Jeannette

**Cuadro 5.** Especies de *Phytophthora* y *Phytophthium* identificados en huertos de nogal de la zona central de Chile durante el año 2016.

Región	Comuna	Especie identificada
Coquimbo	Ovalle	<i>Phytophthium vexans</i>
	Montepatria	<i>P. humícola</i>
	Cuncumén	<i>P. cinnamomi</i>
	Salamanca	<i>Phytophthium vexans</i>
Valparaíso	Catemu	<i>P. cinnamomi</i>
	San Felipe	<i>Phytophthium vexans</i>
	Santa María	<i>Phytophthium vexans</i>
	Nogales	<i>Phytophthium vexans</i>
	Rinconada	<i>P. cinnamomi</i>
	Calle Larga	<i>Phytophthium vexans</i>
Metropolitana	Colina	<i>Phytophthium vexans</i>
	Melipilla	<i>Phytophthium vexans</i>
	Pirque	<i>P. cinnamomi</i>
	San Bernardo	<i>Phytophthium vexans</i>
	Buín	<i>Phytophthium vexans</i>
O'Higgins	Las Cabras	<i>P. cinnamomi</i>
	Codegua	<i>P. cinnamomi</i>
Maule	Hualañé	<i>P. cinnamomi</i>
	Miraflores	<i>P. cinnamomi</i>
Biobío	Santa Bárbara	<i>P. cinnamomi</i>
	Bulnes	<i>P. cinnamomi</i>
	San Ignacio	<i>P. cinnamomi</i>

La identificación de cada una de las especies de oomycetos aisladas se realizó molecularmente, tanto con gen (ITS) como con un segundo gen ( $\beta$ -tubulina) (Cuadro 6). Además, se identificaron morfológicamente (Cuadro 7).

**Cuadro 6.** Aislados de *Phytophthora* y *Phytophythium* identificados molecularmente.

Aislado	Especie	% identidad ITS/Bt	ITS/Bt	Codigo Genbank ITS/Bt
1856	<i>Phytopythium vexans</i>	99%-99%	HQ643400.2/GU133437.1	KU961895/MH427898
1857	<i>Phytopythium litorale</i>	99%-	HQ643386.2/	KU961896/
1858	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	100%-99%	KU723593.1/KU899233.1	KU961897/MH427875
1859	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	100%-99%	KU723593.1/KU899233.1	MH424500/MH427876
1866	<i>Phytopythium vexans</i>	99%-99%	HQ643400.2/AB856781.1	KU961899/MH427900
1867	<i>Phytopythium vexans</i>	99%-99%	HQ643400.2/GU133452.1	KU961900/MH427906
1868	<i>Phytopythium litorale</i>	100%-	KT148891.1/	KU961901/
1869	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	99%-	KU723593.1/	KU961902/
1870	<i>Phytopythium vexans</i>	99%-99%	HQ643400.2/GU133452.1	KU961903/MH427905
1871	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	100%-100%	GU799635.1/KU899233.1	KU961904/MH427877
1872	<i>Phytopythium vexans</i>	99%-99%	HQ643400.2/GU133453.1	KU961905/MH427897
1873	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	99%-99%	GU111594.1/KU899233.1	KU961906/MH427878
1874	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	100%-99%	GU799635.1/KU899233.1	KU961907/MH427879
1875	<i>Phytophthora humicola</i>	99%-99%	JQ757060.1/JN935975.1	KU961908/MH427893
1877	<i>Phytopythium vexans</i>	99%-99%	KT337684.1/GU133452.1	MH368442/MH427904
1878	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	100%-	KU723593.1/	MH424501/
1883	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	100%-99%	KP070692.1/DQ071355.1	MH236238/MH427880
1884	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	100%-99%	KT148918.1/EU079797.1	MH236239/MH427881
1908	<i>Phytopythium vexans</i>	100%-99%	KT337684.1/GU133452.1	MH368443/MH427902
1909	<i>Phytopythium vexans</i>	99%-99%	KT337684.1/AB856781.1	MH368444/MH427901
1943	<i>Phytophthora humicola</i>	99%-	JQ757060.1/	MH368445/
1957	<i>Phytopythium mercuriale</i>	99%-	KU211357.1/	MH368446/
1982	<i>Phytopythium litorale</i>	100%-	KT148891.1/	MH368448/
1994	<i>Phytophthora citrophthora</i>	100%-98%	KT148901.1/JN605845.1	MH368449/MH427892
1995	<i>Phytophthora citrophthora</i>	100%-	KT148903.1/	MH513500/

**Cuadro 7.** Aislados de *Phytophthora* y *Phytopythium* identificados morfológicamente.

<b>Aislado</b>	<b>Código campo</b>	<b>Resultado</b>
PN 1877	RM 22	<i>Phytopythium vexans</i>
PN 1878	VI 11	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
PN 1883	VI 31	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
PN 1884	VI 33	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
PN 1886	RM 31	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
PN 1903	RM 22	<i>Phytopythium vexans</i>
PN 1919	V 21	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
PN 1921	V 31	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
PN 1936	IV 34	<i>Phytopythium vexans</i>
PN 1938	IV 11	<i>Phytopythium vexans</i>
PN 1954	IV 32	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
PN 1955	VI 23	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
PN 1956	VI 32	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
PN 1969	VII 31	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
PN 1980	VIII 6	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
PN 1981	VIII 7	<i>Phytophthora cinnamomi</i>

Como se puede observar en los Cuadros 4 y 5, el muestreo del año 2016 fue más exitoso en el aislamiento de *Phytophthora* spp., ya que, el muestreo fue realizado en un periodo más propicio para patógeno (inicios de primavera versus fines de verano). El principal logro de la realización del segundo muestreo es que se logró aislar *P. cinnamomi* en todas las regiones muestreadas.

## Anexo 2: Patogenicidad de especies de *Phytophthora* en plantas de *J. regia*

Como se muestra en los Cuadros 8 y 9 se comprobó la patogenicidad de *P. cinnamomi* y *P. citrophthora* en plantas de *J. regia*.

**Cuadro 8.** Resultados de inoculación con *P. cinnamomi*.

Tratamiento (Aislado)	Daño aéreo (IDa)					Daño radicular (IDr)	
	Largo tallo (medias en cm)	Largo tallo (Dif. Medias)	Diámetro tallo (medias en cm)	Diámetro tallo (Dif medias)	Largo cancro	Grado de daño (medias)	Grado de daño (Dif. Medias)
T0	12,12	A	0,68	A	0	0	A
PN 1858	11,50	A	0,59	A	3,1	4	B
PN 1955	12,13	A	0,51	A	2,3	4	B
PN 1956	9,75	B	0,54	A	2,1	4	B

Letras diferentes indican diferencias según Test de Tukey  $p=0,05$ .

**Cuadro 9.** Resultados de inoculación con *P. citrophthora*.

Tratamiento (Aislado)	Daño aéreo (IDa)					Daño radicular (IDr)	
	Largo tallo (medias en cm)	Largo tallo (Dif. Medias)	Diámetro tallo (medias en cm)	Diámetro tallo (Dif medias)	Largo cancro	Grado de daño (medias)	Grado de daño (Dif. Medias)
T0	10,47	A	0,64	A	0	0	A
PN 1994	9,9	A	0,57	A	4	3,25	B
PN 1995	10,18	A	0,72	A	1,6	3,5	B

Letras diferentes indican diferencias según Test de Tukey  $p=0,05$ .

**Cuadro 10.** Resultados de inoculación con *P. humicola*.

Tratamiento (Aislado)	Daño aéreo (IDa)					Daño radicular (IDr)	
	Largo tallo (medias en cm)	Largo tallo (Dif. Medias)	Diámetro tallo (medias en cm)	Diámetro tallo (Dif medias)	Largo cancro	Grado de daño (medias)	Grado de daño (Dif. Medias)
T0	12,82	A	0,99	A	0	0	A
PN 1943	10,625	A	0,89	A	0	0	A
PN 1875	9,3	A	0,95	A	0	0	A

Letras diferentes indican diferencias según Test de Tukey  $p=0,05$ .

**Cuadro 11.** Resultados de inoculación con *P. vexans*.

Tratamiento (Aislado)	Daño aéreo (IDa)					Daño radicular (IDr)	
	Largo tallo (medias en cm)	Largo tallo (Dif. Medias)	Diámetro tallo (medias en cm)	Diámetro tallo (Dif medias)	Largo cancro	Grado de daño (medias)	Grado de daño (Dif. Medias)
T0	13,75	A	1,14	A	0	0	A
PN 1909	11,87	A	0,78	A	0	0	A
PN 1872	15,57	A	0,85	A	0	0	A
PN 1866	7,2	A	0,91	A	0	0	A

Letras diferentes indican diferencias según Test de Tukey  $p=0,05$ .

### Anexo 3: Mediciones generales de los ensayos.

Índice de daño aéreo (IDa): El IDa se asoció a las variables de altura y diámetro de la planta, el cual se midió desde los 2 cm del sustrato hacia arriba, haciéndose necesario marcar el tallo de cada planta. Por otro lado, se consideró el largo del cancro el cual se midió con ayuda de una huincha, cabe destacar que esta medición no se presentó en todas las plantas. Por último, se consideró que era necesario utilizar una escala de daño para definir de manera homogénea y a través de un solo parámetro el daño que tenía cada planta.

A continuación, se presenta la escala de daño aéreo.

**Cuadro 12.** Escala de índice de daño aéreo.

Grado	Descripción
0	Planta sana.
1	Planta con clorosis ligera y marchitez de hojas.
2	Planta con clorosis, marchitez y necrosis en hojas.
3	Planta marchita, con pérdida de hojas y presencia de cancro a nivel de cuello (opcional).
4	Planta muerta.

Índice de daño radicular: El IDr se midió a partir de una escala de daño, a cada planta se le asignó una nota.

**Cuadro 13.** Escala de índice de daño radicular

Grado	Descripción
0	Raíces sin daño, presencia de abundantes raíces y raicillas en activo crecimiento.
1	Raíces con daño: se observa una pérdida menor al 25% de raíces y leve pudrición de raíces o raicillas.
2	Raíces con daño: se observa entre un 25% a 50% de pérdida de raíces. Daño vascular a nivel del cuello y pudrición de raíces.
3	Raíces con daño: se observa entre un 50-75% de pérdida de raíces y una evidente pudrición de raíces. Daño vascular a nivel del cuello.
4	Raíces con daño, se observa entre un 75%-100% de pérdida de raíces y una evidente pudrición. Cancro visible a nivel de cuello (opcional).

Fuente: Vettraino *et al* 2013.

Ambas escalas de daño, se transformaron a porcentaje de daño foliar o radicular, a partir de la siguiente fórmula:

$$IDr = \frac{\sum (g \times n)}{N \times G}$$

n es el número de muestras dentro de cada rango

g es el grado de ataque de cada planta (de acuerdo a la escala de daño)

N es el total de plantas inoculadas

G es el grado máximo de la escala

-Peso fresco y seco de hojas y raíces: Cada planta se pesó separando su parte aérea de la radicular, posteriormente se procedió al secado en estufa a 80°C durante 48 horas y de esta manera se obtuvo el peso seco. Cabe destacar que la medición de peso seco fue de mayor importancia debido a que arroja un valor real de la biomasa de la planta.

#### Mediciones particulares:

Ensayo de fertilización:

- Contenido de nitrógeno foliar (%)

Ensayo de portainjertos clonales:

- Volumen y masa radicular (g)
- Crecimiento relativo de raíces (mm)
- Concentración de azúcares solubles y almidón (mg/g)

#### **Aspectos generales de los ensayos.**

Plantas utilizadas: En un inicio la utilización de plantas libres de patógenos fue fundamental, principalmente en los ensayos de patogenicidad. Por lo mismo se decidió producir plantas sanas a nivel de sombreadero. Para esto se desinfectó la semilla, se esterilizó el sustrato y se realizaron aplicaciones preventivas de productos químicos. Por otra parte, en los sucesivos ensayos se utilizaron plantas de *J. regia* compradas en vivero.

Inoculación: La inoculación se realizó para todos los ensayos por igual, aplicando una concentración de  $1 \times 10^4$  propágulos/ml. El propágulo se componía por zoosporas y micelio de *Phytophthora*. Inmediatamente posterior a la inoculación, se saturaron las plantas con agua durante 48 horas, el agua debía estar por sobre 2 cm del sustrato y de esta manera se aseguraba agua libre en el sustrato y el patógeno comenzará su proceso infectivo.

#### Anexo 4: Ensayo de saturación con agua de riego

-IDa: el delta de crecimiento de la altura y diámetro de la planta, como también largo del cancro, no fue representativo, ya que no hubo diferencias significativas entre tratamientos.

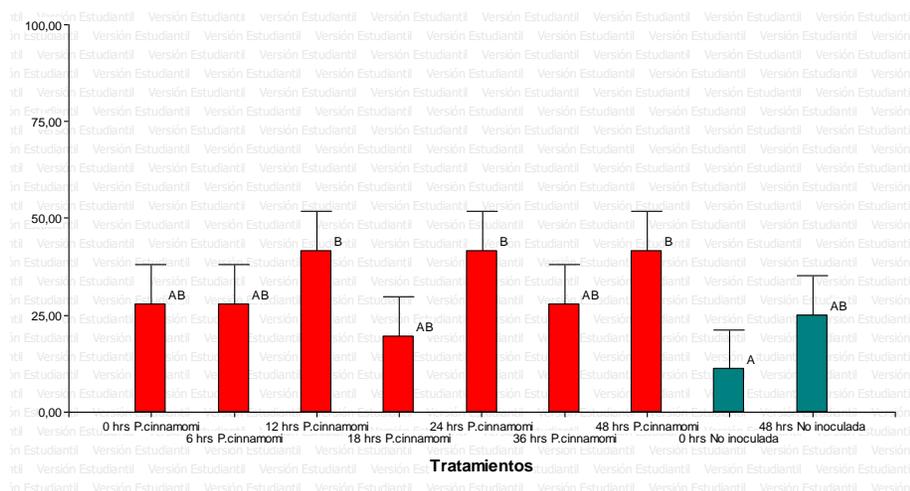
**Cuadro 14.** Delta de crecimiento en altura (cm) **Cuadro 15.** Delta de crecimiento en diámetro (cm)

Nivel de inoculación	Nivel de saturación	Medias
P. cinnamomi	0 horas	0,04 A
P. cinnamomi	24 horas	0,09 A
No inoculado	0 horas	0,13 A
P. cinnamomi	6 horas	0,13 A
P. cinnamomi	18 horas	0,14 A
P. cinnamomi	36 horas	0,16 A
P. cinnamomi	36 horas	0,16 A
No inoculado	48 horas	0,17 A
P. cinnamomi	12 horas	0,26 A

Nivel de inoculación	Nivel de saturación	Medias
P. cinnamomi	48 horas	0,22 A
P. cinnamomi	36 horas	0,23 A
P. cinnamomi	12 horas	0,38 AB
No inoculado	48 horas	0,45 ABC
No inoculado	0 horas	0,48 ABC
P. cinnamomi	24 horas	0,50 ABC
P. cinnamomi	0 horas	0,57 BC
P. cinnamomi	6 horas	0,72 C
P. cinnamomi	18 horas	0,73 C

\*Nota: Test de Fischer. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

En cuanto a la altura, no hubo diferencias significativas, lo que pudo justificarse por que las plantas provenían de semillas, lo que otorga heterogeneidad. Por otro lado, en el diámetro se observó que el menor diámetro estuvo asociado a plantas inoculadas y saturadas por 48 y 36 horas, lo contrario ocurrió con plantas inoculadas y saturadas por 6 y 18 horas.



**Figura 1:** IDa (%) de las hojas de nogal a diferentes horas de saturación inoculadas con *P. cinnamomi* y no inoculadas.

Al transformar los datos de la escala de daño a porcentaje de daño aéreo los resultados coincidieron con lo arrojado por el diámetro y altura. Observándose un mayor ID en plantas saturadas 48 horas. Lo contrario, es decir, un menor ID estuvo asociado a 0 horas de saturación.

-Peso seco: no se observaron grandes diferencias significativas en hojas y raíces, destacándose solamente que la planta de mayor peso respecto a sus hojas correspondió a las de 6 horas en comparación a las de 36 horas de saturación (ambas inoculadas). Por otro lado, en las raíces el mayor peso la obtuvieron las plantas inoculadas con 0 horas de saturación y las no inoculadas de 0 y 48 horas. Lo contrario ocurrió en plantas inoculadas con *P. cinnamomi*, pero saturadas 48 horas, las cuales mostraron un menor peso de raíces debido a un mayor grado de pudrición.

