



INFORME TECNICO FINAL

Nombre del proyecto	Desarrollo de un paquete de manejo integrado para bacteria en el cultivo de papa, basado en un método de cuantificación del potencial de infección latente y su expresión en campo, como medida de adaptación al riesgo sanitario frente al cambio climático.
Código del proyecto	PYT-2017-0204
Informe final	
Período informado (considerar todo el período de ejecución)	desde el 1 Junio 2017 hasta el 31 de Octubre 2021
Fecha de entrega	26 de Noviembre 2021

Nombre coordinador	Ivette Acuña Bravo
Firma	

CONTENIDO

INFORME TECNICO FINAL	1
CONTENIDO	2
1. ANTECEDENTES GENERALES.....	3
2. EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO.....	3
3. RESUMEN EJECUTIVO	4
4. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO.....	6
5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE).....	6
6. RESULTADOS ESPERADOS (RE).....	7
7. CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO.....	14
8. ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO	15
9. POTENCIAL IMPACTO.....	16
10. CAMBIOS EN EL ENTORNO.....	18
11. DIFUSIÓN.....	18
12. PRODUCTORES PARTICIPANTES	19
13. CONSIDERACIONES GENERALES.....	20
14. CONCLUSIONES	21
15. RECOMENDACIONES	22
16. ANEXOS	22
17. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA	91

1. ANTECEDENTES GENERALES

Nombre Ejecutor:	Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Nombre(s) Asociado(s):	Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) Consorcio Papa Chile S.A Semillas Llanquihue Ltda
Coordinador del Proyecto:	Ivette Acuña Bravo
Regiones de ejecución:	Región de Los Lagos
Fecha de inicio iniciativa:	1 de junio 2017
Fecha término Iniciativa:	31 de octubre 2021

2. EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO

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

Acumulados a la Fecha	
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.

Durante el período junio- noviembre de 2021 se trabajó en las actividades pendientes comprometidas en el proyecto logrando finalizar lo comprometido en el proyecto.

Durante estos meses se avanzó en la técnica de cuantificación de infección en tubérculos semilla con el objetivo de definir el nivel de riesgo de pudrición según nivel de inóculo. Además se logró validar la técnica de cuantificación con lotes de semilla de los asociados al proyecto. También se trabajó en la identificación por secuenciación de las especies detectadas asociadas en la zona sur y en especial la identificación de la nueva especie de *Pectobacterium* spp. Se realizó la confirmación de la nueva especie.

En relación al paquete de manejo integrado, esta temporada se estableció un experimento para determinar la interacción Calcio, Nitrógeno y Boro sobre la susceptibilidad de pudriciones blandas. En laboratorio se realizó la evaluación de resistencia en tubérculos a las pudriciones blandas y se evaluó su contenido de calcio. Se pudo determinar que los tubérculos de plantas que recibieron aplicaciones de Ca en inicio de tuberización, presentaron un mayor contenido de Ca en el tejido, y estos a su vez fueron más resistentes a las pudriciones blandas que los que no recibieron Ca en esta etapa.

En cuanto a la determinación de riesgo de expresión en campo según manejo y nivel de inóculo en semilla, se muestrearon lotes de semilla de los asociados, se procesaron en laboratorio para daño potencial por pudrición y se cuantificó el nivel de infección con la nueva técnica de PCR. Se realizó una encuesta de manejo de los semilleros muestreados. Se logró definir el paquete de manejo integrado preventivo de la enfermedad, basado en el conocimiento empírico, literatura y expertis de los investigadores.

Se desarrolló la plataforma de riesgo con información para 7 enfermedades de la papa, manejo integrado, galerías de fotos, medios audiovisuales y una autoevaluación de riesgo con recomendaciones de manejo preventivo, <http://enfermedadespapa.inia.cl>

En difusión, se publicaron 4 artículos divulgativos, 5 podcast y 4 videos sobre los resultados del proyecto. Estos están disponibles en la biblioteca digital de INIA. Además, se realizó un seminario on line de cierre de la iniciativa donde se presentaron los resultados del proyecto, el cual, contó con investigadores nacionales y extranjeros especializados en las enfermedades bacterianas de la papa.

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.

El cambio climático a nivel mundial ha causado problemas de inestabilidad climática poniendo en riesgo la seguridad alimentaria. Uno de los problemas más importantes en estos escenarios es el aumento de la incidencia y severidad de ataque de plagas y enfermedades. La zona sur de Chile se ha visto afectada por problemas sanitarios reemergentes, tales como virus y bacterias. Así, se ha observado un aumento de las pudriciones blandas, alcanzando hace unos años el 24% de rechazo en semilla. Se describe la prevalencia de bacterias del género como agente causal. Igualmente, en Chile se ha descrito la presencia de *Dickeya* en papa, bacteria de temperaturas más altas y cuarentenaria para la zona libre. Esta situación no solo ocurre en Chile, sino también en todo el mundo. El control de esta enfermedad es complejo y depende de un conjunto de factores. Así, la técnica más eficiente es la utilización de un tubérculo semilla libre del patógeno, junto a un manejo productivo que disminuya su expresión en un ambiente determinado.

Esta propuesta logró: 1. Determinar las principales especies bacterianas asociadas al cultivo de papa en la zona sur. Se logró realizar una prospección en la zona sur de Chile determinando la presencia de bacterias del género *Pectobacterium*, pero no *Dickeya*. Esto es relevante dado que esta última está en una condición restrictiva para el área libre y se había encontrado en papa en zona previo al comienzo de este proyecto. Adicionalmente, respecto a bacterias del género *Pectobacterium*, se determinó la prevalencia de *P. carotovorum* subsp *carotovorum* frente a *P. atrosepticum*, pero también se encontró otra especie no descrita en Chile con anterioridad en el cultivo de papa. 2. Validar e implementar la metodología de detección y cuantificación con qPCR. Esta técnica permite estimar la contaminación de un lote de semilla de papa, con el fin que el agricultor pueda tomar decisiones según esta información. 3. Determinar la importancia relativa de los factores de riesgo que influyen en el desarrollo de la enfermedad. Aun cuando la expresión de la enfermedad depende de una serie de factores y su interacción, se logró definir el efecto del riego, calidad de semilla, susceptibilidad varietal y fertilización, especialmente el calcio, en la expresión de la enfermedad. 4. Determinar un paquete de manejo integrado preventivo, basado en información de la epidemiología de la enfermedad, literatura y resultados experimentales, se logró definir un paquete de manejo que disminuya el riesgo de expresión del problema. 5. Desarrollar una plataforma de riesgo <http://enfermedadespapa.inia.cl>, la que está disponible en forma pública con información para 7 enfermedades de importancia para la papa, galerías de fotos, manejo integrado y una autoevaluación de riesgo según el manejo del cultivo. Se pretende que esta plataforma sea referente para el manejo sanitario del cultivo de papa y los usuarios y usuarias puedan tomar decisiones y mejorar su sistema productivo basado en las recomendaciones disponibles. Además, se realizaron eventos y se publicaron una serie de documentos impresos y audiovisuales que quedarán disponibles públicamente.

4. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Desarrollar un paquete de manejo integrado de enfermedades bacterianas en papa, basado en un método de cuantificación de la infección latente (PIL) y su potencial de expresión en campo, para determinación de riesgo sanitario como medida preventiva de adaptación al cambio climático.

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 ¹
1	Desarrollar un método de cuantificación de infección latente (PIL) en tubérculos semilla de papa mediante técnicas moleculares y su relación con el potencial de expresión de pudriciones blandas y pie negro en campo.	100
2	Desarrollar un paquete de manejo integrado basado en la expresión del PIL según manejo agronómico.	100
3	Determinar el riesgo de expresión de pudriciones blandas y pie negro según PIL, variedad, manejo agronómico y condición ambiental.	100
4	Desarrollar e implementar una plataforma de riesgo para enfermedades bacterianas de la papa como herramienta de apoyo para la adaptación al cambio climático.	100
5	Difundir y transferir resultados del proyecto.	100

¹ 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 éste 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 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 OE	Nº RE	Resultado Esperado ² (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta real ⁸	% de cumplimiento
			Nombre del indicador ³	Fórmula de cálculo ⁴	Línea base ⁵	Meta del indicador ⁶ (situación final)	Fecha alcance meta programada ⁷		
1	1.1	Principales especies bacterianas asociadas al cultivo de papa en la Región de La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos	Cantidad de provincias prospectadas para las principales especies bacterianas asociadas a papa.	Nº de provincias	Hoy en día existen al menos 2 provincias evaluadas .	5 provincias evaluadas (según plan operativo). Sin embargo, se prospectaron 6 provincias	Junio 2018	Junio 2021	100

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

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

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

⁵ Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

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

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

⁸ 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.

1	1.2	Metodología de detección y cuantificación desarrollada e implementada.	Técnica para detección y cuantificación desarrollada.	N° técnica	Hoy existen metodologías de detección de <i>Pectobacterium</i> y <i>Dickeya</i> en Chile, pero no se han desarrollado métodos de cuantificación en tubérculo.	Una técnica de cuantificación para bacteria en tubérculo.	Julio 2018	Septiembre 2019	100
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
No hubieron inconvenientes para lograr el objetivo N° 1. Solo hubo demoras en las fechas de cumplimiento debido a actividades de secuenciación molecular de nuevas especies no descritas previamente en el país y problemas en equipo de PCR en tiempo real, sumado a suspensión de trabajo presencial a causa de la pandemia de COVID-19.									
Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)									
Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.									
Anexo 1									

Nº OE	Nº RE	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		
2	2.1	Susceptibilidad relativa a enfermedades bacterianas de los principales cultivares comerciales.	Nº de variedades comerciales y líneas avanzadas de papa evaluadas.	Nº variedades evaluadas/total	No existen estudios evaluando el efecto de la interacción agua, calcio y nitrógeno sobre el rendimiento y susceptibilidad de tubérculos a enfermedades bacterianas.	15 variedades comerciales evaluadas en tubérculo y planta. 10 líneas avanzadas de las empresas participantes en el proyecto. Finalmente, se evaluaron 19 variedades comerciales, 9 líneas avanzadas y 7 variedades nativas de papa.	Abril 2019	Junio 2021	100

2	2.2	Efecto del manejo productivo sobre la cuantificación del potencial de infección en tubérculos e incidencia de pie negro y pudriciones blandas determinado	Cantidad de parcelas experimentales evaluadas para definir factores de manejo relacionados a la expresión de enfermedades bacterianas	Cantidad de parcelas/total	No existen estudios evaluando el efecto de la interacción agua, calcio y nitrógeno sobre el rendimiento y susceptibilidad de tubérculos a enfermedades bacterianas.	6 Parcelas experimentales establecidas y evaluadas. Resultados analizados. Se adicionó una evaluación en invernadero.	Abril 2019	Junio 2021	100
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
La expresión de Pie negro y Pudriciones blandas en campo dependen de factores ambientales y de cultivar. Por este motivo, durante la ejecución de proyecto se fueron adaptando las metodologías para obtener información concluyente, aumentando el número de temporada de evaluación.									

Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra) Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.
Anexo 2

Nº OE	Nº RE	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		
3	3.1	Importancia relativa de los factores de riesgo que influyen en el desarrollo de la enfermedad priorizados.	Ponderación del factor de riesgo.	Cantidad de factores evaluados/to tal	1 factor de riesgo ponderado Semilla	5 factores de riesgo ponderado: Agua Semilla Variedad Fertilización Ambiente	Junio 2020	Octubre 2021	100
3	3.2	Paquete de manejo integrado preventivo determinado	Paquete de manejo integrado publicado.	Nº de paquete de manejo integrado	No hay	1 paquete de manejo integrado publicado.	Junio 2020	Octubre 2021	100
3	3.3	Evaluación de implementación de riesgo preventivo.	Casos con seguimiento y evaluación.	Cantidad casos evaluados/to tal	No hay	5 casos evaluados Finalmente se evaluaron 8 casos provenientes de 4 empresas	Mayo 2021	Junio 2021	100

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

Los asociados al proyecto en los cuales se hizo el seguimiento eran principalmente productores de semilla certificada, por lo que la calidad de su material era alta. Sería recomendable hacer evaluaciones en agricultores productores de papas comerciales o semilla corriente.

Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)

Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

Anexo 3

Nº OE	Nº RE	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	4.1	Plataforma de riesgo para pie negro y pudriciones blandas implementada.	Plataforma de riesgo 1. Información técnica de las enfermedades. 2. Plataforma operativa y validada.	Nº de plataforma	No hay	1 plataforma de riesgo para enfermedades bacterianas en papa.	Diciembre 2020	Octubre 2021	100
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
La plataforma está activa para 7 enfermedades del cultivo de la papa, sería de gran utilidad a futuro incorporar nuevos problemas sanitarios y otras herramientas que apoyen al reconocimiento de las enfermedades y su control para mejores tomas de decisiones de los agricultores (as).									

Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)
Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.
Anexo 4

Nº OE	Nº RE	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		
5	5.1	Convenios con asociados	Convenios de ejecución para el proyecto.	Nº convenios firmados	Existen convenios de cooperación con SAG y Consorcio Papa.	3 Convenios de cooperación para la ejecución de proyecto.	Junio 2017	Junio 2018	100
5	5.2	Actividades de difusión desarrolladas	1.Seminarios ejecutados 2.Días de campo ejecutados 3.Publicaciones divulgativas impresas 4.Curso taller ejecutado 5. Difusión de la plataforma en 3 medios de comunicación y redes sociales de los asociados realizada.	Nº actividades/total	No hay	2 seminarios (presencial, webinar) 1 día de campo 5 publicaciones divulgativas 5 podcast 4 videos 4 asistencias a congresos y simposio de especialidad sanidad vegetal	Mayo 2021	Octubre 2021	100

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

Antes de la pandemia de COVID-19, ya se habían cumplido algunas actividades de difusión como el seminario de lanzamiento y asistencia a congresos y simposios de sanidad vegetal. La planificación según el plan operativo inicial tuvo modificaciones, sustituyendo talleres y seminarios presenciales por recursos audiovisuales como podcast, videos y un webinar de finalización de proyecto, cambiando la situación final del objetivo, reflejado en la columna Meta del indicador (situación final).

Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)

Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

Anexo 5

6.2 Análisis de brecha.

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

[illegible]

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
Mal funcionamiento de equipo de PCR en tiempo real de INIA Remehue, no tuvo arreglo.	La metodología de cuantificación se basa en PCR en tiempo real, por lo que no contar con este equipo, repercutió en el retraso de actividades donde se contemplaba análisis de muestras.	Se realizó una solicitud al laboratorio regional del SAG ubicado en Osorno, para poder analizar las muestras pendientes en su equipo.
Debido a la contingencia COVID19, las actividades laborales presenciales se suspendieron.	El ausentismo laboral presencial a causa de COVID-19, ocasionó demoras en actividades de laboratorio y campo.	Se envió una solicitud de reitemización presupuestaria en Mayo 2020 para extender el tiempo de recursos humanos dentro del proyecto y sumar otra temporada más de campo, para fortalecer los resultados, adicionando recursos en operación.
Suspensión de actividades de difusión presenciales a causa de pandemia.	Cambio de planes en el plan operativo del proyecto.	Las actividades suspendidas fueron reemplazadas por recursos comunicacionales como podcast, videos y un webinar, este último en reemplazo del seminario final de la iniciativa.

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.

Actividades, Objetivo N°1:

- Toma de muestras en campo para determinar las principales especies bacterianas asociadas a papa.
- Caracterizar bioquímicamente y molecularmente las muestras obtenidas durante la prospección en campo.
- Estandarizar y evaluar las condiciones óptimas de amplificación de los patógenos detectados.
- Determinar el nivel de sensibilidad de la técnica.
- Validar la técnica bajo condiciones de laboratorio.

Actividades, Objetivo N°2:

- Evaluar la resistencia varietal de diferentes cultivares comerciales *in vitro* y en campo.
- Evaluar la interacción de susceptibilidad varietal con distintos tratamientos de fertilización bajo condiciones de riego y secano.

Actividades, Objetivo N°3:

- Toma de muestras en campo de diferentes zonas agroclimáticas.
- Detectar el potencial de infección latente en las muestras de campo colectadas.
- Determinar el nivel de expresión en campo de pie negro y pudriciones blandas en las diferentes zonas agroclimáticas.
- Ponderar los factores de riesgo asociados al manejo agronómico junto a cuantificación del PIL.
- Elaborar paquete de manejo integrado.
- Elaboración y seguimiento de implementación de recomendaciones.

Actividades, Objetivo N°4:

- Desarrollar e implementar plataforma de riesgo.

Actividades, Objetivo N°5:

- Firma de convenios de ejecución con los asociados.
- Seminario y día de campo de lanzamiento del proyecto.
- 3 Publicaciones divulgativas (Se elaboraron 5).
- Asistencia a congresos y reuniones científicas.

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

Dentro de las actividades programadas y no realizadas estuvieron las planificadas en el objetivo 5 referentes a difusión, debido a la suspensión de las actividades presenciales por pandemia.

Actividades programadas y no realizadas:

- Un día de campo
- Un curso taller
- Seminario de finalización de la iniciativa

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

Las actividades de difusión planificadas inicialmente en el plan operativo fueron sustituidas por la elaboración de 5 podcast, 4 videos y un seminario internacional on line como actividad de finalización de la iniciativa, donde se dio a conocer los resultados y se contó con invitados internacionales de gran importancia en el tema de enfermedades bacterianas. Estos fueron ajustes para poder entregar la información generada durante la iniciativa de una forma no presencial y acorde a los tiempos.

La plataforma tuvo demoras en la implementación, por lo que actualmente se está comenzando con la validación de usuarios (as).

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.