**Cuadro 16.** Peso seco hojas (g)

Nivel de inoculación	Nivel de saturación	Medias
P. cinnamomi	36 horas	4,41 A
P. cinnamomi	48 horas	5,48 AB
P. cinnamomi	24 horas	5,51 AB
P. cinnamomi	18 horas	5,58 AB
P. cinnamomi	0 horas	5,66 AB
No inoculado	0 horas	5,67 AB
No inoculado	48 horas	5,82 AB
P. cinnamomi	12 horas	6,04 AB
P. cinnamomi	6 horas	6,76 B

**Cuadro 17.** Peso seco raíces (g)

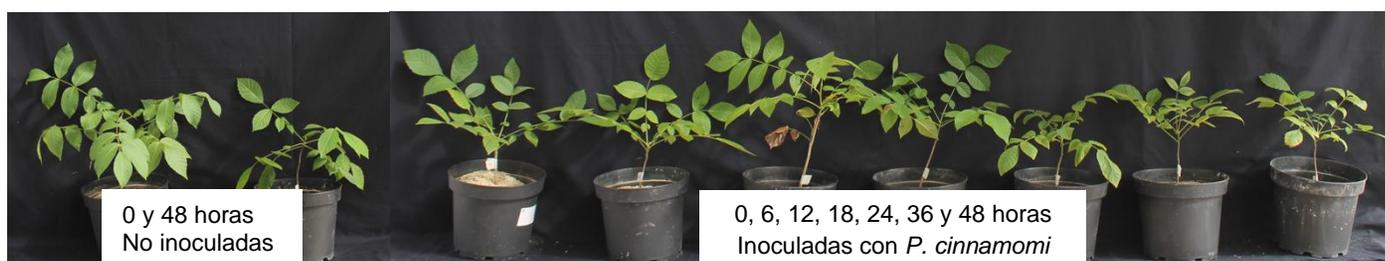
Nivel de inoculación	Nivel de saturación	Medias
P. cinnamomi	48 horas	8,25 A
P. cinnamomi	18 horas	10,56 AB
P. cinnamomi	24 horas	10,84 AB
P. cinnamomi	36 horas	11,54 AB
P. cinnamomi	12 horas	12,03 AB
P. cinnamomi	6 horas	12,18 AB
No inoculado	48 horas	12,50 B
No inoculado	0 horas	12,78 B
P. cinnamomi	0 horas	12.83 B

Nota: Test de Fischer. Medias con una letra común no son significativamente

-IDr: el Cuadro 18 muestra que el mayor porcentaje de pudrición en las plantas inoculadas fue del tratamiento de 48 horas de saturación. El menor IDr estuvo asociado a 0 horas de saturación, sin embargo, sobre 6 horas de saturación podemos tener graves daños en la raíz.

**Cuadro 18.** Pudrición radicular (%)

Nivel de inoculación	Nivel de saturación	Medias
No inoculado	0 horas	8,33 A
<i>P. cinnamomi</i>	0 horas	12,50 A
No inoculado	48 horas	20,83 A
<i>P. cinnamomi</i>	36 horas	29,17 AB
<i>P. cinnamomi</i>	18 horas	29,17 AB
<i>P. cinnamomi</i>	24 horas	45,83 BC
<i>P. cinnamomi</i>	6 horas	50,00 BC
<i>P. cinnamomi</i>	12 horas	50,00 BC
<i>P. cinnamomi</i>	48 horas	66,67 C



**Figura 2:** Tratamientos ensayo de saturación (parte aérea).



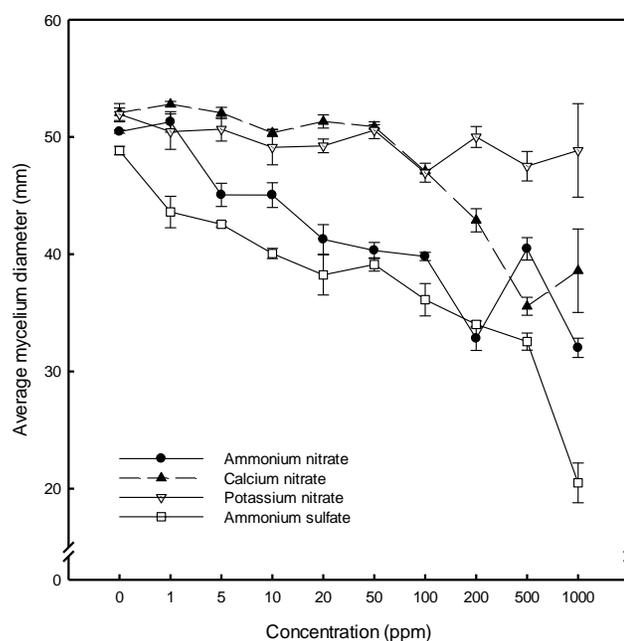
**Figura 3:** Tratamientos ensayo de saturación (parte radicular).

## Anexo 5: Ensayo de fertilización nitrogenada

### Ensayo *In vitro*

A continuación, se presentan los resultados finales analizados estadísticamente respecto la relación entre distintas dosis y fuentes nitrógeno y el crecimiento del micelio de *P. cinnamomi* (Figura 4).

- ✓ Fuentes amoniacaes mostraron un mayor efecto inhibitorio en el crecimiento del micelio en comparación a las fuentes nítricas.
- ✓ El crecimiento del micelio disminuyó de 50.5 mm a 32 mm con  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y de 48.8 mm a 20.5 mm con  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , correspondiente a las mediciones realizadas a la 0 ppm y 1000 ppm. No obstante,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  provocó la mayor inhibición *in vitro* en comparación a todos los tratamientos.
- ✓  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  inhibió el micelio, pero el efecto fue a mayores dosis en comparación a  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .
- ✓ La inhibición del crecimiento *in vitro* de *P. cinnamomi* con 500 ppm de N como  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , no es diferente a cuando se utilizan 200 ppm de N como  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y 20 ppm de N como  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .



**Figura 4.** Crecimiento *In vitro* del micelio de *P. cinnamomi* con diferentes fuentes y concentraciones de nitrógeno. Las diferencias significativas de medias se analizaron a partir de la prueba HSD-Tukey,  $\alpha = 0.95$ .

### Ensayo bajo invernadero

Tras la evaluación del efecto generado por las distintas dosis de fertilización nitrogenada y la inoculación por *P. cinnamomi* se pudo concluir lo siguiente:

- ✓ Plantas inoculadas con *P. cinnamomi* presentaron menor desarrollo de la canopia y raíces, por, sobre todo, el tratamiento no fertilizado (0 ppm) y el tratamiento fertilizado en exceso con 1050 ppm.
- ✓ Las plantas inoculadas fertilizadas con 70 ppm presentaron mayor desarrollo de canopia y raíces en relación al resto de los tratamientos.
- ✓ Plantas no inoculadas mostraron un mayor número y tamaño de hojas, como también mayor crecimiento radicular, dado un mayor número de raicillas desarrolladas de manera superficial y en profundidad a lo largo del sustrato. Esto, a excepción del tratamiento fertilizado con 1050 ppm.
- ✓ Particularmente, el crecimiento de la canopia compuesto por el diámetro, altura y largo de hojas no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento 0 ppm y 35, 70, 140 y 210 ppm. El tratamiento 1050 ppm si se diferenció de los tratamientos intermedios, no así, del tratamiento 0 ppm respecto al crecimiento del tallo.
- ✓ La biomasa de la canopia de los tratamientos 0 y 1050 ppm mostraron valores de 6.87 y 5.70 g, respectivamente, es decir, los valores más bajos en relación al resto de los tratamientos. A nivel de raíz, la biomasa se diferenció significativamente en ambos tratamientos, observándose que las plantas que no fueron fertilizadas (0 ppm) obtuvieron 24.14 g a diferencia del tratamiento fertilizado con 1050 ppm, que obtuvo 5.70 g de biomasa seca de raíces.

El efecto del nitrógeno sobre el crecimiento vegetativo y radicular del nogal se muestra en el Cuadro 19. Por otra parte, la Figura 5 muestra gráficamente el efecto provocado por *P. cinnamomi* en plantas inoculadas.



**Figura 5.** Plantas de *J. regia* no inoculadas e inoculadas con *P. cinnamomi* fertilizadas con 0, 35, 70, 140, 210 y 1050 ppm de nitrógeno.

**Cuadro 19.** Crecimiento del tallo (diámetro y altura y longitud de las hojas) y biomasa seca de la canopia y raíces.

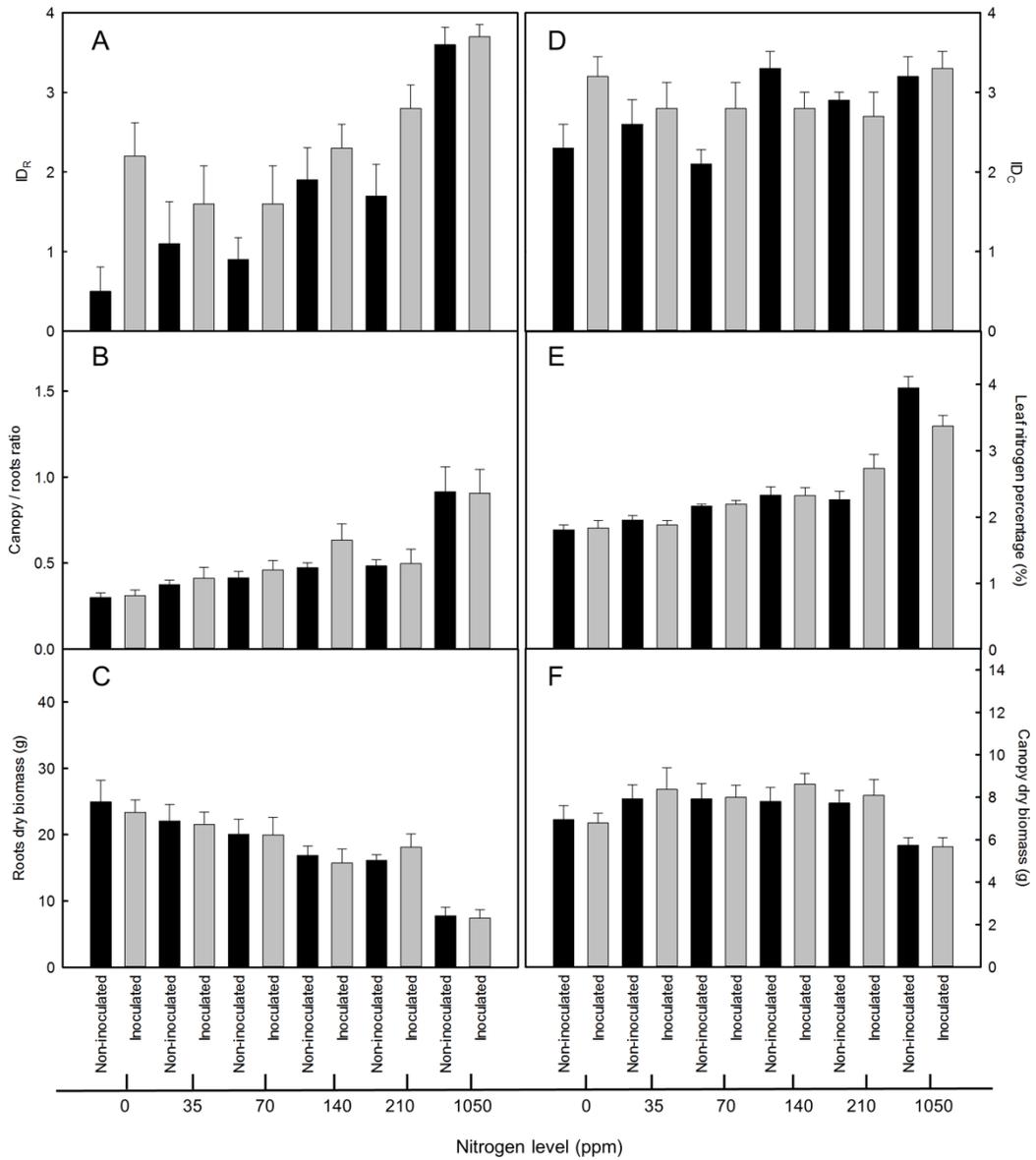
Level of N dose (ppm)	Stem growth (cm)		Dry biomass (g)		
	Diameter	Height	Lenght		
			of leaves	Canopy	Roots
<b>N0</b>	2,22 ± 0,19 ab	1,98 ± 0,33 b	5,95 ± 0,49 ab	6,87 ± 0,39 ab	24,14 ± 1,85 a
<b>N35</b>	2,93 ± 0,25 a	2,89 ± 0,61 ab	7,26 ± 0,69 ab	8,15 ± 0,59 a	21,79 ± 1,52 ab
<b>N70</b>	2,57 ± 0,20 ab	2,18 ± 0,27 ab	5,72 ± 0,53 ab	7,96 ± 0,45 a	20,00 ± 1,69 ab
<b>N140</b>	2,80 ± 0,23 a	4,17 ± 0,84 a	6,04 ± 0,68 ab	8,21 ± 0,41 a	17,13 ± 1,23 b
<b>N210</b>	2,87 ± 0,22 a	3,54 ± 0,43 ab	7,34 ± 0,64 a	7,90 ± 0,47 a	16,29 ± 1,07 b
<b>N1050</b>	1,88 ± 0,13 b	3,90 ± 0,50 ab	4,92 ± 0,48 b	5,70 ± 0,27 b	7,6 ± 0,88 c

Diámetro, altura y longitud de las hojas corresponden al delta de crecimiento entre 0 y 90 DAA (días después de la aplicación de tratamientos de nitrógeno). La medición de la biomasa seca se obtuvo después de los 90 DAA.

### Índices de daños asociados a las variables de desarrollo en nogal

- ✓ Los mayores índices de daño (ID) estuvieron asociados a las plantas inoculadas sin fertilizar (0 ppm) y en un mayor grado a las plantas fertilizadas en exceso (1050 ppm), sobre todo a nivel de raíz.
- ✓ Plantas no inoculadas sin fertilizar presentaron menor ID (asociado a la deficiencia nutricional) que las plantas inoculadas dada la presencia de *P. cinnamomi*.
- ✓ Plantas fertilizadas con 1050 ppm no inoculadas e inoculadas no se diferenciaron estadísticamente respecto al ID, dado que en ese punto la planta se vería dañada por la fitotoxicidad por N, anulándose el efecto del patógeno, el cual probablemente se inhibió en presencia de altas concentraciones de N (como se demostró en el ensayo *in vitro*).
- ✓ El índice de daño de la canopia (IDa) se relacionó directamente con el índice de daño radicular (IDr) y porcentaje de N, sin embargo, estas variables se relacionaron indirectamente de la biomasa seca de canopia y raíces.
- ✓ Los tratamientos intermedios fertilizados con 35 y por sobre todo con 70 ppm mostraron menor ID, a diferencia de los otros tratamientos (140 y 210 ppm) que presentaron un alto ID cercano al obtenido en el tratamiento 1050 ppm.
- ✓ El porcentaje de nitrógeno foliar aumentó a medida que el nivel de N era mayor. Plantas no fertilizadas (0 ppm) y fertilizadas con 35 ppm presentaron valores entre 1.81% y 1.96% de N, es decir, por debajo del 2.1% que es considerado como deficiente en plantas de nogal (Beutel *et al.* 1976).
- ✓ Tratamientos 70, 140 y 210 ppm están dentro del rango adecuado con valores entre los 2.17% y 2.73% (Beutel *et al.* 1976; Goodman *et al.* 2013). Sin embargo, al considerar el crecimiento vegetativo y radicular presentados en la Figura 6 y Cuadro 16, la dosis de 70 ppm maximiza positivamente los efectos del nitrógeno comparativamente.
- ✓ El tratamiento fertilizado con 1050 ppm de N obtuvo valores entre 3.37% y 3.95% considerado como tóxico para el nogal (Simorte *et al.*, 2001).
- ✓ No hubo diferencias significativas entre los porcentajes de N obtenidos en pre-inoculación versus post-inoculación.
- ✓ Las variables “relación canopia/raíces” (C/R ratio) no se relacionó con las variables presentadas en la Figura 6. La menor C/R ratio se presentó en las plantas que no fueron fertilizadas (0 ppm), estos valores no se diferencian de los tratamientos fertilizados con 35, 70, 140 y 210 ppm. Por el contrario, el tratamiento fertilizado con 1050 ppm, correspondió la mayor relación entre canopia y raíces de 0.9, puesto que ambas estructuras eran de menor tamaño.

- ✓ La biomasa seca de la canopia fue baja en los tratamientos 0 ppm y 1050 ppm, sin diferenciarse estadísticamente entre ellos. Los tratamientos fertilizados con 35, 70, 140 y 210 ppm, no se comportaron diferentes entre ellos, sin embargo, tampoco lo hicieron respecto al tratamiento sin fertilizar.
- ✓ La biomasa seca de las raíces en el tratamiento 0 ppm se destacó por tener los mayores valores de biomasa seca de raíces, el cual no se diferenció de los tratamientos 35 y 70 ppm. Mientras que el tratamiento fertilizado con 1050 ppm tuvo la menor biomasa de raíces.
- ✓ La probabilidad de daño en las raíces según el nivel de nitrógeno indicó que plantas no inoculadas y fertilizadas con 0, 35 y 70 ppm se mantendrían un  $ID_{R^P}=0$ . Desde los 70 ppm hasta 1050 ppm, el valor de  $ID_{R^P}$  iba en aumento, asociado directamente al efecto del nitrógeno dada la ausencia de *P. cinnamomi*.
- ✓ Plantas inoculadas con *P. cinnamomi* y fertilizadas con 0, 35, 70 y 140 ppm estuvieron moderadamente dañadas con  $ID_{R^P}=2$ . Sin embargo, sobre 210 ppm el valor de  $ID_{R^P}$  alcanzó el grado 4 (planta severamente afectada).
- ✓ Tratamientos fertilizados con 140 y 1050 ppm de nitrógeno, ya sea no inoculadas como inoculadas con *P. cinnamomi* no mostraron diferencias respecto al  $ID_{R^P}$ . Lo que quiere decir que en ambos casos los daños podrían asociarse al efecto del nitrógeno y no *Phytophthora*.