El proyecto planteaba 5 grandes resultados:

1. Determinación de las principales especies bacterianas asociadas al cultivo de papa en la zona sur. Se logró realizar esta prospección en la zona sur de Chile determinando la presencia de bacterias del género *Pectobacterium*, pero no *Dickeya*. Esto es relevante dado que esta última está en una condición restrictiva para el área libre y se había encontrado en papa en zona previo al comienzo de este proyecto. Adicionalmente, respecto a bacterias del género *Pectobacterium*, se determinó la prevalencia de *P. carotovorum* sp *carotovorum* frente a *P. atrosepticum*, pero también se encontró otra especie no descrita en Chile con anterioridad en el cultivo de papa. Esta información es de importancia, ya que la especie descrita presenta predominancia en cultivos en Europa

causando graves daños. Se debe considerar que el riesgo de ingreso o emergencia de nuevos problemas, endémicos como cuarentenarios, siempre está presente, por lo que es recomendable realizar un monitoreo continuo de problemas sanitarios en el cultivo de papa y así detectar tempranamente el problema para evitar que ingresen al área libre problemas no deseados y que ponen en riesgo el patrimonio fitosanitario.

2. Metodología de detección y cuantificación desarrollada e implementada. Se logró validar e implementar la metodología de detección y cuantificación con qPCR en el laboratorio de INIA Remehue. Esta técnica permite estimar la contaminación de un lote de semilla de papa, con el fin que el agricultor pueda tomar decisiones según esta información. La metodología se validó en agricultores productores de semilla, a futuro debería validarse en lotes de semilla de diferentes calidades y fines productivos y hacer seguimiento de expresión. Esto último no se logró realizar dado que las restricciones que existían para salir a terreno y asistir al laboratorio durante el período de la pandemia por COVID 19. Esta metodología ayudará a los productores a evitar pérdidas de hasta de un 40% causadas por *Pectobacterium*. Además, apoyará a los productores de semilla en obtener material de mejor calidad que no afecte a sus clientes, tanto de la grande, mediana o pequeña agricultura.

3. Determinación de la importancia relativa de los factores de riesgo que influyen en el desarrollo de la enfermedad. Aun cuando la expresión de la enfermedad depende de una serie de factores y su interacción, se logró definir el efecto del riego, calidad de semilla, susceptibilidad varietal y fertilización, especialmente el calcio, en la expresión de la enfermedad. Esta información servirá para definir un paquete de manejo integrado que evite la expresión de la enfermedad y disminuir las pérdidas productivas hasta en un 40%.

4. Paquete de manejo integrado preventivo determinado. Basado en información de la epidemiología de la enfermedad, literatura y resultados experimentales, se logró definir un paquete de manejo que disminuya el riesgo de expresión del problema. Este paquete quedará disponible para los usuarios a través de la plataforma de riesgo y diversas publicaciones audiovisuales realizadas durante el proyecto.

5. Plataforma de riesgo terminada. La plataforma de riesgo <http://enfermedadespapa.inia.cl> está disponible en forma pública con información para 7 enfermedades de importancia para la papa, galerías de fotos, manejo integrado y una autoevaluación de riesgo según el manejo del cultivo. Se pretende que esta plataforma sea referente para el manejo sanitario del cultivo de papa y los usuarios y usuarias puedan tomar decisiones y mejorar su sistema productivo basado en las recomendaciones disponibles. Se pretende que a futuro se pueda ir mejorando esta plataforma con nuevos problemas y nuevos servicios complementarios que sean de utilidad para los productores.

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.

La contingencia del COVID 19 en el país significó la ralentización de las actividades planificadas, por la realización de las actividades fue más lenta de lo esperado.

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	25/1/2018	INIA Remehue, Osorno	Seminario de lanzamiento proyecto	80	Lista asistencia
2	25/1/2018	INIA Remehue, Osorno	Día de campo	80	Lista asistencia
3	1/11/2017	Edimburgo, Escocia	Reunión Euphersco 2017: <i>Dickeya</i> & <i>Pectobacterium</i> Workshop		Un trabajo presentado
4	15/11/2018	Emmeloord, Países Bajos	Reunión Euphersco 2018: <i>Dickeya</i> & <i>Pectobacterium</i> Workshop		Un trabajo presentado
5	2/9/2019	Neuchâtel, Suiza	Reunión EAPR 2019		Un trabajo presentado
6	5/11/2019	Arica	XVII Congreso Sociedad Chilena de Fitopatología,		Dos trabajos presentados
7	Octubre 2021	Osorno	Podcast sobre enfermedades en papa		5 podcast (links en anexo 5)
8	Octubre 2021	Osorno	5 publicaciones divulgativas		1 informativo INIA, 2 fichas técnica INIA, 2 artículos para revista divulgativa (links en

					anexo 5)
9	Octubre 2021	Osorno	4 videos sobre enfermedades, metodología de cuantificación y plataforma de riesgo		4 videos (links en anexo 5)
10	30/9/2021	Varios países	Seminario on line de finalización proyecto		Presentaciones, notas de prensa
			Total participantes		

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				
	Productores medianos-grandes				
	Productores pequeños				
	Productores medianos-grandes				
Totales					

12.2 Antecedentes específicos de participación de productores

Nombre	Ubicación Predio			Superficie Há.	Fecha ingreso al proyecto
	Región	Comuna	Dirección Postal		
Semillas Llanquihue	Los Lagos	Osorno			
INIA La Pampa	Los Lagos	Purranque			
Agrícola El Parque	Los Lagos	Osorno			
Semillas Puerto Octay	Los Lagos	Puerto Octay			

13. CONSIDERACIONES GENERALES

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

Los resultados obtenidos permitieron alcanzar el objetivo de desarrollar un paquete de manejo integrado de enfermedades bacterianas en papa basado en un método de cuantificación de la infección latente y su potencial de expresión en campo, para determinación de riesgo sanitario como medida preventiva de adaptación al cambio climático. Se logró describir el paquete de manejo integrado basado en los factores de mayor importancia, implementar la metodología de cuantificación y desarrollar la plataforma de riesgo, lo que en su conjunto cumplen con el objetivo general de la propuesta. Se debe destacar que dado la situación del COVID 19 en Chile las restricciones impuestas, se logró salir adelante con los compromisos, aun cuando no se logró validar la metodología de cuantificación en todo tipo de agricultores como se pretendía. Esto debería realizarse como parte del servicio potencial para agricultores que se podría implementar.

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

El trabajo con el equipo técnico fue muy bueno, logrando trabajar eficazmente, especialmente en la parte técnica con el Servicio Agrícola y Ganadero y su personal con altos conocimientos y expertis. El trabajo con los asociados fue interesante, contando con su gran apoyo e interés en lo realizado en forma constante, tanto con Semillas Llanquihue Ltda. como con los asociados al Consorcio Papa Chile SpA. La validación de la metodología de cuantificación de infección en semilla se realizó con los asociados.

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

El proyecto tiene 2 productos innovadores de gran relevancia: La metodología de cuantificación de infección latente en tubérculos de papa y la plataforma para evaluación de riesgo.

En la primera los agricultores podrán conocer la calidad del material reproductivo y tomar decisiones de manejo basado en el riesgo de la calidad de semilla. Esta metodología quedó implementada en INIA y se podrá ofrecer el servicio de análisis.

A su vez, la plataforma, a través de una encuesta de manejo, es capaz de determinar el nivel de riesgo de las labores realizadas y dar consejos para mejorar el manejo y evitar pérdidas productivas. El riesgo se determina en base al conocimiento generado en el proyecto, literatura y expertis de los investigadores que la desarrollaron. Esta plataforma será registrada con propiedad intelectual INIA.

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

Durante el desarrollo del proyecto se generó una serie de publicaciones y material audiovisual que quedó disponible en la Biblioteca digital de INIA que serán difundidos por redes sociales y otros medios, alcanzando a toda la cadena de producción de papa.

Además, los resultados del proyecto se pudieron compartir en un evento nacional e internacional, dando la posibilidad de intercambiar conocimiento con expertos mundiales en el tema bacterias y sanidad en el cultivo de papa y participar activamente en redes de especialistas mundiales en el tema.

14. CONCLUSIONES

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

Durante el desarrollo del proyecto se logró avanzar en el conocimiento de las enfermedades bacterianas del cultivo de la papa, logrando determinar las principales especies asociadas al cultivo de papa. Además se logró determinar cuáles son los principales factores involucrados en la expresión del pie negro y pudriciones blandas. Con este conocimiento se logró realizar una plataforma de riesgo para apoyar a los agricultores en la toma de decisiones para el manejo preventivo. Además, se logró implementar y validar una metodología para medir el nivel de contaminación de la semilla de papa, metodología que ayudará a los productores a evitar el problema en campo.

Cabe recordar que el problema de enfermedades bacterianas es un problema reemergente en el cultivo de papa dado las nuevas condiciones ambientales predominante, asociadas al manejo productivo. Hoy tenemos temperaturas más altas en la temporada de producción y mayor déficit hídrico, por lo que los agricultores están implementando sistemas de riego en el cultivo, esto implica más humedad con mayores temperaturas. Como parte del proyecto se detectó la predominancia de *P. carotovorum* y una nueva especie de *Pectobacterium*, ambas asociadas a temperaturas más altas que la tradicional *P. atrosepticum*. Además, sabemos que el agua en exceso favorece la movilización de la bacteria en el suelo y la contaminación de los tubérculos hijos. Por lo tanto, conociendo esta situación, el evaluar la calidad de semilla y conocer el riesgo de expresión basado en el manejo del cultivo, es una excelente herramienta de apoyo para prevenir el problema y disminuir el riesgo de expresión.