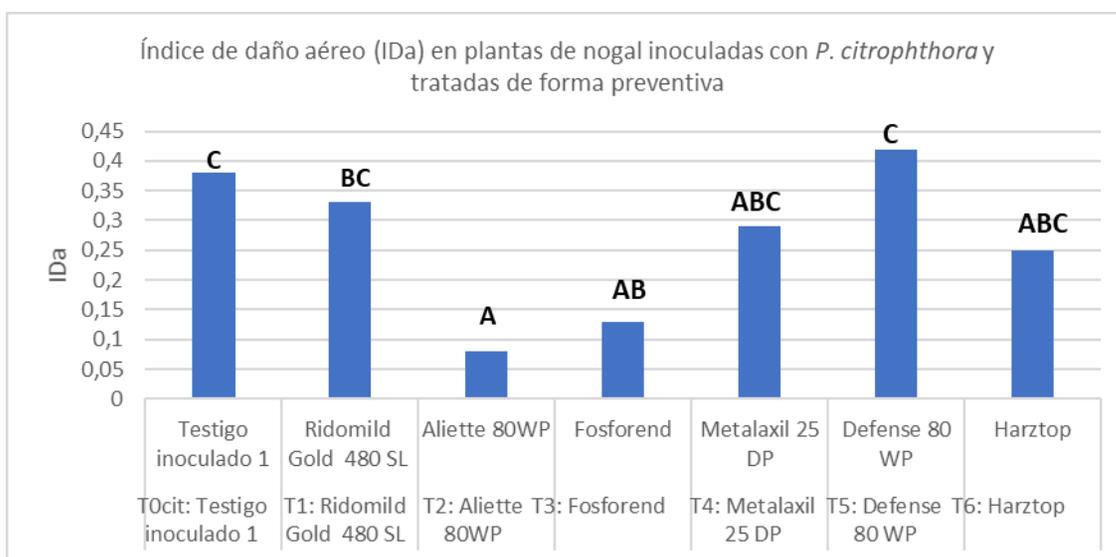
**Figura 6.** Efecto del nivel de nitrógeno e inoculación en el índice de daño de raíz (ID<sub>R</sub>) (A), relación de canopia/raíz (B), biomasa seca de raíces (C), índice de daño canopia (ID<sub>C</sub> o ID<sub>A</sub>) (D), % de nitrógeno de la hoja (E) y biomasa seca de la canopia (F).

## Anexo 6: Ensayo de control químico de *Phytophthora*

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en plantas de nogal *Juglans regia* tratadas con distintos productos fungicidas, más un tratamiento testigo inoculado, sobre el control preventivo y curativo de pudrición de cuello y raíces causada por *P. cinnamomi* y *P. citrophthora*.

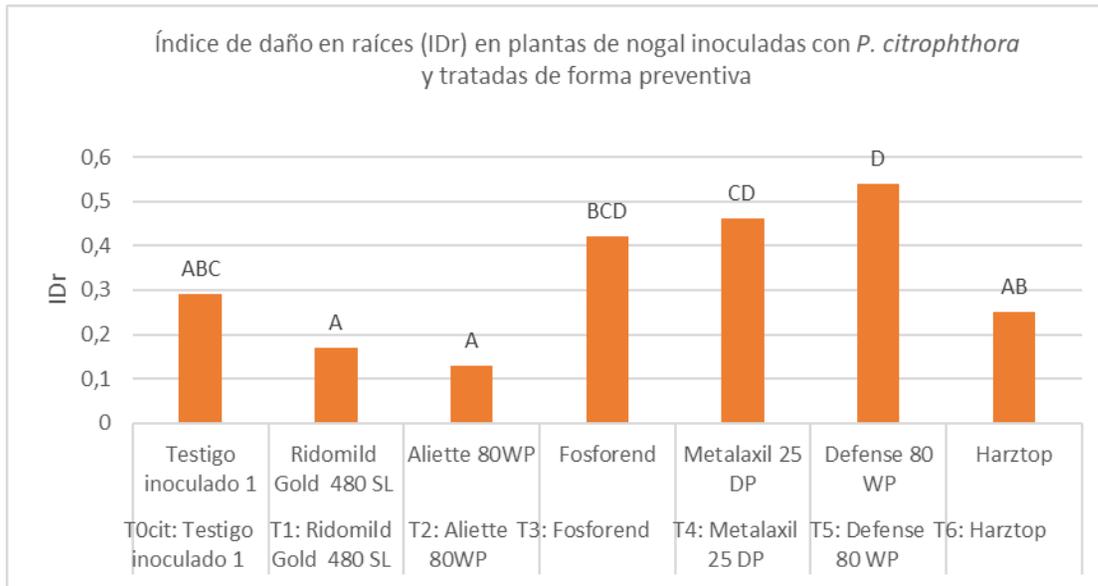
### - Ensayo preventivo con *P. citrophthora*

Aliette y Fosforend fueron los productos que mostraron un menor IDa, en comparación con el testigo (Figura 7).



**Figura 7.** Índice de daño aéreo obtenido en plantas de nogal inoculadas con *P. citrophthora* y tratadas de forma preventiva con seis fungicidas.

A nivel radicular el ensayo preventivo mostró que Defense 80WP fue el producto que generó un mayor IDr, mientras que los otros productos aplicados no lograron diferenciarse del testigo (Figura 8).



**Figura 8.** Índice de daño en raíces obtenido en plantas de nogal inoculadas con *P. citrophthora* y tratadas de forma preventiva con seis fungicidas.

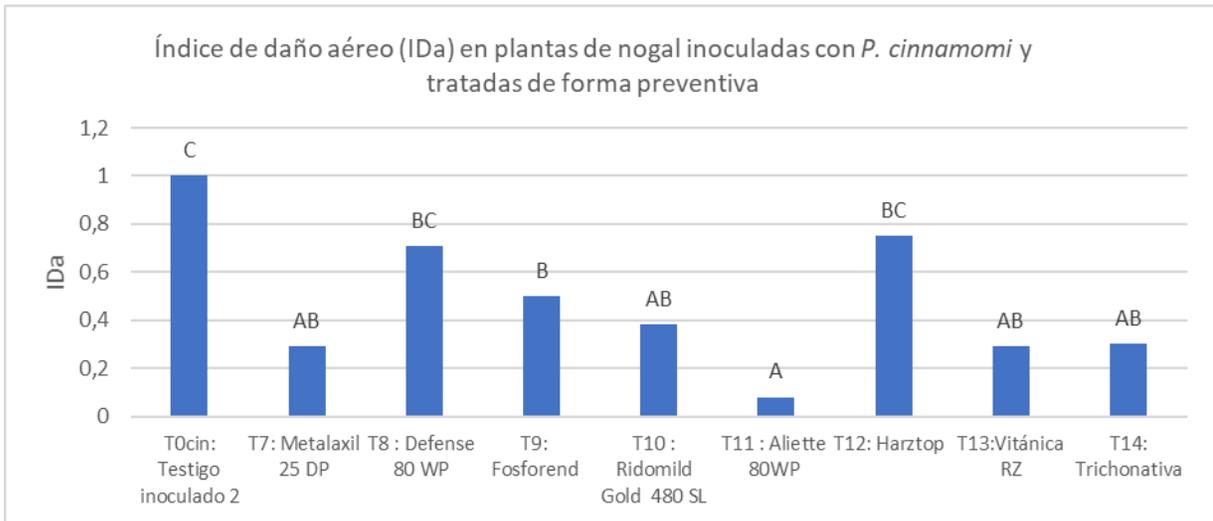
**Cuadro 20.** Resultado de variables cuantitativas evaluadas en plantas de nogal inoculadas con *P. citrophthora* y tratadas de forma preventiva.

Tratamiento	Diámetro (cm)*			Altura planta (cm)*	
T0cit	9,09		B	19,95	A
T1	7,39	A		13,83	A
T2	7,94	A	B	25,88	B
T3	7,98	A	B	17,85	A
T4	7,71	A	B	16,57	A
T5	7,77	A	B	17,18	A
T6	7,67	A	B	15,23	A
Tratamiento	Peso fresco aéreo (g)		Peso fresco raíces (g)		
T0cit	45,83	B	96,67	B	
T1	29,17	A	89,17	AB	
T2	62,00	C	78	AB	
T3	46,67	B	75	AB	
T4	44,17	AB	76,67	AB	
T5	33,33	AB	63,33	AB	
T6	32,5	AB	55,83	A	
Tratamiento	Peso seco aéreo (g)		Peso seco raíces (g)		
T0cit	16,67	AB	44,17	B	
T1	10,83	A	28,33	A	
T2	36	C	30	A	
T3	17,5	B	33,33	AB	
T4	16,67	AB	31,67	A	
T5	12,5	AB	29,17	A	
T6	11,67	AB	22,5	A	

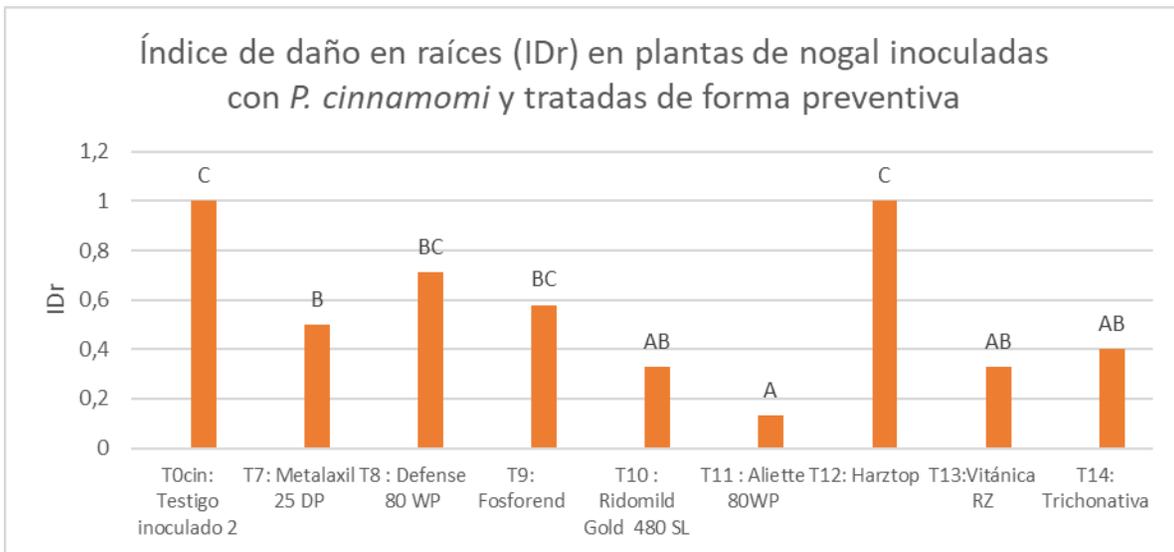
\*Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

- *Ensayo preventivo con P. cinnamomi*

Los resultados mostraron que los productos que generaron un mejor efecto fueron Metalaxil (T7), Fosforend (T9), Ridomil (T10), Aliette (T11), Vitánica (T13), Trichonativa (T14), tal como se muestra en las Figuras 9 y 10.



**Figura 9.** Índice de daño aéreo obtenido en plantas de nogal inoculadas con *P. cinnamomi* y tratadas de forma preventiva con ocho fungicidas.

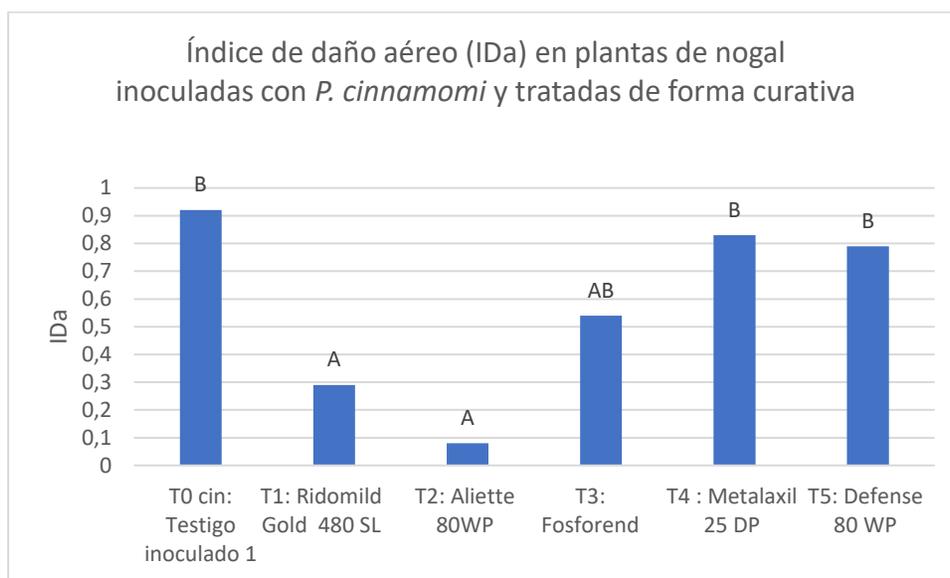


**Figura 10.** Índice de daño en raíces obtenido en plantas de nogal inoculadas con *P. cinnamomi* y tratadas de forma preventiva con ocho fungicidas.

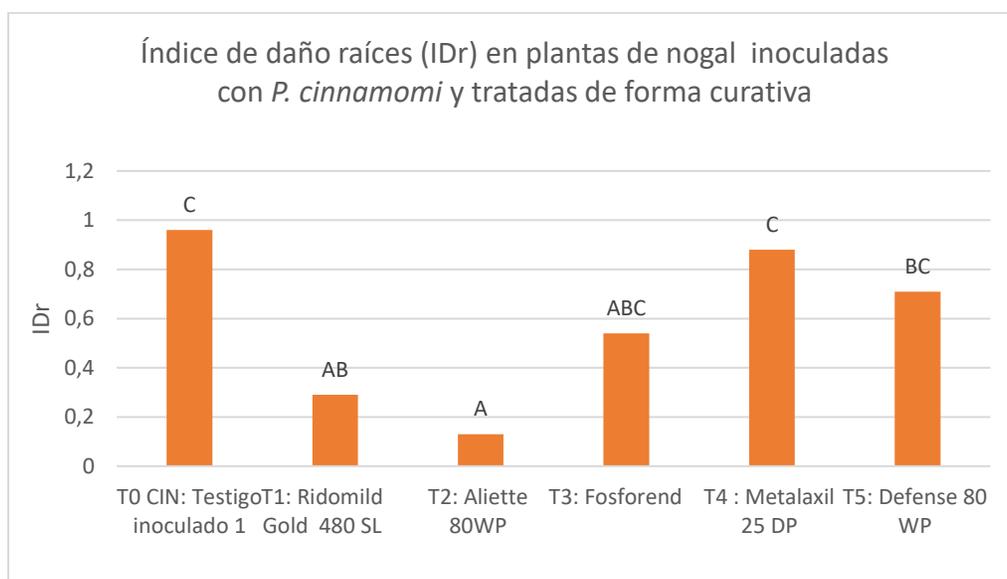
En cuanto a los resultados de las variables cuantitativas evaluadas en el ensayo, estas no mostraron diferencias claras respecto al tratamiento testigo.

- *Ensayo Curativo con P. cinnamomi*

Los resultados de este ensayo mostraron que Ridomil (T1) y Aliette (T2) fueron los tratamientos con un menor índice de daño, tanto a nivel aéreo, como radicular. Lo anterior se muestra claramente en las Figuras 11 y 12.



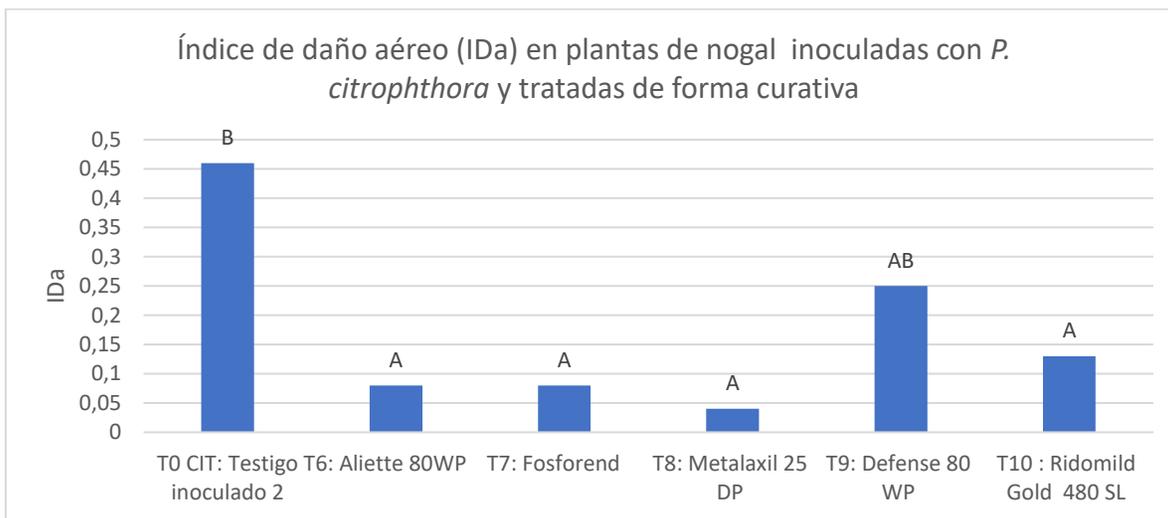
**Figura 11.** Índice de daño aéreo obtenido en plantas de nogal inoculadas con *P. cinnamomi* y tratadas de forma curativa con cinco fungicidas.