Adicionalmente, la información generada quedará disponible para públicamente para que la cadena de producción pueda tomar decisiones técnicas informados.

15. RECOMENDACIONES

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

La metodología fue validada en agricultores productores de semilla, a futuro debería validarse en lotes de semilla de diferentes calidades y fines productivos y hacer seguimiento de expresión, relacionando su calidad de semilla y manejo productivo.

16. ANEXOS

Los anexos están compuestos por:

N° Anexo	Descripción
1	Resultados para cumplimiento del objetivo N° 1
2	Resultados para cumplimiento del objetivo N° 2
3	Resultados para cumplimiento del objetivo N° 3
4	Resultados para cumplimiento del objetivo N° 4
5	Resultados para cumplimiento del objetivo N° 5

ANEXO 1:

Objetivo N° 1. Desarrollar un método de cuantificación latente (PIL) en tubérculos semilla de papa mediante técnicas moleculares y su relación con el potencial de expresión de pudriciones blandas y pie negro en campo.

Resultados esperados:

1.1 Principales especies bacterianas asociadas al cultivo de papa en la Región de la Araucanía, Los Ríos y Los Lagos.

Para identificar las principales especies bacterianas causantes de Pie negro y Pudriciones blandas en papa, se realizó una prospección en 6 provincias de la zona papera (Ranco, Valdivia, Osorno, Llanquihue, Chiloé y Palena), logrando muestrear más de 400 estaciones o predios de productores (as) en 33 comunas, abarcando así la Región de Los Ríos y Los Lagos, como parte de las actividades de vigilancia del Servicio Agrícola y Ganadero.

La toma de muestra fue dirigida a plantas de campo y tubérculos en bodega en las temporadas del cultivo 2017-2018 y 2018-2019. Estas muestras fueron georreferenciadas y procesadas en el Laboratorio Regional SAG – Osorno para el aislamiento e identificación molecular del agente causal.

La metodología de detección utilizada fue basada en PCR convencional e implementada al inicio del proyecto, definiéndose el uso de los partidores descritos en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Partidores utilizados en metodología de detección bacteriana basada en PCR convencional.

Patógeno	Primer	Secuencia (5'-3')	Producto (pb)	Referencia
<i>Pectobacterium</i> spp.	Y1 Y2	TTACCGGACGCCGAGCTGTGGCGT CAGGAAGATGTCGTTATCGCGAGT	434	Darrasse <i>et al</i> , (1994).
<i>Pectobacterium atrosepticum</i>	Eca1f Eca2r	CGGCATCATAAAAACACG GCACACTTCATCCAGCGA	690	De Boer, <i>et al</i> (1995).
<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	EXPCCF EXPCCR INPCCF INPCCR	GAACCTCGCACCGCCGACCTTCTA GCCGTAATTGCCTACCTGCTTAAG GGCCAAGCAGTGCCTGTATATCC TTCGATCACGCAACCTGCATTACT	550 400	Kang, <i>et al</i> (2003).
<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>brasiliense</i>	BR1f L1r	GCGTGCCGGGTTTATGACCT CA(A/G)GGCATCCACCGT	322	Duarte, <i>et al</i> (2004).
<i>Dickeya</i> spp.	ADE1 ADE2	GATCAGAAAGCCCGCAGCCAGT CTGTGGCCGATCAGGATGGTTTTGTCGTGC	420	Nassar, <i>et al</i> (1996).
<i>Pectobacterium wasabiae</i>	PhF PhR	GGTTCAGTGCCTCAGGAGAG GCGGAGAGGAAGCGGTGAAG	99	Boer, Li & Ward (2012).

Se colectaron un total de 1.237 muestras para la detección de *Pectobacterium* spp. y *Dickeya* spp., donde 361 muestras correspondieron a tallos de plantas con pie negro y 876 a tubérculos de papa (Cuadro 2).

Cuadro 2. Registro de muestras de tallos y tubérculos de papa para análisis bacteriológico de *Pectobacterium* spp. y *Dickeya* spp, colectadas durante las temporadas 2017-2018 y 2018-2019 en las regiones de Los Ríos y Los Lagos.

Región	Provincia	N° de muestras		Total
		Tallos	Tubérculos	
Los Ríos	Ranco	55	132	187
	Valdivia	96	228	324
Los Lagos	Osorno	40	153	193
	Llanquihue	146	299	445
	Chiloé	20	53	73
	Palena	4	11	15
Total		361	876	1.237

Del total de muestras analizadas mediante PCR (Cuadro 3) todas resultaron negativas a *Dickeya* spp., bacteria cuarentenaria para el cultivo de papa. Lo anterior, demuestra la ausencia de este patógeno en cultivos de papa establecidos durante las temporadas 2017-2018 y 2018-2019 en ambas regiones del país.

Con respecto a la detección de *Pectobacterium* spp., 650 muestras resultaron positivas, lo que representa un 52,5% de infección del patógeno en el total de muestras analizadas.

Cuadro 3. N° de muestras positivas a *Pectobacterium* spp. y *Dickeya* spp. mediante PCR en muestras de tallos y tubérculos de papa provenientes de cultivos de diferentes provincias de las regiones de Los Ríos y Los Lagos durante las temporadas 2017-2018 y 2018-2019.

Región	Provincia	N° muestras positivas a <i>Pectobacterium</i> spp		Total	N° muestras positivas a <i>Dickeya</i> spp		Total
		Tallos	Tubérculos		Tallos	Tubérculos	
Los Ríos	Ranco	44	65	109	0	0	0
	Valdivia	55	107	162	0	0	0
Los Lagos	Osorno	16	76	92	0	0	0
	Llanquihue	110	141	251	0	0	0
	Chiloé	14	18	32	0	0	0
	Palena	0	4	4	0	0	0
Total		239 (19,3%)	411 (33,2%)	650 (52,5%)	0	0	0

De la totalidad de las muestras procesadas en laboratorio, existió una baja recuperación de cepas de *Pectobacterium* spp. a partir de los extractos positivos por PCR. Solo fue posible aislar 121 cepas, a las cuales se le corroboró su patogenicidad en rodajas de papa y fueron ingresadas a una colección de referencia almacenada a -80°C. Este bajo número de cepas puede ser explicada debido a la alta sensibilidad de la técnica de PCR, la cual, puede detectar ADN bacteriano aunque se encuentre en un bajo nivel poblacional. Es probable que en los extractos positivos por PCR, las poblaciones de *Pectobacterium* hayan estado en un bajo número, lo que dificultó su aislamiento tradicional en medios de cultivo.

La identificación a nivel de especie de las cepas fue efectuada con partidores específicos para las especies *P. atrosepticum*, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, *P. carotovorum* subsp. *brasiliensis*, *P. wasabiae*, esta última clasificada en el año 2019 como *P. parmentieri*. (Cuadro 1).

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de las identificaciones moleculares de las cepas de *Pectobacterium* spp. colectadas en las regiones de Los Ríos y Los Lagos durante las temporadas 2017-2018 y 2018-2019.

Cuadro 4. Identificación molecular de especies de *Pectobacterium* mediante PCR utilizando partidores específicos en muestras colectadas en las regiones de Los Ríos y Los Lagos durante las temporadas del cultivo de papa 2017-2018 y 2018-2019.

Región	Provincia	N° cepas	Identificación a nivel de especie				
			Pa	Pcc	Pba	Pw	<i>Pectobacterium</i> spp.
Los Ríos	Valdivia	20	0	9	0	1	10
	Ranco	22	4	9	0	0	9
Los Lagos	Osorno	16	2	3	0	0	11
	Llanquihue	53	16	12	0	4	21
	Chiloé	10	0	8	0	0	2
Total		121	22	41	0	5	53

*Donde Pa corresponde a *P. atrosepticum*; Pcc: *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*; Pba: *P. carotovorum* subsp. *brasiliensis*; Pw: *P. wasabiae*, esta última clasificada en el año 2019 como *P. parmentieri*.

De las 121 cepas de *Pectobacterium* spp. colectadas, 22 corresponden a *P. atrosepticum*, especie principalmente asociadas a Pie Negro en campo y restringida a papa como su principal hospedero. Mientras que 41 cepas fueron clasificadas como *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, estando presente en las 6 provincias prospectadas. Esta especie posee la habilidad de sobrevivir en diferentes ambientes y hospederos, distribuyéndose principalmente en zonas tropicales y templadas, a diferencia de *P. atrosepticum* que está ligada preferentemente a climas más fríos. La detección de *P. carotovorum* subsp. *brasiliensis* resultó negativo dentro de la colección. Sin embargo, se confirmó mediante secuenciación la presencia de la especie *P. parmentieri* en la zona sur de Chile, anteriormente clasificada como *P. wasabiae*, resultados que se detallaran a continuación.

Identificación de la especie *P. parmentieri* en el cultivo de papa.

Al realizar la identificación a nivel de especie de *Pectobacterium*, se detectaron cepas positivas al usar los partidores PhF y PhR, descritos para *P. wasabiae*, especie que actualmente está clasificada en papa como *P. parmentieri* y que aún no había sido descrita en el país.