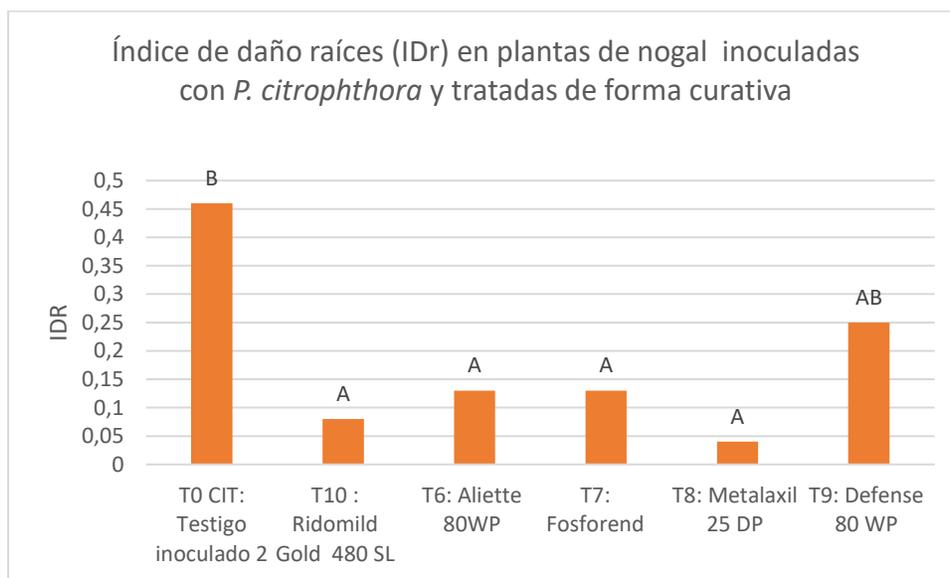
**Figura 12.** Índice de daño en raíces obtenido en plantas de nogal inoculadas con *P. cinnamomi* y tratadas de forma curativa con cinco fungicidas.

- Ensayo Curativo con *P. citrophthora*

Los resultados de este ensayo mostraron que Aliette (T6), Fosforend (T7), Metalaxil (T8), Ridomil (T10) fueron los tratamientos con un menor índice de daño, tanto a nivel aéreo, como radicular. Lo anterior se muestra claramente en las Figuras 13 y 14.



**Figura 13.** Índice de daño aéreo obtenido en plantas de nogal inoculadas con *P. citrophthora* y tratadas de forma curativa con cinco fungicidas.



**Figura 14.** Índice de daño en raíces obtenido en plantas de nogal inoculadas con *P. citrophthora* y tratadas de forma curativa con cinco fungicidas.

De manera gráfica se presentan los tratamientos en las Figuras 15 y 18.



**Figura 15.** Ensayo Preventivo-*P. citrophthora*



**Figura 16.** Ensayo Preventivo-*P. cinnamomi*



**Figura 17.** Ensayo Curativo-*P. cinnamomi*



**Figura 20.** Ensayo Curativo-*P. citrophthora*

Finalmente, a partir de los resultados arrojados por los ensayos de productos químicos se pudo concluir que:

- Las plantas inoculadas con *P. cinnamomi* presentaron mayor daño que las plantas inoculadas con *P. citrophthora*
- Respecto del tipo de control, preventivo y curativo, se obtuvo mejores resultados en aplicaciones de control preventivo.

## Anexo 7: Ensayo con portainjertos de nogal

### - Ensayo de patogenicidad y crecimiento

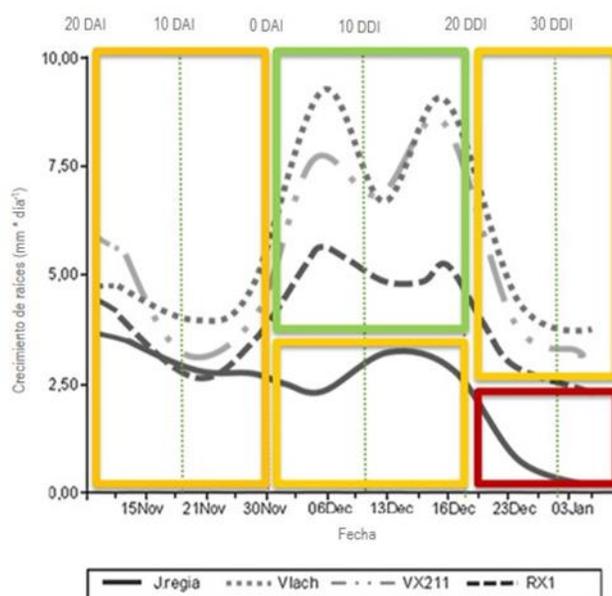
Tanto Vlach y VX211 inoculadas con *P. cinnamomi* o *P. citrophthora* aumentaron el peso fresco, peso seco y volumen de raíz. Respecto a la evolución del diámetro del tallo y altura de planta, Vlach y VX211 aumentaron, RX1 no presentó variación y *J. Regia* disminuyeron. Por otra parte, Vlach, VX211 y RX1 inoculados no mostraron diferencias en índices de daño en follaje respecto a Vlach, VX211 y RX1 no inoculados. En cuanto al largo del cancro, Vlach, VX211 y RX1 inoculados no se diferenciaron de las plantas no inoculadas.



**Figura 18.** Daño aéreo (A) y daño radicular (B) ocasionado por la inoculación de *P. cinnamomi* y *P. citrophthora* en portainjertos Vlach (1), VX211 (2), RX1 (3) y *J. regia* (4).

- *Crecimiento radicular en ensayos de rizotrones*

La tasa de crecimiento de la raíz (mm/día) se mantuvo constante entre todos los portainjertos antes de la inoculación (Figura 19), y solo cambió después de esto. Sin embargo, la inoculación con *P. cinnamomi* sólo *J. regia* presentó muerte de raíces, por lo que la tasa de crecimiento llegó a 0. Lo anterior se asoció principalmente a la pudrición y muerte de las mismas. Cabe señalar que la tasa de crecimiento radicular de los portainjertos fue más baja 10 - 20 días antes de la inoculación. Sin embargo, después de inocular con *Phytophthora* los portainjertos clonales aumentaron la tasa de crecimiento radicular. Finalmente, los portainjertos clonales mostraron mayor tasa de crecimiento radicular y raíces sanas luego de la inoculación.



DAI: Días antes de inoculación; DDI: Días después de inoculación

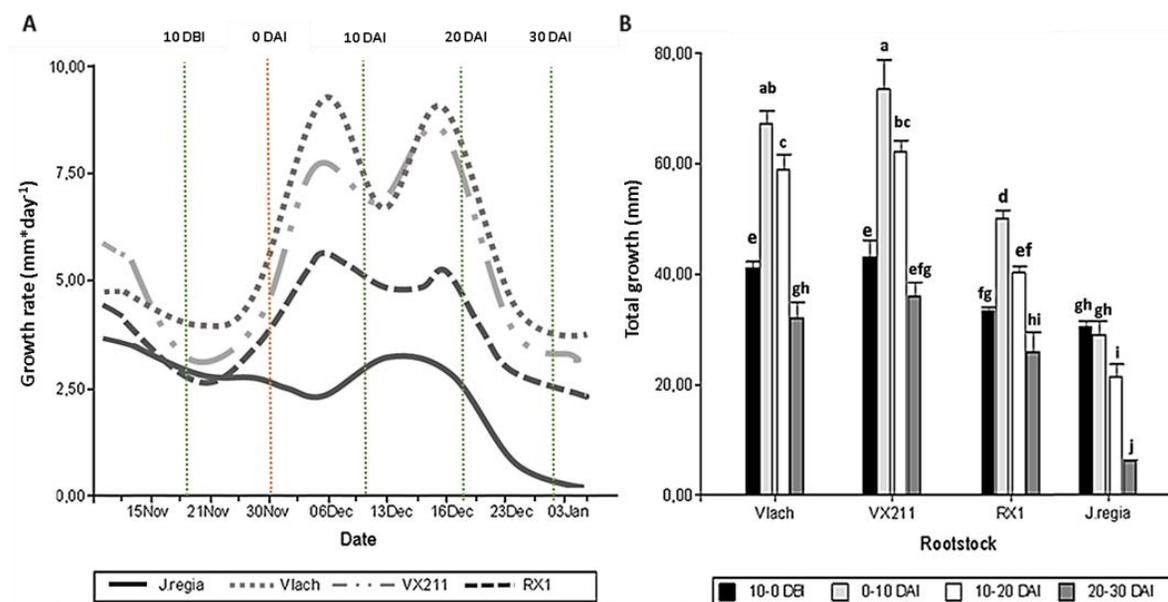
**Figura 19.** Tasa de crecimiento de raíces antes y después de inocular con *P. cinnamomi* (30 de noviembre).



**Figura 20.** Raíces presentes en rizotróon de planta de *J. regia*, la cual presenta pudrición.

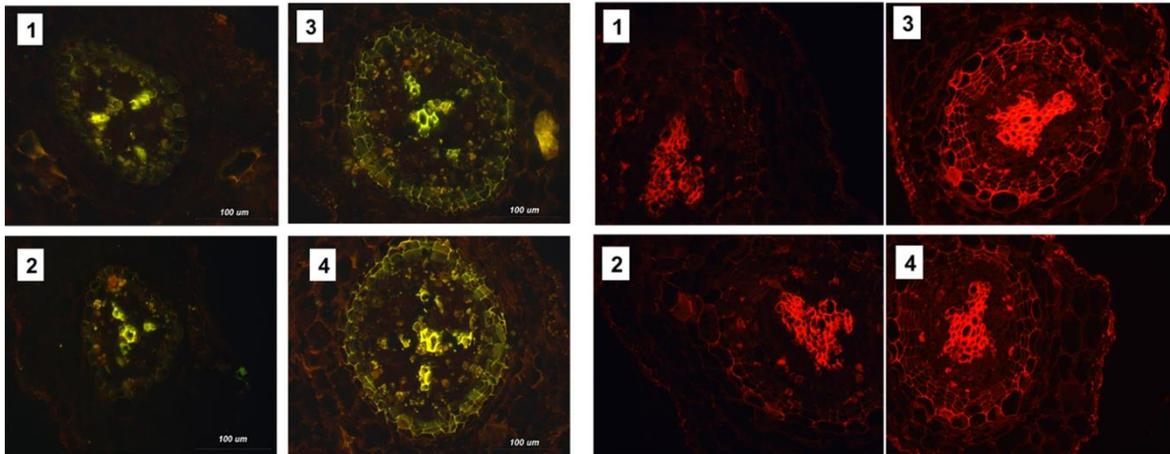
- Hidratos de carbono y compuestos fenólicos

Luego de transcurrir 10 días desde la inoculación con *P. cinnamomi* las plantas de Vlach y VX211 mostraron contenidos de azúcares solubles mayores a los presentados antes de la inoculación y RX1 mostraron mayores contenidos de almidón. Respecto a las plantas de *J. regia*, estas no variaron en cuanto al contenido de azúcares solubles y almidón. Finalmente, los contenidos de azúcares y almidón fueron menor en comparación con los portainjertos clonales.



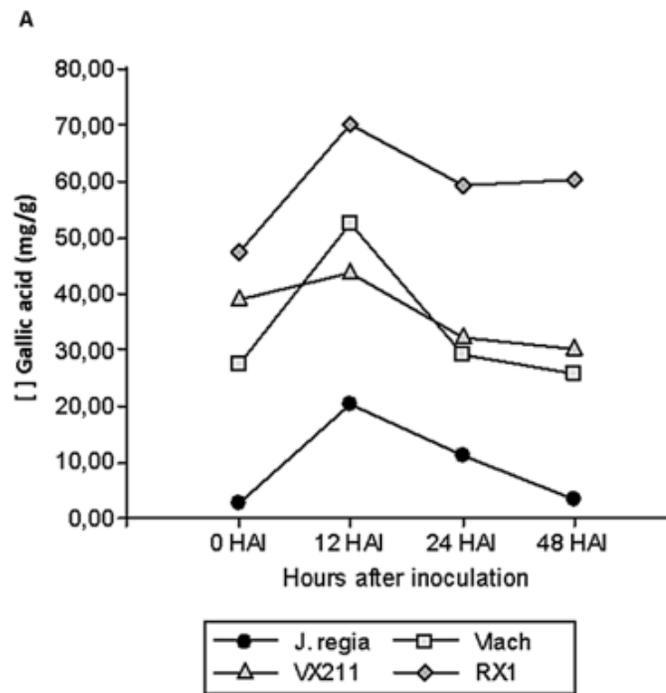
**Figura 21:** Tasa de crecimiento ( $\text{mm} \cdot \text{día}^{-1}$ ) antes y después de inoculación (30 noviembre) y crecimiento total (mm) en intervalos de 10 días antes (DBI) o después de inoculación (DAI).

En el caso del ensayo 3, se observó principalmente la presencia de deposiciones de compuestos de lignificación en los tejidos de la raíz del portainjerto Vlach (3 y 4) en comparación de cortes histológicos del portainjerto *J. regia* (1 y 2). Los cortes histológicos fueron teñidos con Safranina en solución hidroalcohólica, lo cual permitió visualizar estructuras de lignificación bajo fluorescencia a 600 nm (amarillo) y 650 nm (rojo). Por tanto, una mayor fluorescencia a igual longitud de onda e intercepción de luz muestra mayor contenido de compuestos de lignificación en portainjerto Vlach.



**Figura 22:** Cortes histológicos de raíces de portainjertos clonales de nogal observados con microscopía de fluorescencia.

En cuanto a los resultados del cuarto ensayo, en todos los casos se observó un aumento significativo del contenido de compuestos fenólicos, expresados en concentración de ácido gálico (mg/g), a las 12 horas después de inoculación (HAI). Este contenido disminuyó transcurridas 24 HAI, llegando a valores significativamente similares a los observados antes de inocular (0 HAI), en el caso de los portainjertos Vlach, VX211 y *J. regia*. Excepción de esto se observó en el portainjerto RX1, el cual presentó una disminución en el contenido de compuestos fenólicos a las 24 HAI, pero este valor fue estadísticamente mayor al contenido inicial presentado (Figura 24).



**Figura 23:** Evaluación del contenido de compuestos fenólicos (fitoalexinas) en raíces de portainjertos de nogal antes y después de inoculación con *Phytophthora cinnamomi*. HAI: Horas después de inoculación.

## Anexo 8. Tecnología de transferencia

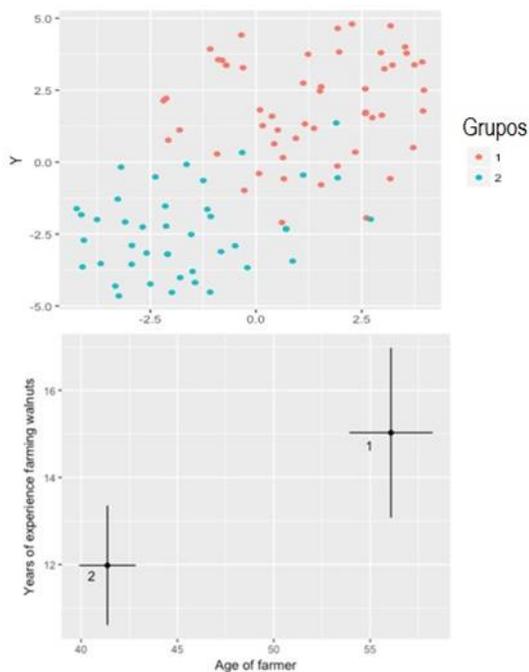
La meta fijada como tecnología de transferencia fue elaborar un manual técnico y un folleto de difusión. Ambos instrumentos fueron entregados en el seminario final realizado el 11 de marzo de 2020. En la Figura 24 se muestra el detalle de parte del resultado final de estos.



**Figura 24.** Lado izquierdo se muestra la portada del manual y a la derecha la portada del folleto.

## Anexo 9: Tecnología ASISTE

En base al análisis de estas encuestas, se identificaron dos tipos de productores de nogal, lo cual queda más clarificado en la Figura 25. Como se observa en dicha Figura, existió una clara diferencia entre dos grupos. De modo general, existió un primer grupo de mayor edad, más años de producción frutícola, menor tamaño de huertos y menor uso de tecnología. Por otra parte, el segundo grupo fue de menor edad, menor tamaño de huerto y menor uso de tecnología. Las características de cada grupo se detallan en el Cuadro 21.