Para corroborar su identidad, se amplificaron y secuenciaron las cepas positivas Pw96A, Pw96B, Pw107, Pw138 con los partidores dnaXf (5'-TATCAGGTYCTTGCCCGTAAGTGG-3') y dnaXr (5'-TCGACATCCARCGCYTTGAGATG-3') que amplifican la subunidad tau de la DNA polimerasa III descrita por De Boer & Ward, 2012. Las secuencias reportadas fueron revisadas y ensambladas en el software Geneious Prime y evaluadas en BLASTn, para luego alinearlas usando ClustalW en el programa MEGA 6.0, donde se elaboró el árbol filogenético.

Al realizar un alineamiento nucleotídico de las secuencias, se observó que estas fueron idénticas en las 4 cepas evaluadas (Figura 1).

Species/Abbrv	
1. Pw96-A	TGGCTAACGGCCCTTCCCTAGGCAGAAATCCATCAGCTTATTGTTTTCTGGCACCCTGGTGTCTGGGAAACAAACGATTGCCCGTTTGGTGGCAAAAGGGCTGAATTGTGAA
2. Pw107	TGGCTAACGGCCCTTCCCTAGGCAGAAATCCATCAGCTTATTGTTTTCTGGCACCCTGGTGTCTGGGAAACAAACGATTGCCCGTTTGGTGGCAAAAGGGCTGAATTGTGAA
3. Pw96B	TGGCTAACGGCCCTTCCCTAGGCAGAAATCCATCAGCTTATTGTTTTCTGGCACCCTGGTGTCTGGGAAACAAACGATTGCCCGTTTGGTGGCAAAAGGGCTGAATTGTGAA
4. Pw138	TGGCTAACGGCCCTTCCCTAGGCAGAAATCCATCAGCTTATTGTTTTCTGGCACCCTGGTGTCTGGGAAACAAACGATTGCCCGTTTGGTGGCAAAAGGGCTGAATTGTGAA

Figura 1. Alineamiento de secuencias nucleotídicas correspondientes a las muestras Pw96A, Pw96B, Pw107 y Pw138.

Al realizar BLASTn con las secuencias reportadas, se visualizaron coincidencias para la especie *Pectobacterium parmentieri*.

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
✓	Pectobacterium parmentieri strain CFBP8475T DNA polymerase III subunit tau (dnaX) gene, partial cds	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	492	MK516972.1
✓	Pectobacterium parmentieri strain IFB5408 chromosome, complete genome	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	5022017	CP026977.1
✓	Pectobacterium parmentieri strain IFB5485 chromosome, complete genome	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	4885249	CP026981.1
✓	Pectobacterium parmentieri strain IFB5486 chromosome, complete genome	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	5038122	CP026982.1
✓	Pectobacterium parmentieri strain IFB5604 chromosome, complete genome	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	4877201	CP026983.1
✓	Pectobacterium parmentieri strain IFB5605 chromosome	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	5040694	CP026984.1
✓	Pectobacterium parmentieri strain IFB5619 chromosome, complete genome	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	4959302	CP026985.1
✓	Pectobacterium parmentieri strain IFB5427 chromosome, complete genome	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	5125304	CP027260.1
✓	Pectobacterium parmentieri strain NY1532B DnaX (dnaX) gene, partial cds	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	515	MF954603.1
✓	Pectobacterium parmentieri strain RNS 08-42-1A chromosome, complete genome	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	5030841	CP015749.1
✓	Pectobacterium parmentieri strain QK-5 chromosome, complete genome	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	5047152	CP062254.1
✓	Pectobacterium parmentieri strain WC19161 chromosome, complete genome	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	4990747	CP065946.1
✓	Pectobacterium parmentieri strain PB20 chromosome, complete genome	Pectobacterium ...	821	821	100%	0.0	100.00%	4847736	CP065036.1

Figura 2. BLASTn obtenido en NCBI utilizando las secuencias de las muestras Pw96A, Pw96B, Pw107 y Pw138.

Para conocer la relación de las secuencias obtenidas con otras secuencias de referencia, se realizó una búsqueda de NCBI para construir un árbol filogenético (Cuadro 5).

Cuadro 5. Secuencias de referencia utilizadas en la construcción del árbol filogenético.

Especie	Cepa	Hospedero	Accession Genbank	Referencia
<i>P. parmentieri</i>	RNS 08-42-1A	Papa	CP015750	Khayati et al. 2016
<i>P. parmentieri</i>	NY 1532B	Papa	MF954603	Ma et al. 2016
<i>P. wasabiae</i>	CFBP 3304	Rábano picante	CP015750	Khayati et al. 2016
<i>P. atrosepticum</i>	21-A	Papa	CP009125	Nikolaichik et al. 2014
<i>P. atrosepticum</i>	JG10-08	Papa	CP007744	Zhu et al. 2014
<i>P. carotovorum subsp. carotovorum</i>	PCC21	Repollo	CP003776	Park et al. 2012
<i>P. carotovorum subsp. brasiliense</i>	HNP201719	Papa	CP046380	Jee, S. 2019
<i>P. carotovorum subsp. brasiliense</i>	BC1	Repollo	CP009769	Sui et al. 2014
<i>Dickeya solani</i>	IPO 2222	Papa	CP015137	Khayati et al. 2016

Al analizar el árbol filogenético en la Figura 3, se observa que las cepas analizadas se ubican en el clado de *P. parmentieri* (círculo verde), mientras que *P. wasabiae* en otro clado. Cabe destacar, que en los últimos años se propuso separar filogenéticamente *P. wasabiae* aisladas de papa de otros huéspedes. Así, Khayi et al., 2016 reclasificaron las cepas de *P. wasabiae* asociadas a papa a un nuevo taxón llamado *P. parmentieri*, distinto al grupo de cepas de *P. wasabiae* aisladas de rábano picante (círculo rojo). De esta manera, los resultados muestran que las cepas bacterianas detectadas corresponden al patógeno de *P. parmentieri*.

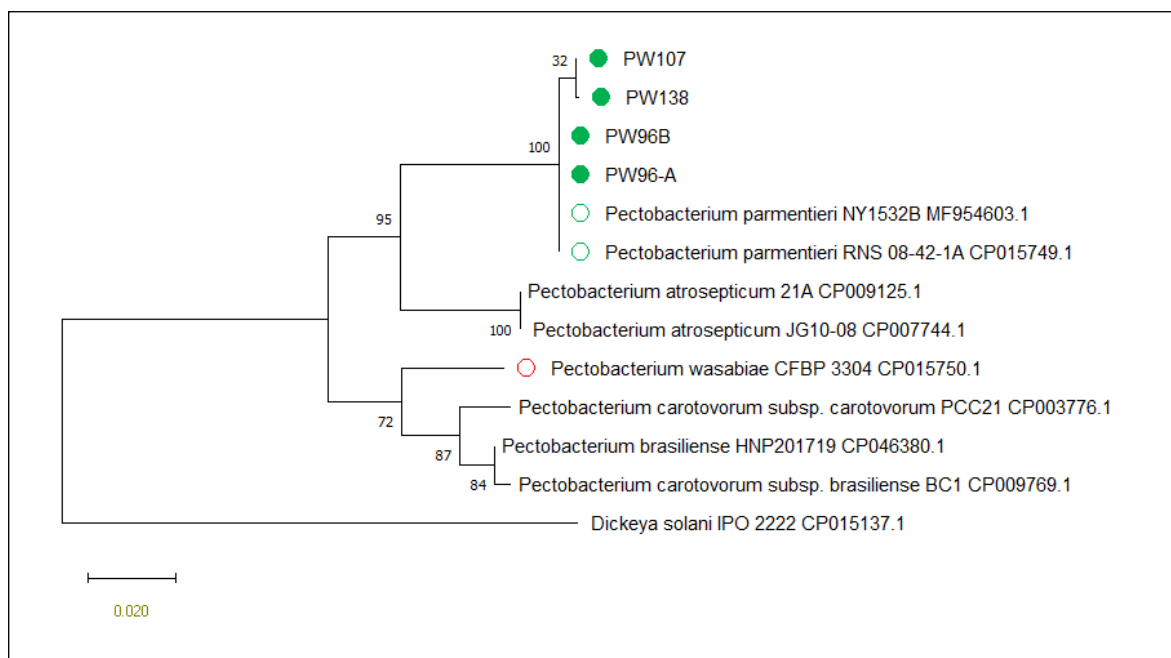


Figura 3. Árbol filogenético basado en secuencias dnaX usando modelo ML en programa MEGA. Se realizaron 1000 réplicas en bootstrap, *Dickeya solani* IPO2222 fue usado como outgroup. Al lado de cada especie, se muestra cepa y n° GenBank.

A su vez, se hicieron pruebas de pudrición de rodajas de papa para verificar la capacidad de macerar material de estas cepas de *P. parmentieri*, confirmando esta característica.



Figura 4. Prueba de patogenicidad de cepas identificadas como *P. parmentieri*. Se inocularon tubérculos de la variedad Puyehue con un inóculo de 10^8 UFC/ml de las cepas sospechosas Pw96A, Pw96B, Pw107 y Pw138, incluyéndose como control positivo una cepa de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (PCC) y otra de *P. atrosepticum* (PCA), además del control testigo inoculado con agua (T H₂O). Este ensayo fue incubado a 27°C por 4 días.

1.2 Metodología de detección y cuantificación desarrollada e implementada.

Estandarización y evaluación de las condiciones óptimas de amplificación de los patógenos detectados.

De acuerdo a los resultados obtenidos a partir de la identificación bacteriana a nivel de especie, se decidió implementar una metodología de cuantificación en tubérculo semilla de papa basado en PCR en tiempo real, utilizando partidores y sondas Taqman que detecten y cuantifiquen todas las especies de *Pectobacterium* y *Dickeya*, descritos por Humphris *et al.*, 2015 (Cuadro 6). Estos permiten obtener un resultado que abarque a las dos especies bacterianas predominantes en la zona sur, siendo más confiable y práctico de analizar al momento de procesar muestras de tubérculos de papa.

La metodología también incluyó un par de partidores y sonda que amplifican un fragmento del gen de la citocromo oxidasa de papa. Estos son utilizados como un control interno

positivo que brinda confiabilidad en la reacción de PCR, ya que ayuda a detectar posibles falsos negativos en las muestras a causa de inhibidores de la reacción de PCR.

La técnica fue inicialmente estandarizada en el laboratorio hasta conseguir las condiciones adecuadas de amplificación utilizando un panel de ADN de bacterias de referencia y muestras de ADN de papa. Las condiciones de PCR óptimas para la amplificación se muestran en el Cuadro 7.

Cuadro 6. Partidores y sondas seleccionadas para técnica de qPCR.

Organismo a detectar	Partidor/sonda	Secuencia (5'-3')	Referencia
<i>Pectobacterium</i> y <i>Dickeya</i> spp.	PEC-1F	GTGCAAGCGTTAATCGGAATG	Brierley, et al. 2008.
	PEC-1R	CTCTACAAGACTCTAGCCTGTCAGT TTT	
	PEC-P	CTGGGCGTAAAGCGCACGCA	
Potato (gen citocromo oxidasa)	COX-F	CGTCGCATTCCAGATTATCCA	Weller, et al. 2000
	COX-R	CAACTACGGATATATAAGAGCCAA AACTG	
	COX-P	TGCTTACGCTGGATGGAATGCCCT	

*PEC-P fue marcada con 6-FAM, mientras que COX-P con HEX, ambas en 5'.

Cuadro 7. Condiciones de amplificación óptimas para la cuantificación de *Pectobacterium* spp.

Reactivos	Concentración requerida	Volumen requerido por reacción (µl)	Perfil térmico
2X Takyon rox probe Master mix	1x	10	Etapa 1: 95°C – 3 minutos Etapa 2: 40 ciclos 95°C – 5 segundos 60°C – 40 segundos
Primer PEC-1F	0,3 µM	0,6	
Primer PEC-1R	0,3 µM	0,6	
Sonda PEC-P	0,1 µM	0,4	
Primer COX-F	0,3 µM	0,6	
Primer COX-R	0,3 µM	0,6	
Sonda COX-P	0,1 µM	0,4	
Agua		4,8	
ADN	10 ng/µl	2	
Volumen de reacción: 20 µl			

Determinación del nivel de sensibilidad de la técnica de cuantificación y validación de técnica bajo condiciones de laboratorio.

Para determinar el nivel de sensibilidad de la técnica de cuantificación fue necesario conocer la relación que existe entre la curva de calibración de ADN utilizada para cuantificar la cantidad de ADN en una muestra por PCR en tiempo real y el conteo de UFC (unidades formadoras de colonia) de *Pectobacterium* en placa de cultivo.

Para elaborar la curva estándar a utilizar en la PCR se cultivó una cepa de referencia de *P. atrosepticum* en medio LB a 27° C con agitación por 18 horas hasta obtener una absorbancia de 0.4 equivalente a una densidad bacteriana de 1×10^8 ufc/ml. Se realizó la extracción de ADN a partir de 5 ml del cultivo inicial utilizando kit comercial según las instrucciones del fabricante. Este ADN fue cuantificado en equipo Nanoquant, para conocer la concentración de ADN presente y luego preparar las diluciones seriadas que fueron los puntos de la curva estándar de cuantificación elaborada.

Paralelamente, se prepararon diluciones seriadas del cultivo en base 10 desde 10^{-1} a 10^{-10} , las cuales fueron plaqueadas en triplicado en agar Kelman e incubadas a 27°C por 48h para determinar las UFC totales promedio.

En la figura 5, se muestra la curva estándar de cuantificación elaborada utilizando una cepa de referencia de *P. atrosepticum*. Según los datos de R^2 (0.99964) existe una buena linealidad de la curva, además de una buena eficiencia de amplificación dado por el valor de la pendiente ($M=-3.371$), siendo de 98%. Se observa que el mínimo nivel de detección de ADN recae en la dilución -8, correspondiente a 3.2 fg de ADN *Pectobacterium*/μl, con un Ct de 37, valores que se encuentran dentro del rango en otras publicaciones.

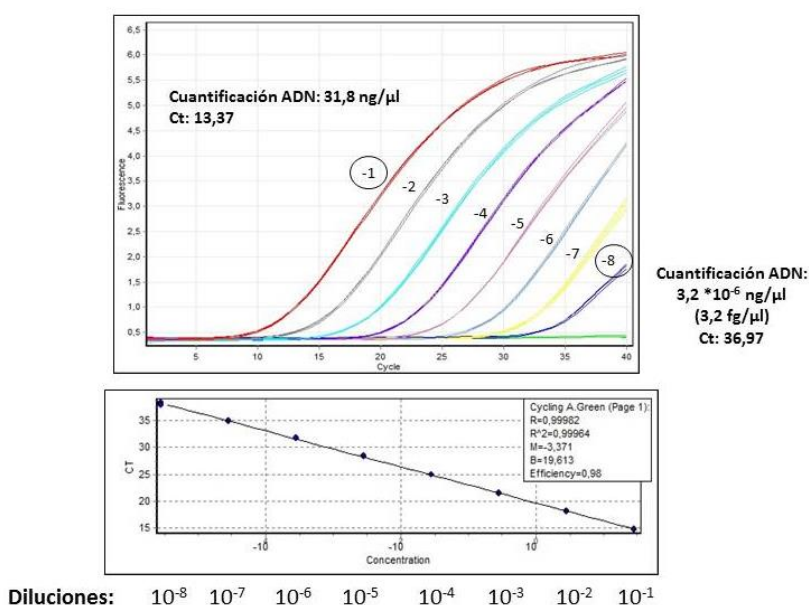


Figura 5. Curva estándar para cuantificación de *Pectobacterium* spp. mediante PCR en tiempo real. Se muestra el mínimo nivel de detección en la dilución -8, correspondiente a 3.2 fg de ADN *Pectobacterium*/μl, con un Ct de 37. En el gráfico inferior se muestran datos de linealidad y eficiencia de la reacción.

En la Figura 6, se muestra la densidad bacteriana (UFC/ml) con respecto a las diluciones seriadas preparadas. Al igual que la reacción de qPCR, se observaron colonias de *Pectobacterium* hasta la dilución -8. En esta última, de las 3 placas sembradas, hubieron colonias solo en 2, mientras que en la misma dilución analizada por qPCR, fueron todas positivas, lo que indica una mayor sensibilidad de la técnica de amplificación por PCR.

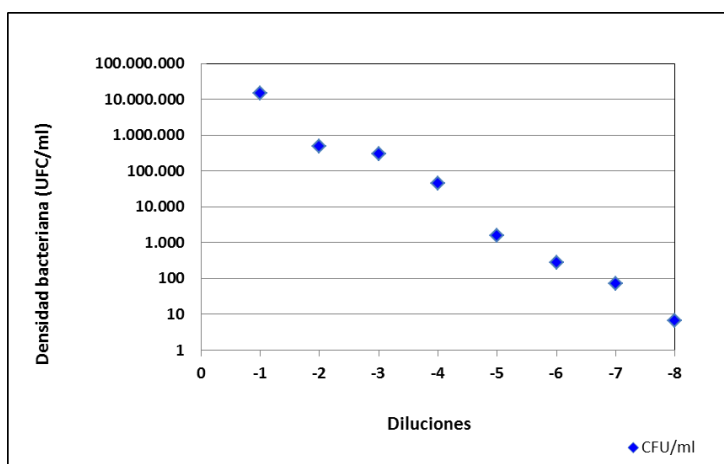


Figura 6. Densidad bacteriana presente en cada dilución seriada en base 10 preparada.

En la Figura 7 se muestra la relación entre la curva estándar de ADN utilizada en la PCR y conteo celular de *Pectobacterium* en placa. Se observa que la cantidad de ADN y densidad bacteriana van disminuyendo conforme aumenta la dilución, mientras que el valor de Ct para cada punto de la curva va en aumento a medida que se va disminuyendo la cantidad de ADN agregada a la reacción (Cuadro 8).