**Figura 25.** Distribución de los datos. Se muestra claramente la distribución de los dos grupos.

**Cuadro 21.** Caracterización de los grupos

<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Edad promedio de 65 años.</li> <li>• Educación básica incompleta.</li> <li>• Maneja en promedio 0.6 ha de nogal sobre un total de 2 ha agrícolas.</li> <li>• No usa tecnología de monitoreo de riego define frecuencia de riego por calendario.</li> <li>• Riego por tendido.</li> <li>• No tiene análisis físicos ni químicos de su suelo y tampoco conoce la textura y materia orgánica de su suelo.</li> <li>• No usa información, solamente charlas técnicas a través de PRODESAL y vendedores de insumos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Edad promedio de 47 años.</li> <li>• Educación técnica completa.</li> <li>• Maneja en promedio 70 ha de nogal sobre un total de 80 ha agrícolas.</li> <li>• Usa calicatas, sensores de humedad y estaciones meteorológicas.</li> <li>• Riego por goteo.</li> <li>• Si tiene análisis físicos y químicos de su suelo, conoce la textura y materia orgánica de su suelo.</li> <li>• Usa información proveniente de asesores independientes, investigadores, universidad, asiste a seminarios y utiliza internet varias veces por semana para buscar en Google principalmente a través de su Smartphone.</li> </ul>

La importancia de las encuestas fue que permitieron realizar un diagnóstico transversal de cada zona productiva del nogal a partir de diferentes preguntas enfocadas en sus características socio-económicas, características del huerto, problemas fitosanitarios, manejos productivos y uso de redes de información agrícola. A continuación, se detalla la caracterización de los huertos de nogal en las distintas zonas productivas (Cuadro 22).

**Cuadro 22.** caracterización de los huertos de nogal en las distintas zonas productivas

<b>Región de Coquimbo</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los marcos de plantación van entre los 8 y 6 m de distancia, tanto en la entre hilera como la sobre hilera.</li> <li>• Todos utilizan portainjerto franco (<i>J.regia</i>) y la gran mayoría han plantado la variedad Serr (85% aproximadamente).</li> <li>• El 100% de los encuestados utiliza riego por goteo.</li> <li>• Cerca del 62% utiliza camellones que van desde los 50 cm hasta los 120 cm.</li> <li>• El 77% no sabe cuál es el pH del suelo, y el 85% no conoce cuál es su porcentaje de materia orgánica.</li> <li>• La gran mayoría de los huertos se encuentran sobre suelos franco arcilloso.</li> </ul>
<b>Región de Valparaíso</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los marcos de plantación van entre los 7 y 5 m de distancia tanto en la entre hilera como la sobre hilera.</li> <li>• Todos utilizan portainjerto franco (<i>J.regia</i>) y el 66,7% han plantado la variedad Chandler.</li> <li>• El 60% utiliza riego por goteo y el resto por microaspersión y por tendido.</li> <li>• El 80% no utiliza camellones.</li> <li>• El 60% no sabe cuál es el pH del suelo, y el 60% no sabe el % de materia orgánica.</li> <li>• La gran mayoría de los huertos se encuentran sobre suelos franco arenoso.</li> </ul>

<b>Región Metropolitana</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los marcos de plantación van entre los 8 y 5 m de distancia tanto en la entre hilera como la sobre hilera.</li> <li>• El 88,5% utiliza portainjerto franco (<i>J.regia</i>) y el 92,3% han plantado la variedad Chandler.</li> <li>• El 73,1% utiliza riego por goteo, el resto riega a través de microaspersores.</li> <li>• Cerca del 85% no utiliza camellones.</li> <li>• El 85% sabe cuál es el pH del suelo, de estos, el 64% indica que su pH es Neutro (6,6 a 7,3), y el 81% sabe el % de materia orgánica (que van entre los 0,83 a 5%).</li> <li>• La gran mayoría de los huertos se encuentran sobre suelos franco arenosos.</li> </ul>
<b>Región de O'Higgins</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los marcos de plantación van entre los 8 y 5 m de distancia, tanto en entre hilera como la sobre hilera.</li> <li>• La mayoría (90,1%) utiliza portainjerto franco (<i>J.regia</i>), el 82% posee Chandler.</li> <li>• El 90,1% de los encuestados utiliza riego por goteo.</li> <li>• Cerca del 82% no utiliza camellones.</li> <li>• El 82% sabe cuál es el pH del suelo, de ellos el 56% indica que es ácido (5,6 a 6,5) y 44% indica que es neutro (6,6 a 7,3), y el 64% sabe el % de materia orgánica (valores que van entre los 0,87 y 4%).</li> <li>• La gran mayoría de los huertos se encuentran sobre suelos franco arcilloso.</li> </ul>
<b>Región del Maule</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los marcos de plantación van entre los 7 y 4 m de distancia, tanto en entre hilera como la sobre hilera.</li> <li>• Los marcos de plantación van entre los 7 y 4 m de distancia tanto en la entre hilera como la sobre hilera.</li> <li>• Todos utilizan portainjerto franco (<i>J.regia</i>) y un 94% la variedad Chanlder.</li> <li>• El 62,5% de los encuestados utiliza riego por microaspersión.</li> <li>• El 62,5% no utiliza camellones.</li> <li>• El 62,5% sabe cuál es el pH del suelo, de éstos, el 40% es ácido (5,6 a 6,5), un 40% es neutro (6,6 a 7,3). El 50% sabe el % de materia orgánica (entre 0,5 y 8%).</li> <li>• Hay una gran variedad de suelos (trumao, franco arcilloso, franco arenosos, arcillosos y arenosos).</li> </ul>
<b>Región del Bío Bío</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los marcos de plantación van entre los 8 y 5 m de distancia, tanto en entre hilera como la sobre hilera.</li> <li>• Todos utilizan portainjerto franco (<i>J.regia</i>) y el 97% la variedad Chandler.</li> <li>• El 63,3% de los encuestados utiliza riego por microaspersión, el resto utiliza riego por goteo, tendido y surcos.</li> <li>• Cerca del 63% no utiliza camellones.</li> <li>• El 50% conoce el pH del suelo (la mayoría ácido de 5,6 a 6,5), y el 53,3% sabe el % de materia orgánica (de 0,8 a 11%).</li> <li>• El 73,3% sabe qué tipo de suelo, los cuales son principalmente franco a francos arenosos.</li> </ul>

De la misma manera se caracterizaron las zonas productivas en cuanto a los manejos que se realizaban (Cuadro 23).

**Cuadro 23.** Caracterización de los manejos que realizan en las distintas zonas productivas.

<b>Región de Coquimbo</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• El 69,2% de los productores no conoce la dosis de nitrógeno (N) que aplicaban en sus huertos El resto aplica en promedio 215 unidades/hectárea por temporada y utilizaban el fertilizante Ultrasol® (nitrato de amonio).</li><li>• Solo el 54% de los productores utiliza instrumentos de evaluación de riego, principalmente calicatas y en casos específicos las estaciones meteorológicas y tensiómetros. El 77% no mide la conductividad eléctrica del agua.</li><li>• El 54% de los productores realizó un subsolado pre-plantación, los cuales en su mayoría utilizaron arado subsolador y menor frecuencia la retroexcavadora y Bulldozer, la profundidad varía entre los 30 cm hasta los 100 cm.</li><li>• El 84,6% no realiza análisis químico de suelo y un 92,3% no realiza análisis físico de suelo. El 54% de los productores aplica materia orgánica.</li></ul>
<b>Región de Valparaíso</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• El 69,2% de los productores no conoce la dosis de nitrógeno (N) que aplicaban en sus huertos El resto aplica en promedio 215 unidades/hectárea por temporada y utilizaban el fertilizante Ultrasol® (nitrato de amonio).</li><li>• Solo el 54% de los productores utiliza instrumentos de evaluación de riego, principalmente calicatas y en casos específicos las estaciones meteorológicas y tensiómetros. El 77% no mide la conductividad eléctrica del agua.</li><li>• El 54% de los productores realizó un subsolado pre-plantación, los cuales en su mayoría utilizaron arado subsolador y menor frecuencia la retroexcavadora y Bulldozer, la profundidad varía entre los 30 cm hasta los 100 cm.</li><li>• El 84,6% no realiza análisis químico de suelo y un 92,3% no realiza análisis físico de suelo. El 54% de los productores aplica materia orgánica.</li></ul>
<b>Región Metropolitana</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• El 69,2% de los productores no conoce la dosis de nitrógeno (N) que aplicaban en sus huertos El resto aplica en promedio 215 unidades/hectárea por temporada y utilizaban el fertilizante Ultrasol® (nitrato de amonio).</li><li>• Solo el 54% de los productores utiliza instrumentos de evaluación de riego, principalmente calicatas y en casos específicos las estaciones meteorológicas y tensiómetros. El 77% no mide la conductividad eléctrica del agua.</li><li>• El 54% de los productores realizó un subsolado pre-plantación, los cuales en su mayoría utilizaron arado subsolador y menor frecuencia la retroexcavadora y Bulldozer, la profundidad varía entre los 30 cm hasta los 100 cm.</li><li>• El 84,6% no realiza análisis químico de suelo y un 92,3% no realiza análisis físico de suelo. El 54% de los productores aplica materia orgánica.</li></ul>
<b>Región de O'Higgins</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Todos tienen conocimiento de la dosis de nitrógeno aplicada (entre 115 y 350 unidades/hectárea) y aplicaban principalmente urea y nitrato de amonio.</li><li>• Todos utilizan instrumentos de evaluación de riego, principalmente calicatas, seguido por sensores de humedad, estación meteorológica, caudalímetro y bomba de presión. El 72,7% mide la conductividad eléctrica del agua (que va entre 0,4 y 0,7 ds/m)</li></ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>• El 54,5% de los productores realizó un subsolado pre-plantación utilizando Bulldozer y retroexcavadora, la profundidad varía entre los 70 cm hasta los 120 cm.</li> <li>• El 81,8% realiza análisis químico y físico del suelo. El 54,5% de los productores aplica materia orgánica.</li> </ul>
<b>Región del Maule</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• El 81,5% sabe la dosis de nitrógeno aplica en campo, la cual ronda entre las 55 y 277,5 unidades/hectárea, principalmente utilizan urea y nitrato de potasio.</li> <li>• Todos utilizan instrumentos de evaluación de riego, principalmente calicatas, sensores de humedad y estación meteorológica, secundariamente bomba de presión y tensiómetro. El 75% no mide la conductividad eléctrica del agua.</li> <li>• El 80% de los productores realizó un subsolado pre-plantación utilizando principalmente Bulldozer y secundariamente arado subsolador y retro excavadora, la profundidad varía entre los 50 cm hasta los 150 cm.</li> <li>• El 81,5% realiza análisis químico de suelo y el 75% hizo análisis físico del suelo. El 62,5% de los productores aplica materia orgánica.</li> </ul>
<b>Región del Bio Bío</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solo el 53,3% sabe la dosis de nitrógeno aplicada en campo, la cual ronda entre las 100 y 152 unidades/hectárea, principalmente utilizan urea y diversos nitratos.</li> <li>• El 63,3% de los productores utilizan instrumentos de evaluación de riego, principalmente calicatas y secundariamente sensores de humedad y estación meteorológica. El 63,3% no mide la conductividad eléctrica del agua.</li> <li>• El 70% de los productores realizó un subsolado pre-plantación utilizando variados tipos de maquinaria, la profundidad varía entre los 60 cm hasta los 100 cm.</li> <li>• El 76,6% realiza análisis químico de suelo y el 60% hizo análisis físico del suelo. El 70% de los productores no aplica materia orgánica.</li> </ul>

En cuanto a los manejos productivos y uso de redes de información agrícola se determinó que para ambos grupos las herramientas de la información más importantes fueron las siguientes:

- Google/no páginas web.
- Revistas: Red Agrícola y Del Campo (aprox 50% de productores).
- Libro: El Nogal de Gamalier Lemus.

Cabe mencionar que uno de los puntos importantes que se detectó fue que prácticamente no existe traspaso de comunicación entre productores. De hecho, para ambos grupos las fuentes de información más influyentes fueron los asesores independientes. Sorprendentemente, para el grupo 1 los extensionistas gubernamentales (tipo INDAP/INIA) también fueron significativamente importantes. La muy baja comunicación horizontal hizo sugerir el método TOT: "Training of Trainers". Este método hace referencia a que la extensión por parte de los investigadores debe ser hacia los asesores y extensionistas (INIA/INDAP).

## **Anexo 10: Talleres de transferencia y seminario final**

### **Taller 1 (Illapel, 6 noviembre de 2018)**

El primer taller se enfocó en pequeños y medianos productores de nogal, en donde asistieron asesores públicos y privados, los cuales participaron activamente durante la presentación. Esta presentación fue realizada por la directora del proyecto, Dra. Ximena Besoain en la localidad de Illapel el día martes 6 de noviembre de 2018. Durante aquella instancia, asistieron alrededor de 88 personas, no obstante, 19 personas correspondieron a profesionales que realizan apoyo técnico a productores de nogal. El objetivo principal de este primer taller fue demostrar y entregar la información obtenida durante el desarrollo del proyecto, resolver dudas de los asistentes, entablar un dialogo sólido con los asesores, como también ver el comportamiento de la audiencia a lo largo de la presentación.

En base a este primer taller, se realizaron mejoras importantes en la presentación de los módulos de capacitación, el cual se enfocaron principalmente en los resultados obtenidos a partir de los ensayos realizados en el proyecto y formar instancias durante la presentación para generar un dialogo constante entre nosotros, los asesores y los productores.

### **Taller 2 (Quillota, 7 de marzo de 2019)**

Durante el taller se destacó que los productores son individualistas y herméticos, de hecho, si algún manejo o estrategia les resulta efectiva no tienen la capacidad de compartir la información. Dentro de las características que presentan algunos huertos mencionados en el taller se mencionó que no se hacían buenas preparaciones de suelo, son huertos de mayor edad, se tenía un bajo nivel tecnológico y se usaba goteros de 2 L/h y que los riegos por pulsos mataron un montón de paltos. Finamente, estos huertos que fueron arrancados y remplazados por nogales. Por otra parte, la incidencia de huertos más jóvenes se debe a malas preparaciones de suelo y mala elección de la planta. Por todo lo anteriormente expuesto, se enfatiza en la importancia de evitar un cambio de cultivo utilizando cultivos susceptibles.

Una buena preparación de suelo significaría romper las capas compactadas existentes, usar bulldozer, preparar un buen camellón. Evitar comparación de suelo utilizando ácido sulfúrico (trióxido de azufre), luego materia orgánica para mejorar la calidad del suelo, esto ayudó romper la estructura compactada y de esta manera mejorar la infiltración y evitar la asfixia. Se intentó mejorar el riego cambiando de micro aspersor a gotero, también existe contaminación por agua de riego, porque se recibía agua de rebalse, porque regaban y luego “botaban” el agua al canal y de esta manera otro campo usaba esta agua contaminada, la solución fue utilizar agua de pozo, aplicaciones potentes de 3-4 ingredientes activos contra *Phytophthora*.

En el taller se enfatizó que los manejos para un huerto de pequeña superficie o gran superficie son iguales. Sin embargo, en términos de tecnología, se debe pensar si esto realmente sirve o es bien utilizado por el agricultor. A veces un huerto grande es más difícil de manejar que un huerto pequeño, quizás en un grande se tiene mayor tecnología, pero es menor homogéneo y por lo tanto más difícil de manejar. En el caso de los huertos intensivos se destacó que existe un denominador común, el cruzamiento de 4 líneas de riego. Por lo mismo, se destacó la importancia de hacer un buen diseño, verificar que no exista un solapamiento de los bulbos de manera que no se esté “regando 2 veces”. Estas líneas debiesen estar correctamente alejadas (por lo menos 1 metro) del tronco.

En cuanto a la fertilización de los huertos, los asesores destacaron que se fertilizaba en exceso, llegando a 4% de N. Sin embargo, estos huertos no necesariamente son los mejores, por lo tanto, la fertilización debe ir en base a la extracción del árbol y también considerar el aporte del suelo en el caso de que estos sean ricos en materia orgánica. Muchos productores fertilizan todos los frutales por igual, no hacen diferencia entre frutos contenidos por aceites o principalmente azúcares, es necesario que hagan una mayor cantidad de análisis.

En cuanto al control químico, algunos asesores destacaron que Ridomil es una buena opción, pero el precio es bastante alto.

Finalmente, respecto al uso de portainjertos clonales, se destacó que Vlach ha demostrado que al inicio tienen un crecimiento lento, pero luego crecen en poco tiempo. De todos modos, las dudas de los asesores radican en si realmente las características genéticas de los portainjertos clonales afectan la calidad de la fruta.

### **Taller 3 (Quillota, 7 de marzo de 2019)**

Respecto a la transferencia horizontal, los asesores mencionan que el Grupo GTT antiguamente la intentaron mejorar. Sin embargo, a la gente sólo le interesa saber cuánto le paga al cosechero. Asesores coincidieron en la importancia que tiene la transferencia horizontal y también en lo obtenido en las encuestas respecto a las características de cada grupo. En el taller se destacó la experiencia que se ha vivido en la Provincia de Choapa, en donde se ha presentado muerte súbita de un momento a otro. De hecho, en un periodo de 2 semanas las plantas morían, sin presencia de cancro. Los asesores expresaron dudas y preocupación respecto a esta situación. Según la experiencia, el cancro es más bien eventual. Sin embargo, se ha visto crancos muy severos hasta en las primeras ramas principales. Los asesores explican que el efecto de *Phytophthora* sobre Serr es mayor en comparación a Chandler.