Es de conocimiento que el desarrollo de Pie Negro y Pudriciones blandas están relacionadas con el nivel de contaminación bacteriana de la semilla, según lo reportado en literatura, la expresión de la enfermedad se da cuando se obtiene un valor sobre 10^3 de UFC/ml de *Pectobacterium* en el extracto (Bain et al., 1990; Pérombelon 2000; Toth et al., 2003), estos valores nos ayudaron a determinar los rangos de riesgo de trabajo.

Se logró implementar una metodología para detectar *Pectobacterium* spp. basada en PCR en tiempo real utilizando sondas Taqman, con un mínimo nivel de detección 3.2 fg/ μ l con un valor de Ct de 37, coincidiendo con el mínimo número de bacterias detectadas en medios de cultivo.

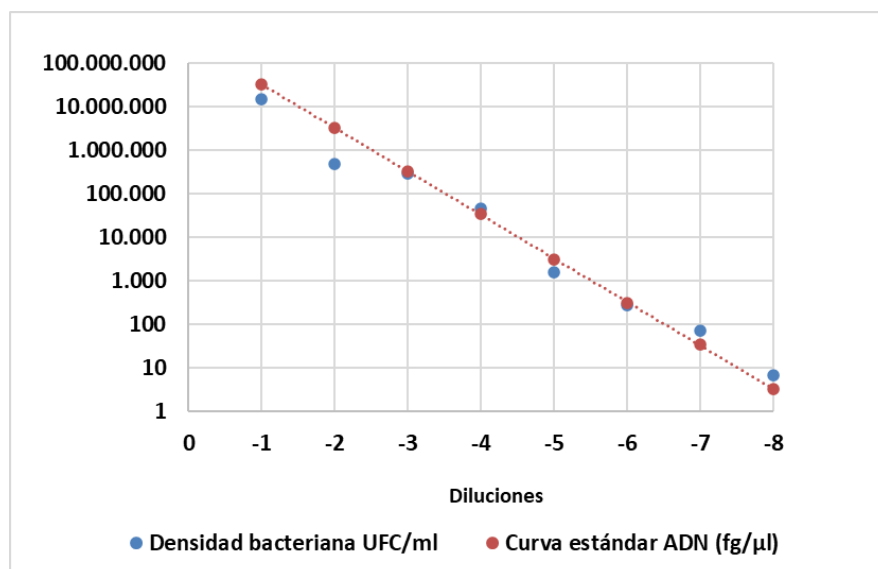


Figura 7. Relación entre la curva de ADN estándar utilizada en la PCR y la densidad bacteriana para cada dilución.

Cuadro 8. Relación obtenida entre cuantificación de *Pectobacterium* mediante qPCR y el conteo celular total en placa.

Dilución caldo	Dilución ADN	Ct qPCR	Cuantificación ADN <i>Pectobacterium</i> (fg/μl)	Densidad bacteriana UFC/ml	Riesgo
-1	-1	13,37	3,2E+07	1,5E+07	Alto
-2	-2	16,69	3,3E+06	5,0E+05	
-3	-3	20,04	3,4E+05	3,0E+05	Intermedio
-4	-4	23,4	3,4E+04	4,6E+04	
-5	-5	26,88	3,1E+03	1,6E+03	Bajo
-6	-6	30,26	3,1E+02	2,8E+02	
-7	-7	33,51	3,4E+01	7,0E+01	
-8	-8	36,97	3,2E+00	6,7E+00	

*Valores de riesgo basados en valor de UFC/ml obtenidos desde literatura: Bain et al., 1990; Pérombelon 2000; Toth et al., 2003).

El siguiente paso fue evaluar la metodología utilizando muestras reales de piel de tubérculo de papa. Para validar la matriz, se inocularon al vacío minitubérculos del cultivar Pukará libres de *Pectobacterium* spp. con distintas cantidades de inóculo bacteriano (5.8×10^8 UFC/ml) desde una dilución 10^0 a 10^{-7} usando una cepa de referencia de *P. atrosepticum*. Como controles se adicionó inoculación con agua y minitubérculos sin inoculación, totalizando 10 tratamientos con 3 repeticiones cada uno, donde cada repetición consistió en 3 unidades de minitubérculos.

Posteriormente, estos minitubérculos fueron procesados para extracción de ADN y determinación de UFC/g piel, de acuerdo a protocolos reportados en informes técnicos anteriores.

Cuadro 9. Tratamientos utilizados en ensayo de inoculación de minitubérculos.

Tratamiento	Diluciones
T1	Minitubérculos sin inoculación
T2	Minitubérculos inoculados con agua destilada autoclavada.
T3	Minitubérculos inoculados con 10^{-7} ($5.8 \cdot 10^1$)
T4	Minitubérculos inoculados con 10^{-6} ($5.8 \cdot 10^2$)
T5	Minitubérculos inoculados con 10^{-5} ($5.8 \cdot 10^3$)
T6	Minitubérculos inoculados con 10^{-4} ($5.8 \cdot 10^4$)
T7	Minitubérculos inoculados con 10^{-3} ($5.8 \cdot 10^5$)
T8	Minitubérculos inoculados con 10^{-2} ($5.8 \cdot 10^6$)
T9	Minitubérculos inoculados con 10^{-1} ($5.8 \cdot 10^7$)
T10	Minitubérculos inoculados con 10^0 ($5.8 \cdot 10^8$)

Como resultado, se obtuvo que la cuantificación de ADN de *Pectobacterium* en minitubérculos incrementó conforme aumentó la densidad bacteriana de inoculación. Las amplificaciones de PCR se comenzaron a detectar a partir del tratamiento T5, en el cual a su vez fue posible observar las primeras apariciones de UFC en las placas, con valores de 14 fg ADN/g piel y 67 UFC/g piel, respectivamente.

Cabe destacar, que al analizar la reacción de PCR para la citocromo oxidasa de papa, hubo amplificación en todos los tratamientos, indicando que no hubo inhibición de la reacción, además de no existir inconvenientes con el procesamiento de muestras y extracción de ADN desde piel de tubérculo de papa.

Al realizar un análisis de correlación de variables, se obtuvo una correlación positiva entre la cantidad de inóculo bacteriano en los minitubérculos y la cuantificación bacteriana por qPCR (Pearson correlation: R: 0.91). Lo cual podría indicar que esta metodología es adecuada para determinar la calidad de semilla bajo un enfoque de manejo integrado.

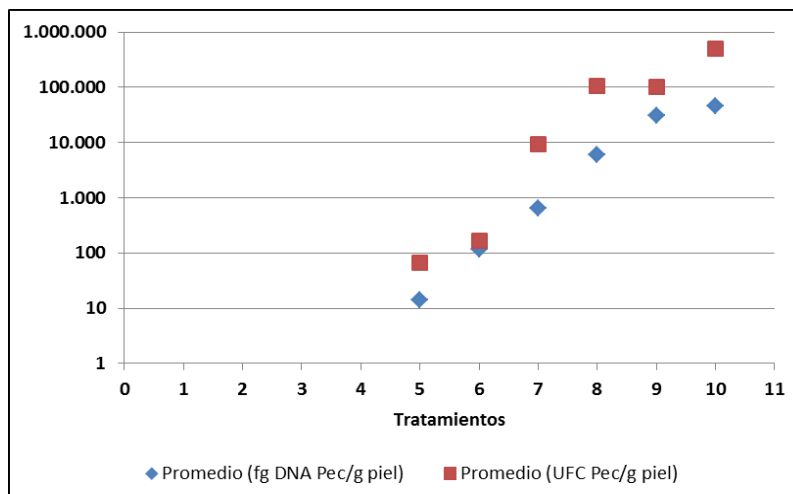


Figura 8. Relación obtenida entre ADN de *Pectobacterium* por gramo de piel y las UFC por gramo de piel.

Así, el testeo de tubérculos infectados con distintos niveles de inóculo bacteriano, arrojó que la cuantificación de ADN de *Pectobacterium* incrementó conforme aumentó la densidad bacteriana aplicada, indicando que esta herramienta molecular permite discriminar distintas cantidades de bacterias en las semillas con una buena sensibilidad y especificidad. La validación de la técnica se ha realizado evaluando lotes de semillas destinadas a plantación, así, lotes con un bajo nivel de contaminación, indicaron una buena calidad de semilla, con una baja expresión de la enfermedad en campo (más detalles en Anexo 3).

A continuación, se presenta un esquema general de la metodología de cuantificación implementada durante el proyecto.