Problemas con *Phytophthora* podrían ser mayores cuando los suelos tienen estratas muy marcadas a diferencia de ser homogéneo (“un queque”), ya que se pueden presentar estratas más compactadas o arcillosas en mayor profundidad.

En cuanto al uso de portainjertos clonales, un asesor expuso la duda sobre las ventajas que estos presentan. El asesor indicó que quizás es problemático tener clones a diferencia de utilizar *Juglans regia*, ya que, si son clones y uno se ve afectado, todo se afectarían igualmente afectados.

#### **Taller 4 (Santiago, 28 de junio de 2019)**

Francisco Olivares mencionó que ha presenciado huertos con problemas de manejo de riego con pérdidas del 30% y 40% sobre todo cuando son suelos con mucha arcilla, riegos muy largos o a pulso, etc.

Paulina Sepúlveda enfatiza en la importancia de enseñar a reconocer síntomas de la enfermedad a los productores. Además, comenta que los productores por lo general, sólo comparten las malas experiencias y que a ella le ha tocado presenciar huertos de paltos en la región Metropolitana que fueron reemplazados por nogales y actualmente están fuertemente afectados por *Phytophthora*.

Los productores no se traspasan información sobre manejos que han resultado positivo, les cuesta admitir que tienen un problema, incluso Javier San Martín indica que antes de publicar las encuestas de severidad e incidencia de *Phytophthora* hecha por nosotros, todos los productores decían “No, yo no tengo *Phytophthora*” a pesar de que las plantas se estén muriendo. El productor expuso el caso de un huerto en Pirque con suelo franco arcilloso y riego por goteo (15 ha) en donde fumigaron el suelo con Trical (Cloropicrina), antes de las aplicaciones del producto además se tuvo por dos años avena. Lo anterior les permitió andar muy bien, ya que al cuarto año las raíces comenzaron a explorar. Asesor Cristian Muñoz indicó que hay poca información que les entregan a los asesores de Prodesal y que los resultados de las encuestas coinciden exactamente con la descripción de los productores pequeños. Además, agrega que como Prodesal muchas veces antes de comenzar a instaurar estrategias para prevenir, el problema de *Phytophthora* es muy grande.

Javier San Martín añade que es importante y bueno que los asesores jóvenes están tomando protagonismo. El asesor menciona además que antes la recomendación para enfrentar un cancro era agregar cobre y nada más, después era aplicar Aliette® en octubre. Esto último no estaría bien, principalmente porque se necesita de movimiento de raíces.

Paulina Sepúlveda enfatizó en que el agricultor tiene un grave problema, que no entiende a los patógenos del suelo, porque no los ve como pasa con la botritis y oídio, entonces en este caso los patógenos del suelo o virus como no lo ven, no entienden la gravedad del problema. La asesora menciona que será de vital importancia que el manual explique cómo identificar *Phytophthora*. A esto también agregó que es posible fumigar con Trichoderma y que este actué como tratamiento preventivo a *Phytophthora*. Ella fue testigo que en un huerto de Salamanca dieron la indicación de aplicar

Trichoderma y saturar por 24 horas, lo cual es gravísimo considerando la importancia de la saturación en la proliferación de la enfermedad.

Asesor de Francisco Olivares comentó que pintó con parafina el tronco y controló *Phytophthora* (en curaciones), él también indica que el uso de bomba de scholander al medir la deshidratación de la hoja y no el consumo de la planta, pero no te permite adecuar el riego. A lo anterior añade que ha usado un producto orgánico en base a ácidos húmicos y fúlvicos, los cuales flocculan mejor el suelo y con esto drena muy bien.

### **Taller 5 (Santiago, 28 de junio de 2019)**

Luis indica que del año 8 a 9 ha sido crítico el daño generado por *Phytophthora* y que incluso el comportamiento en la zona norte (Salamanca-Illapel) varía en estas dos zonas.

Paradox (padre nogal inglés y madre nogal negro) de semilla

Huertos de paltos son arrancados y luego la gente plantas de nogal, equivocadamente piensan que el comportamiento negativo de las plantas se debe a alelopatía, pero se debe a *Phytophthora*. La mejor alternativa para el momento lo mejor es comprar Vlach (por precio \$8.000 + IVA) en cambio un RX1 (\$15.000 + US2 de royalty) por lo tanto es inviable para un productor.

El asesor mencionó que él si hace transferencia horizontal. Han existido veces que productores le mencionan que dejan de regar y el problema por *Phytophthora* aumenta desmedidamente. En caso que la planta sea afectada en noviembre, puede expresar síntomas rápidamente, de hecho, las expresiones de daños se ven principalmente entre octubre y diciembre, en el peak radicular.

En cuanto al riego y su influencia con la enfermedad, el asesor mencionó que, en el norte, en la provincia del Choapa el riego se sobreestimaba, de hecho, muchas veces le tocó recibir pega mal realizada. En este contexto, según el autor, los portainjertos clonales son buenos porque no bajan de los 40 cm. A partir de lo anterior, el asesor fundamenta que en invierno se debiese regar una vez al mes y que el último riego debiese ser en el mes de agosto. Respecto a ciertas consideraciones que se debiesen tener en el huerto, Luis enfatizó la importancia que tiene los camellones y junto a Marcela comentan la posibilidad de regar durante las noches.

Sobre el tema de fertilización, Luis explicó que en Choapa el amonio es un punto a considerar, principalmente por el aumento en la salinidad de suelo. Por otra parte, en el uso de portainjertos menciona que Serr sobre RX1 daría muy buenos resultados, porque alcanza menos vigor. En caso de utilizar Vlach no lo asusta porque aplica reguladores cada tres años. Finalmente, previo a realizar cualquier replante el asesor recomienda desinfectar el suelo con cloropicrina más nematicida, para lo cual se requiere una buena preparación de suelo.

En relación a los resultados, los asesores asistentes indicaron que los talleres lograron en su totalidad todos los ámbitos propuestos (Organización y ejecución del taller, comprensión del tema impartido y conocimientos adquiridos). No obstante, se destacaron las siguientes observaciones:

1. Mencionaron la posibilidad de dedicar mayor tiempo a ciertas temáticas, ya que surgen diferentes opiniones y visiones de los asesores.
2. Recomendaron en un 100% este taller
3. Solicitaron mostrar información e investigación de huertos de nogal establecidos

#### **Taller 6 (Quillota, 5 septiembre de 2019)**

Respecto a la transferencia tecnológica, Carolina Torres explicó que existe una tendencia a imitar al vecino, pero no existe transferencia horizontal.

Respecto al manejo de nutrición, Fabián aclaró que no es común que las plantas estén en un buen nivel nutricional. Por lo general un buen estado nutricional se asocia a altos contenidos de nitrógeno. Fabián insiste en que el productor asocia al nitrógeno con altos rendimientos.

En cuanto al uso de portainjertos clonales en replantes, Fabián aconsejó que se utilizara otro hoyo de plantación y distinto marco de plantación. Además, menciona que el replante con clonales requiere paciencia, desde que el vivero se demora al menos un año en entregar las plantas hasta la gran cantidad de manejos que se requiere para no volver a tener plantas atacadas por la enfermedad.

Durante la exposición surgió una duda, ¿*Phytophthora* podría estar a los 80 cm? A lo cual la profesora Ximena contestó que con el uso de *J. regia* se buscaba profundizar, pero esa no es la idea y actualmente se buscaría un crecimiento mayormente horizontal. A esto Fabián añadió que en un suelo franco arcilloso el grueso de la infección se ha visto a los 50 cm.

#### *Resultados encuestas de evaluación*

Los asesores asistentes indicaron que el taller logró en su totalidad todos los ámbitos propuestos (Organización y ejecución del taller, comprensión del tema impartido y conocimientos adquiridos). Por lo mismo recomendaron en un 100% este taller y enfatizaron en la importancia de transferir la información a la mayor cantidad de productores y asesores posibles.

#### **Seminario de cierre (Quillota, 11 de marzo de 2020)**

Se hizo una invitación abierta al seminario de cierre del proyecto (Figura 16) el cual se realizó en la Aula Mayor de la Escuela de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. El objetivo principal de este seminario fue presentar los principales resultados de proyecto a todas las

personas ligadas al mundo del nogal y además hacer entrega de los manuales técnicos y folletos generados.



**Figura 26.** Invitación seminario de cierre de proyecto.

Los temas abarcados durante el seminario se presentan en el programa (Figura 27), en donde se destacó la importante participación de Gamalier Lemus, investigador de INIA Rayentué.

**SEMINARIO DE CIERRE**  
**Manejo integrado para el control de especies de *Phytophthora* que afectan al nogal en Chile**

Horario	Expositor	Tema
<b>9:30 a 10:00 hrs</b>	<b>Inscripciones</b>	
<b>10:00 a 10.30 hrs</b>	<b>Palabras de bienvenida</b>	
10:30 a 11:00 hrs	Ximena Besoain, PUCV	Presentación del proyecto <i>Phytophthora</i> en nogal y prospección en Chile Tecnología de transferencia ASISTE
11:00 a 11.30 hrs	Javiera Morales, PUCV	Manejo de la fertilización nitrogenada y riego
11:30 a 12:00 hrs	Laureano Alvarado, PUCV	Barreras químicas y físicas de los portainjertos clonales de nogal contra <i>Phytophthora</i>
<b>12:00 a 12:30 hrs</b>	<b>Coffee Break</b>	
12:30 a 13:00 hrs	Alejandra Larach, PUCV	Uso de productos químicos y biológicos para el control de <i>Phytophthora</i>
13:00 a 13:30 hrs	Gamalier Lemus, INIA	Alternativas de mitigación y control de <i>Phytophthora</i> utilizadas en Chile
<b>13:30 a 14:00</b>	<b>Cóctel y entrega de manuales</b>	

Contamos el apoyo de

11 de marzo de 2020  
Aula Mayor, Escuela de Agronomía  
Facultad de Ciencias Agronómicas y de los Alimentos

**Figura 27.** Programa seminario de cierre

Durante aquella instancia, alrededor de 90 personas asistieron, destacándose la presencia de docentes, investigadores, asesores públicos y privados, entidades gubernamentales, productores, alumnos, profesionales del área de ventas de agroquímicas, entre otros (Figura 28). En el momento de la inscripción se entregó el folleto sobre el Manejo integrado de especies de *Phytophthora* que afectan al nogal en Chile.



**Figura 28.** Asistentes al seminario de cierre.

El seminario comenzó con las cordiales palabras de bienvenida del Decano de la Facultad de Ciencias Agrómicas y de los Alimentos, Juan Eugenio Álvaro Martínez-Carrasco; de la Representante Macrozonal Valparaíso y Metropolitana de FIA, Carolina Fuentes; de la Coordinadora del proyecto y Gerente General de Chilenut AG, Jessica Millar; del Director Regional de INIA La Cruz, Patricio Fuenzalida.

Posteriormente, la Coordinadora Alterna del proyecto, Ximena Besoain, presentó al equipo técnico, los aspectos generales del proyecto y los resultados asociados a la prospección de *Phytophthora* en Chile y la tecnología de transferencia ASISTE (Figura 29).



**Figura 29.** Ximena Besoain, Coordinadora Alterna, presentando principales aspectos del proyecto.

Luego se prosiguió con el resto de presentaciones (Ver Adjunto 5), las cuales generaron un grato ambiente de interés por parte de los asistentes, con un gran número de consultas, aportes significativos y felicitaciones hacia los profesionales de apoyo y técnicos del proyecto. Al finalizar el seminario se hizo entrega del manual técnico a cada uno de los asistentes.

#### **Anexo 11: Difusión**

- 1.- En el mes de marzo se publicó la revista Chilenut número 4 correspondientes al periodo de noviembre 2016 a marzo 2017. Se adjunta ejemplar.
- 2.- En el mes de abril 2017, se publicó un reportaje titulado “Sustento científico en la lucha contra *Phytophthora* en nogal”, en la revista nacional Red Agrícola. Este reportaje corresponde a una entrevista realizada a los investigadores Ximena Besoain y Sebastián Súa, ambos participantes del proyecto PYT-2016-0065 (Figura 30).

Problema se encuentra presente en más del 90% de los huertos

# SUSTENTO CIENTÍFICO EN LA LUCHA CONTRA PHYTOPHTHORA EN NOGAL

Un diagnóstico permitió conocer las dimensiones del problema de esta enfermedad en Chile. La mala noticia: se encuentra presente desde Coquimbo al Biobío y se estima sobre bases objetivas que las pérdidas llegan del 8 al 10% del rendimiento nacional. La buena noticia: se está llevando a cabo un proceso sistemático de investigación acerca de las herramientas para el manejo integrado que se transferirá a los productores en los próximos años.



Ximena Becerra, coordinadora del proyecto en nogal.

La Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV) asumió la investigación técnica de un proyecto ISA ejecutado por ChileNuz para determinar la incidencia y daño de especies de *Phytophthora* asociadas al declivimiento en árboles de nogal (*Juglans nigra* L.) en la zona central de Chile. Los resultados muestran la presencia de dos es-

pecies patógenas para el nogal, *Phytophthora cinnamomi* y *P. citrophthora*, confirmando con pruebas moleculares los hallazgos del fitopatólogo Laureano Guedes en la década de los 70. Sin embargo, ese estudio original solo se localizó en el valle de Aconcagua. El proyecto, en el cual se muestrearon 49 huertos, entregó la información de que ambas especies (de acción muy parecida) están en todas las regiones de producción del nogal, desde Coquimbo a Biobío. El 90% de los huertos muestreados tenía una de las dos especies de *Phytophthora* indicadas, o ambas.

#### REPORTES INMEDIOS DE CONFIRMADOS:

##### NO SE ENCONTRÓ PHYTOPHTHORA CACTORUM

Uno de los datos relevantes observados es la predominancia de *P. cinnamomi* en la mayoría de los predios. Otro aspecto destacado es que, luego de una búsqueda exhaustiva, no se detectó *P. cactorum*. Algunos especialistas la consideran presente en nogales pero se encuentra reportado así a nivel mundial y en Chile se habla en otras especies; ornamentales, por ejemplo. La Dra. Ximena Becerra, fitopatóloga de la PUCV, indica:

XII: Se hablaba de *P. cactorum* en nogal cuando todavía no se contaba con el respaldo de las técnicas moleculares, al ver canchales tal vez se confundió con una especie de otro género.

En el muestreo de la PUCV también un hecho afectado pues que el huerto quedaba marcado con presencia de la enfermedad, de manera que el mencionado 90% de predios con *Phytophthora* no significa que sea mismo porcentaje de plantas entre enfermas. De hecho, la prevalencia alcanza una media de 15,7% de los árboles. En las regiones más afectadas, O'Higgins y Valparaíso, la cifra llega a 18,4 y 20,4%, respectivamente. La edad promedio de los huertos estudiados es de 7,8 años. No existió correlación entre la edad y la incidencia de la enfermedad.

#### LOS CANCHOS SON UN INDICIO DE LA ENFERMEDAD EN ETAPA TERMINAL

Ximena Becerra advierte que tanto *P. cinnamomi* como *P. citrophthora* ingresan por las raíces y desde allí avanzan hacia arriba. Los síntomas corresponden a declivimiento, clorosis, caída

de hojas, erosión en la brotación, y en algunos casos se observa presencia de cancheros de color café en el cuello del tronco. Cuando aparece esta última manifestación, ya casi se trata de una enfermedad terminal y puede ser demarcado todo para intervenir. En ocasiones el canchero se firma internamente, no resulta visible, de modo que el daño podría ser mucho más severidad de lo apreciable. Por lo tanto, se resalta la importancia de una descripción temprana, siendo proactiva, no reactiva. Conviene hacer reconocimientos a las raíces antes de llegar a situaciones como las indicadas, y observar con mucha atención al aparecer padecimientos en las raíces finas o filamentosas. Asimismo, en caso de duda, un análisis de esas raíces constituye un aporte. Para detectar la enfermedad la búsqueda no se hace al azar, sino que se dirige a las secciones del predio que presentan mayor riesgo, descritas más adelante en el presente artículo.

Es difícil que un suelo esté libre de *P. cinnamomi*, comenta la Dra. Becerra, porque se trata de un hongo muy polibio, que puede afectar a más de mil especies vegetales a nivel mundial. Por otra parte, agrega, muchas de las plantaciones de nogal se han hecho luego de pello, de gran susceptibilidad al patógeno, al igual que el arándano.

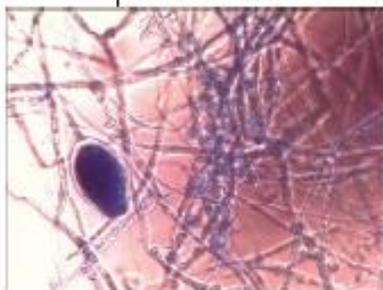
XIII: El agricultor debe entender que es un problema lento, el peligro está siempre y, de acuerdo a lo que hemos observado en terreno, constituye el principal problema fitopatólogico del nogal si lo vemos transversalmente (porque en el sur también se habla la peste negra). Su aumento o disminución dependerá del manejo. Puede estar a un nivel indetectable, por ejemplo 100 unidades/gramo de suelo. Con eso probablemente los otros microorganismos mantienen a raya la *Phytophthora*. El problema es cuando se disparan a 10.000 unidades (zoosporas o fragmentos de micelio que pueden crear una infección). Ese es el desbalance que buscamos evitar.

Mientras más joven la planta atacada, más severo el daño. Los primeros dos temporadas son críticas, agrega la especialista.

Una general la *Phytophthora* se presenta localizada en algunos árboles?



*Phytophthora* en canchero (foto con cubo) (1) e imagen de esporangio (2) obtenida a partir de hongo de canchero en nogal (C. Becerra).



XII: Depende. Por ejemplo, cuando se trata de replante y el cultivo puesto era susceptible a *F. citricarpa* (nopal, palto u otro) el problema puede darse en forma generalizada. Ahí queda mucho inicial y como se hace un muestreo del suelo, al final se homogeniza mucho y se distribuyen los patógenos. Pero en otros casos se presenta focalizado.

#### LA MAYOR UTILIDAD DEL CONTROL QUÍMICO ES CON ÁRBOLES JÓVENES

El Dr. Sebastián Sáa, de la PUCV es el director técnico del proyecto "Manejo integrado para el control de especies de *Phytophthora* que afectan al nopal en Chile" (2016-2020), continuación del anterior, también ejecutado por ChileNita. El investigador subraya la importancia de saber qué tipos de *Phytophthora* estaban causando los problemas, de manera de poder diseñar las herramientas técnicas para combatirlos a través del manejo integrado, que es el objetivo del segundo proyecto luego del diagnóstico realizado por el primero.

En las primeras temporadas de crecimiento de los árboles, el control químico puede ser decisivo. La mayoría de los productos se aplican al suelo, aunque los hay también que se pueden aplicar al follaje, como los fungicidas (denominados también como fusticidas).

Sin embargo, la tendencia a priorizar el con-

trol químico puede emborronarse con el largo plazo. En Europa el uso de fungicidas está siendo regulado en el sentido de restringir los límites máximos de residuos, informa Sáa.

De ahí que su uso se concentre en plantas jóvenes, porque todavía no están produciendo frutos, en la cual se detectan los residuos.

XIII: Ahí es cuando se juega la vida del árbol. Después a lo mejor pueden hacer tratamientos químicos focalizados a algunos árboles y a lo mejor esos los escogen de la exportación, los mueren para no cosecharlos.

Para el desarrollo del proyecto se solicitó a las empresas de fitosanitarios que facilitaran sus productos para evaluación. Se están probando cinco de ellos para ampliar el espectro de alternativas más allá del autorizado y hoy en día considerado fusticid estandarizado.

#### MANGO O LA FERTILIZACIÓN

La fertilización nitrogenada podría potenciar la enfermedad o reducirla, dependiendo de las dosis utilizadas. Actualmente se están evaluando distintas tasas de aplicación y también las formulaciones usadas. La idea es que la planta se nutra adecuadamente con nitrógeno (N).

¿La *Phytophthora* se ve favorecida por deficiencia de N o por exceso?

Sebastián Sáa (SS): No exactamente la duda que queremos responder. Creemos que hay un



punto de equilibrio: si muy poco, porque la planta se debilita y probablemente no pueda resistir la enfermedad, ni un exceso, que podría generar una planta más suculenta cuyos nutrientes se oxiden a otro sistema metabólico en vez de las defensas secundarias, por ejemplo, y en consecuencia sería más susceptible. El punto medio quizás genere un crecimiento y también defensas.

Respecto de los fertilizantes nitrogenados, "tenemos preguntándole cosas a la *Phytophthora*", revela Sáa, "qué hacen la goma más, por decirlo de alguna forma". *F. citricarpa* y *F. citrophthora* necesitan nitrógeno para obtener sus proteínas, y se estudia si algunas formulaciones suplen sus necesidades, mientras otras pueden resultar perjudiciales.

Sebastián Sáa junto a Juan Pablo Guajardo, coordinador del Laboratorio de Fisiología de la PUCV, quien ha liderado el diagnóstico de *Phytophthora* por su tesis en nopalera en Chile.

**AGRUAD EDIFICIOS**

Los doctores **Ximena Ibañez** y **Sebastián Sáiz** agrobiólogos de Chile. RA y a sus equipos de trabajo RUCU por la realización de los proyectos mencionados en el artículo. Especialmente se reconoce al equipo de **Desarrollo Científico, Desarrollo Humano y Desarrollo Urbano**, alumnos de Registro RUCU por su constante dedicación y esfuerzo en esta investigación.

**EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DE PORTAJEROS CLONALES EN LAS CONDICIONES DE CHILE**

Actualmente más del 95% de los nogales en Chile se encuentran sobre el patrón Agüero regio, muy susceptible a *Phytophthora*, señala Sáiz. Una parte del boom de plantaciones se situó en zonas con pluviosidad importante en combinación con suelos franco-arcillosos o arcillosos, lo cual, sumado al patrón susceptible, configura un escenario perfecto para que el problema que observamos hoy se mantenga en adelante.

SS: Me ha tocado ver huertos en suelos muy pesados, donde tal vez no se hubieran establecido nogales si no fuera por la lotería de los precios que se podía observar.

SS: Me ha tocado ver huertos en suelos muy pesados, donde tal vez no se hubieran establecido nogales si no fuera por la lotería de los precios que se podía observar. Uno de los atractivos de los nuevos portajereros clonales de Brasil es que se están introduciendo a Chile, principalmente Vici, RCI y VCI11 (los dos últimos sujetos al pago de derechos por su uso), es la promesa de convertirse en una gran solución para ayudarnos a combatir mejor con *Phytophthora*. Ya sabemos que las especies de este hongo que nos afectan son las mismas que están en Brasil, conexas al acclimático, pero habrá que ver si la tolerancia o resistencia a la enfermedad se manifiesta del mismo modo en las condiciones de nuestro país. Las pruebas en que se inoculan los portajereros clonales con las cepas chilenas se iniciaron en septiembre, y los resultados darán un repaso a la toma de decisiones.

Los portajereros clonales dan un mayor vigor y desarrollo a las plantas de nogal, lo que les permite enfrentar mejor el ataque de *Phytophthora*, pero se desconoce hasta qué punto además aportan otros mecanismos de defensa. Los investigadores esperan hacer un avance también en la información generada al respecto.

Sebastián Sáiz y Ximena Ibañez recomiendan tener en consideración las diferencias existentes al utilizar portajereros clonales, por ejemplo en los métodos de plantación.

SS: No por solucionar una dificultad nos vamos a equivocarnos y meter en otra, como podría ser el emboscamiento producto del mayor crecimiento de la planta. Se precisa de una mirada integral.

XI: Como este problema está a nivel de raíces alimenticias, mientras más juntas se encuentren las plantas en la subterránea, va a haber una mayor conexión de unas con otras y por lo tanto aumenta el riesgo de que se afecte toda la hilera.

SS: La prevención empieza con una planta de buena calidad, más aún si se firma con J. regia:



Patra chilena de *Phytophthora* sp. Foto: Sebastián Sáiz, RA y RUCU.

buenas alturas, buen diámetro de tronco, buenas raíces. Todo parte en el año menos uno.

**EL GRAN AJUADO DE LA PHYTOPHTHORA: SUELO SATURADO EN ERGASO E CALOR**

Respecto de la pluviosidad, la Dra. Ibañez aclara que el tema no son las lluvias concentradas en invierno. La *Phytophthora* se origina cuando el suelo se satura en primavera-verano, pues empieza a ser más agresiva cuando la temperatura del suelo sobrepasa los 20°C.

XII: Por eso el factor agua resulta fundamental. Si uno analiza los problemas antes del riego mecánico, la *Phytophthora* siempre se localiza al final de surco, donde se junta el agua; en cerebillo con los sistemas presurizados, el los rascos tal, va a tener una incidencia generalizada. Entonces buscando definiciones como saber las horas de saturación con las que se genera un problema.

SS: Imagínese un suelo arcilloso en la zona centro-sur con lluvias abundantes en invierno y un par de lluvias en primavera. Si riega por calendario y se mantiene saturado, genera una situación óptima para el avance de la *Phytophthora*.

Tipicamente se desatan sectores con *Phytophthora* donde hay fallas del sistema riego, en bajos o con napas subterráneas superfluas.

¿Cuál es su recomendación? La principal que el equipo funciona bien. Hacer pruebas de agua para saber si las cargas son homogéneas y regular que los coeficientes de variación sean bajos. Dado que muchas plantaciones de nogales se sitúan en laderas, con diferentes niveles, no será malo, posiblemente, chequear si las descargas están siendo homogéneas, si los gomas realmente están liberando los litros/hora requeridos. Este tipo de fallas pueden pagarse como si no se tienen en cuenta, previenen. Desde luego el cultivo requiere de cuatro y cuando regar de acuerdo al tipo de suelo, la evapotranspiración y la demanda del cultivo, constituye un factor vital, pero el cual debe aprovecharse al máximo las tecnologías disponibles.

En suelos pesados la solución probablemente pase por sistemas de drenaje y trabajos de descompactación. Pero también ayuda la incorporación de materia orgánica, que aporta a la estructura y al aumento de microorganismos benéficos que contrarrestan a las especies patológicas de *Phytophthora*.

¿Qué se puede decir sobre el uso de agentes biológicos de control, como *Trichoderma*, o la aplicación de otros microbios en la extra-

regia contra *Phytophthora*?

SS: Hay gente que dice haber tenido buenas experiencias, eso es valioso, y productos con *Trichoderma* fueron certificados por el SAG. Pero cuando uno va un poco más al detalle, en mi experiencia, no he podido encontrar pruebas que den completa garantía a nivel de campo para frutales. Como que falta evidencia de qué tan bueno resulta y si los beneficios superan a los costos. Respecto de los nutrientes, se puede especular; en lo personal, aunque tengo mis hipótesis, no sería responsable de decir que alguna de mis especulaciones va a funcionar, sabiendo el peso de la comprobación.

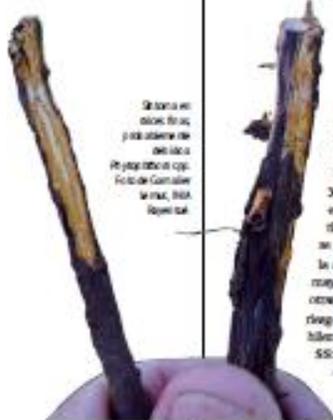
**METODOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE CALIFORNIA PARA TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA**

El proyecto será completado con un programa de transferencia tecnológica que aprovecha el amplio contacto del equipo de Chileña con el granito a través de charlas, workshops y artículos de difusión. Además, incorpora el modelo de extensión agrícola ASSTI, de Bell et al., desarrollado en la Universidad de California, Davis. El modelo busca conectar la transferencia tecnológica basándose en las necesidades del mercado objetivo y responder a sus necesidades de manera confiable, integrada y tangible. ASSTI se lleva a cabo en un proyecto complementario liderado por Elena Pasch-Pflanz.

ASSTI ya se inició con una encuesta a los productores, diferenciando las necesidades de pequeños, medianos y grandes, y también las distintas zonas geográficas. El diagnóstico incluye aspectos técnicos y técnicos e incluye sorcas de las fuentes de información. Sobre dicha base, se preparan "paquetes tecnológicos" adaptados a las realidades de los agricultores y se definen las estrategias de transferencia.

Por ejemplo, si se discute que Facebook es la fuente de información más confiable para un segmento, entonces se hará divulgación a través de ese medio. O si se encuentra que son los asesores, se capacitará a través de ellos. O si muchos recurren a los locales comerciales que distribuyen productos, se podría operar con ellos, como en Ibañez y Sáiz.

Este año se espera comenzar a entregar recomendaciones para el manejo integrado de la enfermedad. Y ya se sabe las macroes que se deben superar, porque los datos generados por los proyectos permitieron entrar con un método objetivo el impacto de *Phytophthora* sobre la industria, el cual se calculó en alrededor de un 8 a 10% de pérdidas en el rendimiento promedio nacional.

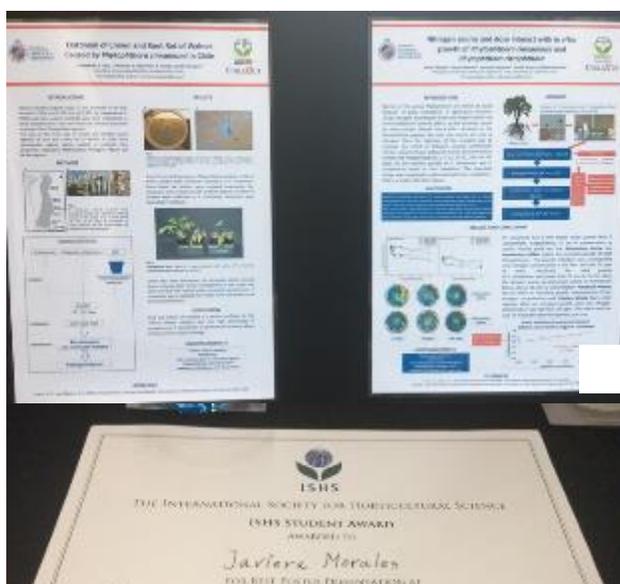


Si bien el ataque de *Phytophthora* sp. puede ser difícil de detectar, el daño a las raíces puede ser evidente.

Figura 30: Reportaje titulado "Sustento científico en la lucha contra *Phytophthora* en nogal", publicado en la revista nacional Red agrícola.

En el mes de octubre de 2017, se presentaron los resultados obtenidos respecto al objetivo esperado 1, en el Congreso de Fitopatología realizado por la Sochifit, APS y ALF en las Termas de Chillán. Durante el congreso se premió a Guajardo *et al.* por la tercera mejor presentación del congreso.

En el mes de noviembre de 2017, se presentaron dos posters en el VIII International Symposium on Walnut Cashew and Pecan. Los posters mostraban los resultados obtenidos en los objetivos esperados 1 y 2, en el caso del OE 2 específicamente se presentaron los resultados del ensayo *in vitro* con distintas fuentes y dosis de nitrógeno. En aquella ocasión el poster realizado por Morales *et al.*, fue premiado como la mejor presentación de poster del congreso (Figura 31).



**Figura 31:** Póster presentados durante el simposio (1) y diploma entregado por la presentación (2).

El 12 de abril de 2018, algunos participantes del equipo del proyecto realizaron una charla a pequeños productores de nogal de la zona de Cuncumén, Región de Coquimbo. Durante aquella instancia, se expusieron 3 posters relacionados con los ensayos de saturación, fertilización nitrogenada y portainjertos clonales (Figura 32). Posterior a la presentación se realizaron rondas de preguntas para que los productores pudiesen resolver dudas. Cabe destacar que el Departamento de Extensión de la Escuela de Agronomía generó una noticia relacionada con esta actividad (Figura 33).

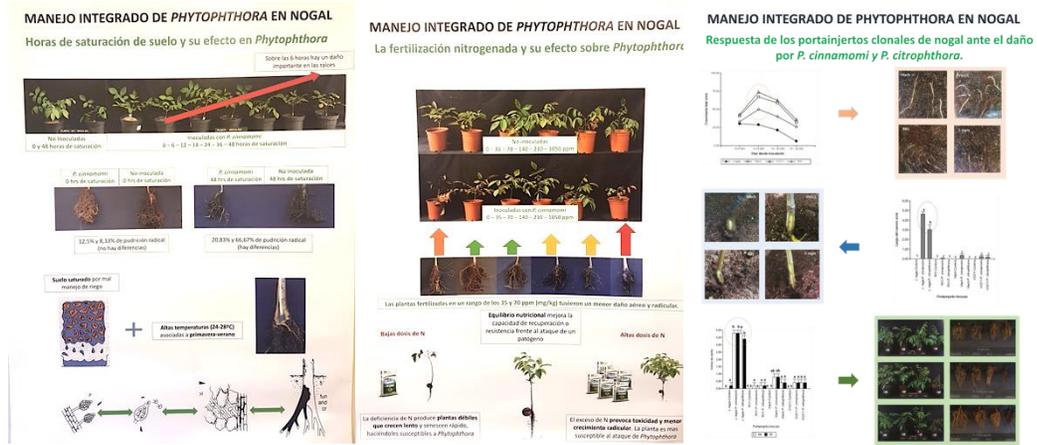


Figura 32. Posters presentados en Cuncumén.



Figura 33. Noticia generada por el Departamento de Extensión de la Escuela de Agronomía PUCV.

El 24 de abril de 2018, la profesora Ximena Besoain, presentó los principales resultados y avances del proyecto en la Exponut 2018 realizada en Casa Piedra, Santiago (ver Figura 34).

Figura 34. Portada de la presentación y presentación de la profesora Ximena Besoain, directora alterna del proyecto.



CHILE NUT

Proyecto FIA PYT - 2016 - 0065

### Manejo integrado para el control de especies de *Phytophthora* que afectan al nogal

Ximena Besoain  
Escuela de Agronomía  
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso



También se realizó en el mes de abril una publicación de un artículo en el especial de nueces 2018 de la revista Red Agrícola, abarcando los principales resultados obtenidos en el proyecto (Figura 35), el cual además se encuentra disponible de manera online.



**Figura 35.** Artículo publicado en la revista Red Agrícola titulado “Nuevas tendencias en el manejo de la pudrición de cuello y raíces en nogal”.

A finales del mes de julio e inicios del mes de agosto del 2018, Natalia Riquelme (Bióloga Molecular del proyecto) presentó un poster en el Congreso Internacional ICPP en Boston “Plant Health in a Global Economy”. Durante aquella instancia se presentaron los resultados relacionados con el OE1 del proyecto (Figura 36).

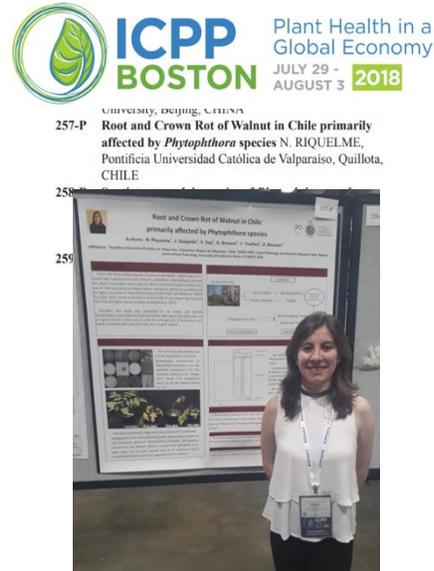
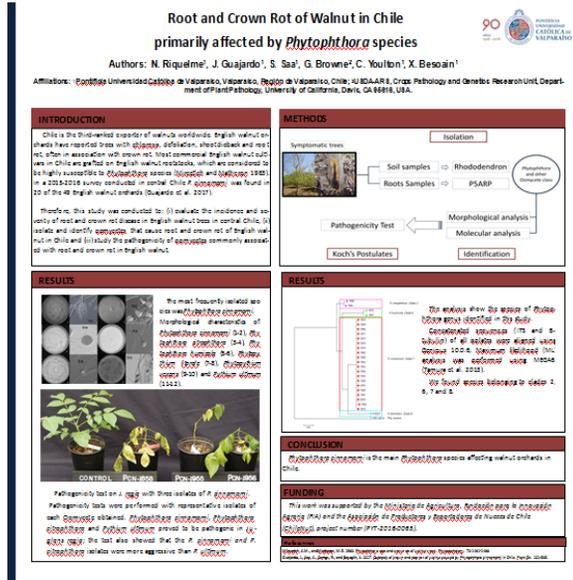


Figura 36. Presentación de poster titulado “Root and Crown rot of Walnut in Chile primarily affected by *Phytophthora* species” por Natalia Riquelme.

Durante el mes de agosto, se envió a la revista Plant Disease la publicación científica relacionada con el OE1 del proyecto. Esta publicación fue aceptada y publicada (ver Figura 33).

Plant Disease • 2019 • 103:691-696 • <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-18-1160-RE>

e-Xtra\*

## Characterization of Oomycete Species Associated With Root and Crown Rot of English Walnut in Chile

Jeannette Guajardo,<sup>1</sup> Sebastián Saa,<sup>1</sup> Natalia Riquelme,<sup>1</sup> Gregory Browne,<sup>2</sup> Cristian Youlton,<sup>1</sup> Mónica Castro,<sup>1</sup> and Ximena Besoain<sup>1,†</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Agronomía, Facultad de Ciencias Agronómicas y de los Alimentos, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Casilla 4D, Quillota, Chile; and <sup>2</sup>USDA-ARS, Crops Pathology and Genetics Research Unit, Department of Plant Pathology, University of California, Davis, CA 95616, U.S.A.

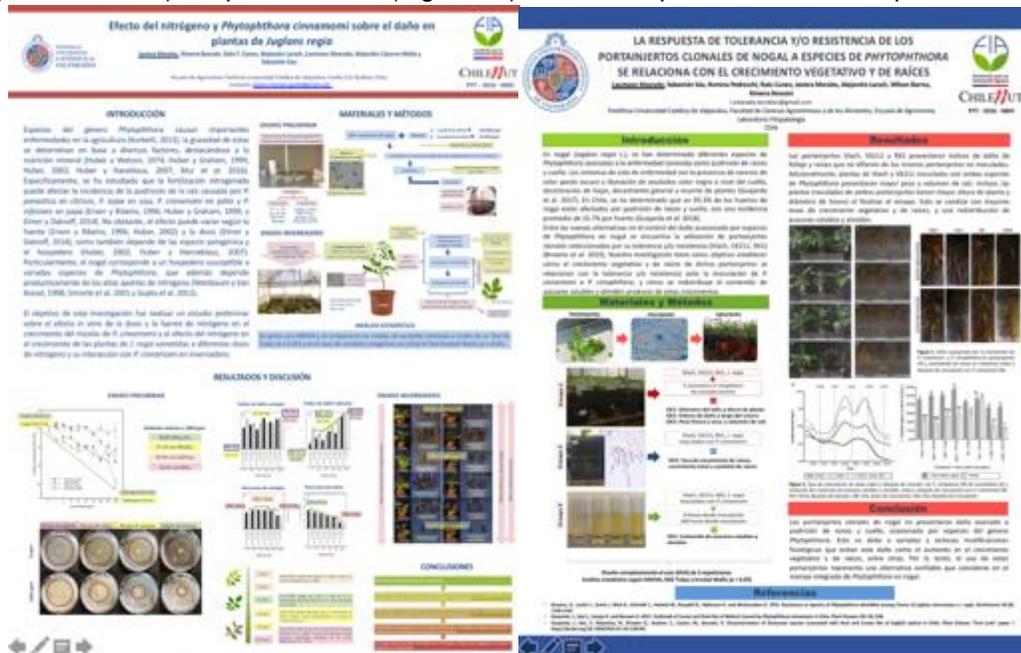
### Abstract

English (Persian) walnut (*Juglans regia*) trees affected by root and crown rot were surveyed in five regions of central Chile between 2015 and 2017. In each region, nine orchards, ranging from 1 to 21 years old, were randomly selected and inspected for incidence and severity of tree decline associated with crown and root rot. Soil and symptomatic crown and root tissues were collected and cultured in P<sub>5</sub>ARP semiselective medium to isolate potential oomycete pathogens, which were identified through morphology and molecularly using ITS sequences in the rDNA

gene and beta tubulin gene. The most frequently isolated species was *Phytophthora cinnamomi*. Pathogenicity tests were conducted with representative oomycete isolates. *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, and *Pythium ultimum* were all pathogenic in *J. regia*. Nevertheless, only *P. cinnamomi* and *P. citrophthora* were pathogenic to English walnut. *Py. ultimum* caused limited levels of root damage to English walnut seedlings. Our research indicates that as the Chilean walnut industry has expanded, so have walnut crown and root rots induced by oomycetes.

Figura 37. Artículo científico titulado “Characterization of Oomycete species associated with Root and Crown Rot of English walnut in Chile” publicado en la revista Plant Diseases.

Entre el 28 y 30 de noviembre se realizó en Valdivia el XXVI Congreso Sociedad Chilena de Fitopatología en las dependencias de la Universidad Austral de Chile. Durante aquella instancia, los profesionales de apoyo del proyecto, Javiera y Laureano participaron activamente en el congreso presentando posters relacionados con los resultados esperados 4 (fertilización nitrogenada) y 7 (portainjertos clonales), respectivamente (Figura 38). Durante la presentación de los posters, distintos



participantes realizaron preguntas relacionadas con las investigaciones.

**Figura 38.** Posters presentados en XXVI Congreso Sociedad Chilena de Fitopatología.

Dentro de las publicaciones de divulgación internacional se encuentra (ver Adjunto 6): trabajo que recopiló en parte los resultados obtenidos con portainjertos clonales de nogal y que compara las respuestas de plantas clonales y *J. regia* tras la infección con especies de *Phytophthora*. Trabajo liderado por Laureano Alvarado y que se hizo público online en septiembre de 2019 en la Revista Plant Disease y oficialmente publicado en marzo 2020 (Figura 39). Por otra parte, en el mes de diciembre de 2019 el trabajo liderado por Javiera Morales quien expuso sus resultados sobre el efecto de la fertilización nitrogenada sobre plantas de *J. regia* inoculadas con *Phytophthora cinnamomi* se publica en la Revista HortScience (Figura 40).

## A Comparison of Immediate and Short-Term Defensive Responses to *Phytophthora* Species Infection in Both Susceptible and Resistant Walnut Rootstocks

Laureano Alvarado, Sebastián Saa, Italo F. Cuneo, Romina Pedreschi, Javiera Morales, Alejandra Larach, Wilson Barros, Jeannette Guajardo, and Ximena Besoain\*

Escuela de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Quillota, Chile

### Abstract

Clonal rootstocks are one alternative used by the walnut industry to control damage caused by *Phytophthora* species, traditionally using plants grafted on susceptible *Juglans regia* rootstock. Vlach, VX211, and RX1 are clonal rootstocks with a degree of resistance to *Phytophthora* species. The resistance to pathogens in these rootstocks depends on the resistance mechanisms activated by the presence of the pathogen and subsequent development of responses in the host. In this work, we analyzed how plants of *J. regia*, Vlach, VX211, and RX1 responded to inoculation with *Phytophthora cinnamomi* or *Phytophthora citricola* isolates obtained from diseased English walnut plants from Chilean orchards. After inoculation, plants of Vlach, VX211, and RX1 showed canopy and root damage indexes that did not differ from noninoculated control plants. In contrast, plants of *J. regia*, which is susceptible to *P. cinnamomi* and *P. citricola*, died after inoculation. Vlach, VX211,

and RX1 plants inoculated with *P. cinnamomi* or *P. citricola* showed greater root weight and volume and greater root growth rates than their respective controls. These results suggest that short-term carbohydrate dynamics may be related to the defense mechanisms of plants; they are immediately activated after inoculation through the production of phenolic compounds, which support the further growth and development of roots in walnut clonal rootstocks. To our knowledge, this is the first study that comprehensively characterizes vegetative and radicular growth and the dynamics of sugars and phenols in response to infection with *P. cinnamomi* or *P. citricola* in walnut rootstocks.

**Keywords:** clonal walnut rootstocks, carbohydrate dynamics, *Juglans regia*, phenolic compounds, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora citricola*, root-canopy growth

Different *Phytophthora* species associated with root and crown rot disease have been identified in English walnut (*Juglans regia* L.) (Matheron and Mirretech 1985a; Mirretech et al. 1998). The most characteristic symptoms of this disease are the presence of dark brown cankers and the release of black ooze at the crown, leaf discoloration, general decay, and plant death (Belsario et al. 2016; Browne et al. 2012; Gineti et al. 2014; Guajardo et al. 2017; Kurbelli 2013). Among the most relevant *Phytophthora* species causing disease in English walnut are *Phytophthora cinnamomi* Rands and *Phytophthora citricola* Sawada (Belsario et al. 2016; Derviş 2016; Matheron and Mirretech 1985a, b, c; Mirretech and Matheron 1983; Mirretech et al. 1998). *P. cinnamomi* and *P. citricola* have been reported as

rootstocks used in California, where the hybrid Paradox is the most widely planted (Browne et al. 2015). In Chile, 95% of planted rootstocks correspond to *J. regia* seedlings (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias 2015), which are sensitive to root and crown rot. With breakthroughs in micropropagation and walnut tree cloning achieved at the University of California in Davis, California, researchers were able to select hybrid clonal rootstocks that provided consistent resistance to several soil pathogens, such as *P. cinnamomi* or *P. citricola* (Baumgartner et al. 2013; Browne et al. 2013, 2015; Buzo et al. 2009; McGranahan et al. 2005). Previous work suggested that clones from parentages *Juglans hindsii* × *J. regia* and (*J. hindsii* × *J. regia*) × *J. regia* are less susceptible to *P. cinnamomi* and *P. citricola*

**Figura 39:** Manuscrito científico titulado “A Comparison of Immediate and Short-Term Defensive Responses to *Phytophthora* Species Infection in Both Susceptible and Resistant Walnut Rootstocks.” Publicado en la revista Plant Disease.

HORTSCIENCE. 54(12):2188–2194, 2019. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14299-19>

## Impact of Nitrogen Fertilization on *Phytophthora cinnamomi* Root-related Damage in *Juglans regia* Saplings

Javiera Morales, Ximena Besoain, Italo F. Cuneo, Alejandra Larach, Laureano Alvarado, Alejandro Cáceres-Mella, and Sebastian Saa  
Escuela de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso,

**Additional index words:** ammonium nitrate, crown and root rot, english walnut saplings, nitrogen fertilization, *Phytophthora cinnamomi*

**Abstract.** Excessive nitrogen (N) use in agriculture has been associated with increased severity of the damage caused by *Phytophthora* species. In this study, we investigated the impact in vitro and in vivo of N about *Phytophthora cinnamomi*. The preliminary in vitro assay showed the effect of different N sources on the mycelial growth of *P. cinnamomi*. This assay indicated that ammonium nitrate (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) and ammonium sulfate [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] allowed for greater control of *P. cinnamomi* mycelia in comparison with calcium nitrate [Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] and potassium nitrate (KNO<sub>3</sub>) when used with 1000 ppm N. The in vivo assay showed the severity of *P. cinnamomi* in 5-month-old *Juglans regia* saplings grown under greenhouse conditions. We selected NH<sub>4</sub>NH<sub>2</sub> as the source for N for the greenhouse assay, considering the inhibitory effect on the ingrowth of *P. cinnamomi* and the intensive use of this fertilizer in agriculture. Walnut saplings were fertilized with 0, 35, 70, 140, 210, and 1050 ppm N and were inoculated with zoospores of *P. cinnamomi* 45 d after the application of nitrogen treatment (DAA). They were harvested at 90 DAA. We found that a 70-ppm N fertilization reduced the development of *P. cinnamomi*, resulting in lower root and canopy damage indices (DIs) than the unfertilized inoculated treatments and fertilized treatments greater than 140 ppm. The results of the in vitro and in vivo assay agree that increased N concentrations were associated with reduced mycelium growth of *P. cinnamomi*, providing further evidence that N fertilization can mitigate this disease. Greater root and canopy damage was observed in saplings fertilized with 1050 ppm N, regardless of whether they were inoculated with *P. cinnamomi*, as a result of N phytotoxicity (verified through foliar analysis). In contrast, inoculated and unfertilized saplings (N0) also showed high root and canopy DIs associated either with the inoculation with *P. cinnamomi* or the no fertilization treatment. We postulate that 70

hanced by the worldwide presence of this pathogen. For example, Guajardo et al. (2017) reported that 93.3% of the walnut orchards in Chile show damage caused by oomycete species. There have been similar cases in France, Italy, Hungary, and Iran, in which species of *Phytophthora* have been recovered from infected walnut roots (Kurbelli, 2013). In our study, we aimed to test whether N can control *Phytophthora cinnamomi* attack in growing *J. regia* saplings. First, we conducted a preliminary in vitro assay to elucidate the effect of the dose and the source of N on the mycelial growth of *P. cinnamomi*. Then, we studied the effect of different doses of N and inoculation with *P. cinnamomi* on the root and canopy growth of *J. regia* saplings grown under greenhouse conditions.

### Materials and Methods

#### In vitro assay

An in vitro assay was conducted in the Plant Pathology Laboratory of Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PPL-PUCV) to observe the interaction between N source and dose on *Phytophthora cinnamomi* mycelial viability. This experiment served also to select the treatments (N source and dose) that were later used in the greenhouse assay described in the next section. For this experiment, the isolate PN1955 [i.e., *P. cinnamomi* isolated from a walnut orchard and preserved in the Fungi and Oomycetes Bank of the PPL-PUCV, and previously virulence checked by Guajardo et al. (2017)], was used. This in vitro assay used a fully randomized design with a double factorial structure and five repli-

**Figura 40:** Manuscrito científico titulado “Impact of Nitrogen Fertilization on *Phytophthora cinnamomi* Root-related Damage in *Juglans regia* Saplings” aceptado con correcciones menores por la revista HortScience.

## 17. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Beutel, J., K. Uriu, and O. Lilleland. 1976. Leaf analysis for California deciduous fruits, p. 15–17. In: H.M. Reisenauer (ed.). Soil and plant-tissue testing in California. University of California Cooperative Extension Bulletin 1879.

Goodman, R.C., J.A. Oliet, G. Pardillo, and D.F. Jacobs. 2013. Nitrogen fertilization of Black Walnut (*Juglans nigra* L.) during plantation establishment. Morphology and production efficiency. *For. Sci.* 59:453–463.

Simorte, V., G. Bertoni, C. Dupraz, and P. Masson. 2001. Assessment of nitrogen nutrition of walnut trees using foliar analysis and chlorophyll measurements. *J. Plant Nutr.* 24(10): 1654–1660.

Vettraiño, A.M., A. Belisario, M. Maccaroni, and A. Vannini. 2003. Evaluation of root damage to English walnut caused by five *Phytophthora* species. *Plant Pathol.* 52: 491–495.