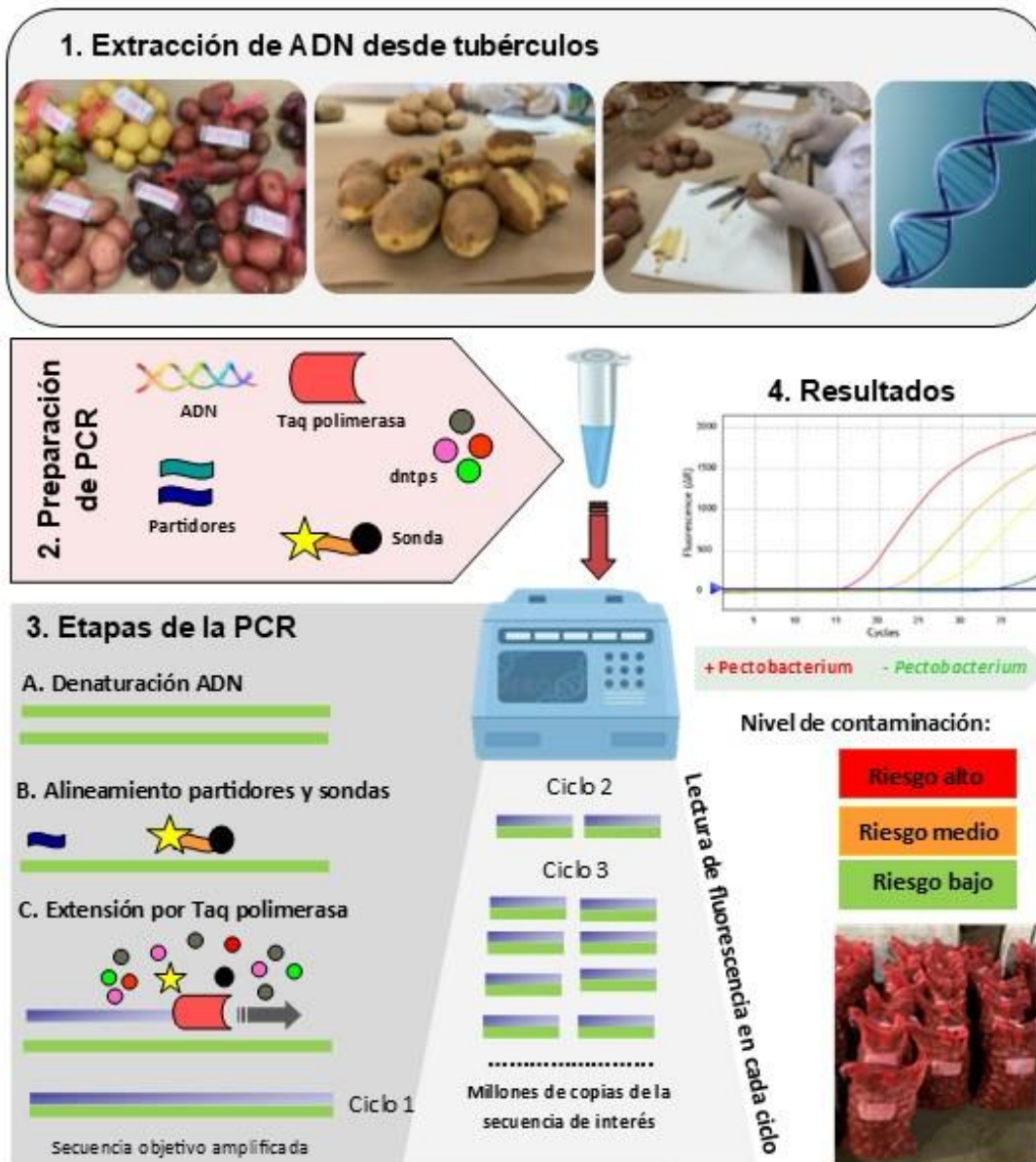


Figura 9. Esquema de metodología de cuantificación mediante qPCR en tubérculo semilla de papa.

ANEXO 2:

Objetivo 2. Desarrollar un paquete de manejo integrado basado en la expresión del PIL según manejo agronómico.

Resultados esperados:

2.1. Susceptibilidad relativa a enfermedades bacterianas de los principales cultivares comerciales.

Durante el desarrollo del proyecto se realizó la evaluación de la susceptibilidad varietal mediante la inoculación de tubérculos de diferentes cultivares comerciales y líneas avanzadas de papa, con aislamientos de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc) y *Pectobacterium atrosepticum* (Pca). En un primer experimento se consideró 16 variedades y 2 líneas avanzadas inoculadas con Pca, para en una segunda evaluación considerar 13 cultivares comerciales, 7 variedades nativas y 7 líneas avanzadas inoculadas con Pcc y con Pca.

Los tubérculos de cada cultivar fueron lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio al 5% y secados al aire. Posteriormente los tubérculos se partieron por la mitad y se pusieron en cajas plásticas con papel húmedo al fondo. A cada mitad se les realizó un orificio con un sacabocado de 5 mm de diámetro en la parte central. En el orificio se puso 150 µL de una concentración bacteriana de 1×10^4 UFC/ml, se consideró un testigo solo con agua. Se utilizó aislamientos de cada una en forma independiente. Las cajas se cerraron y se incubaron a 20°C por 5 días.

A los 5 días, se evaluó el tejido podrido, basado en el volumen de pudrición. Para esto se sacó todo el tejido blando desde los tubérculos, y el orificio formado se rellenó con agua, cuantificando el volumen necesario para rellenar este orificio (Foto 1).

Se utilizó un diseño de bloques completo al azar, donde cada caja contenía todas las variedades. Se realizaron 10 repeticiones para cada variedad y para cada especie de bacteria.



Foto 1. Tejido podrido en rodajas de papa de diferentes variedades, inoculados con *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc) y *P. atrosepticum* (Pca).

Los resultados de susceptibilidad varietal a pudriciones blandas y tejido podrido se muestran en las Figuras 1 y 2. Se observa que el cultivar más susceptible a pudrición blanda fue Patagonia, seguido de Atlantic y Cornado, mientras que las más resistentes fueron Romano, Infinity y Red Sonia en la primera evaluación con Pca (Figura 1). En la Figura 2 se observa el resultado de las inoculaciones con ambas bacterias, se puede observar que se presentan diferencias en la susceptibilidad en tubérculos de las variedades evaluadas según la especie de *Pectobacterium* con que se inoculó, así por ejemplo Pukará muestra una mayor susceptibilidad a Pca que a Pcc, mientras Asterix es todo lo contrario. En general los cultivares muestran mayor desarrollo de pudriciones con Pcc que con Pca, pero mantienen su susceptibilidad relativa a las pudriciones blandas. En cuanto a las variedades nativas, estas muestran una baja susceptibilidad a pudriciones, a excepción de Cabrita que se encuentra en un rango medio. Estas evaluaciones nos permiten concluir que hay variedades que muestran mayor sensibilidad a las pudriciones blandas, por ejemplo Agata, Cornado y Atlantic, por lo que este es un factor importante a considerar en un paquete de manejo integrado.

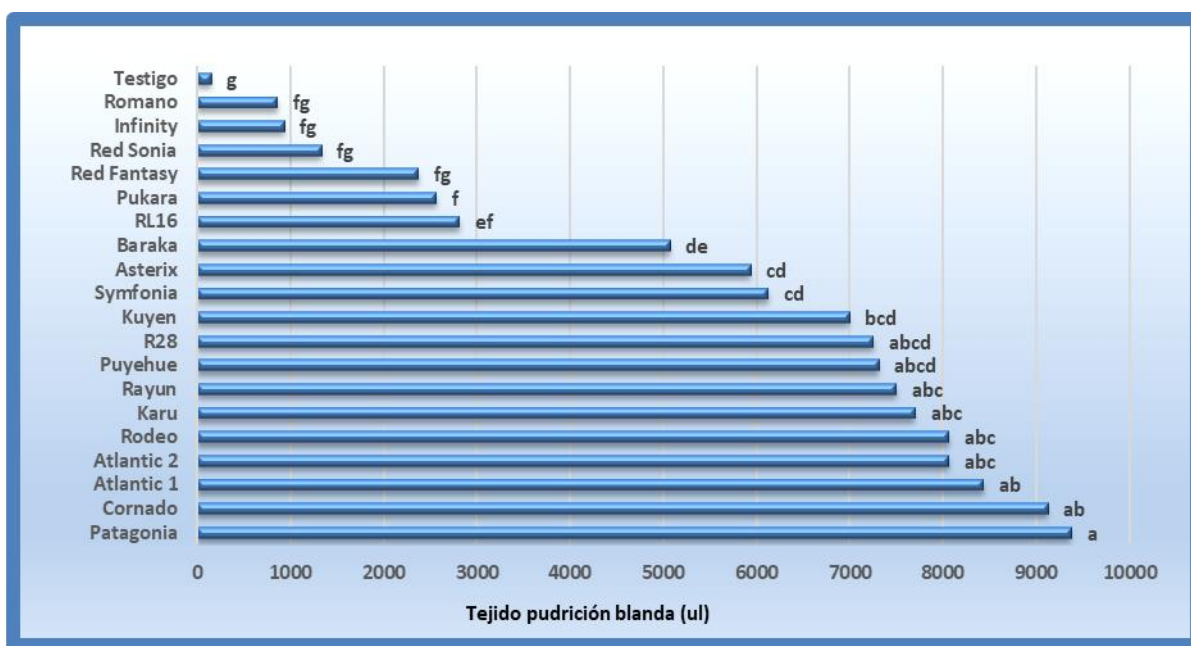


Figura 1. Susceptibilidad de cultivares comerciales a pudrición blanda causada por *P. atrosepticum*.

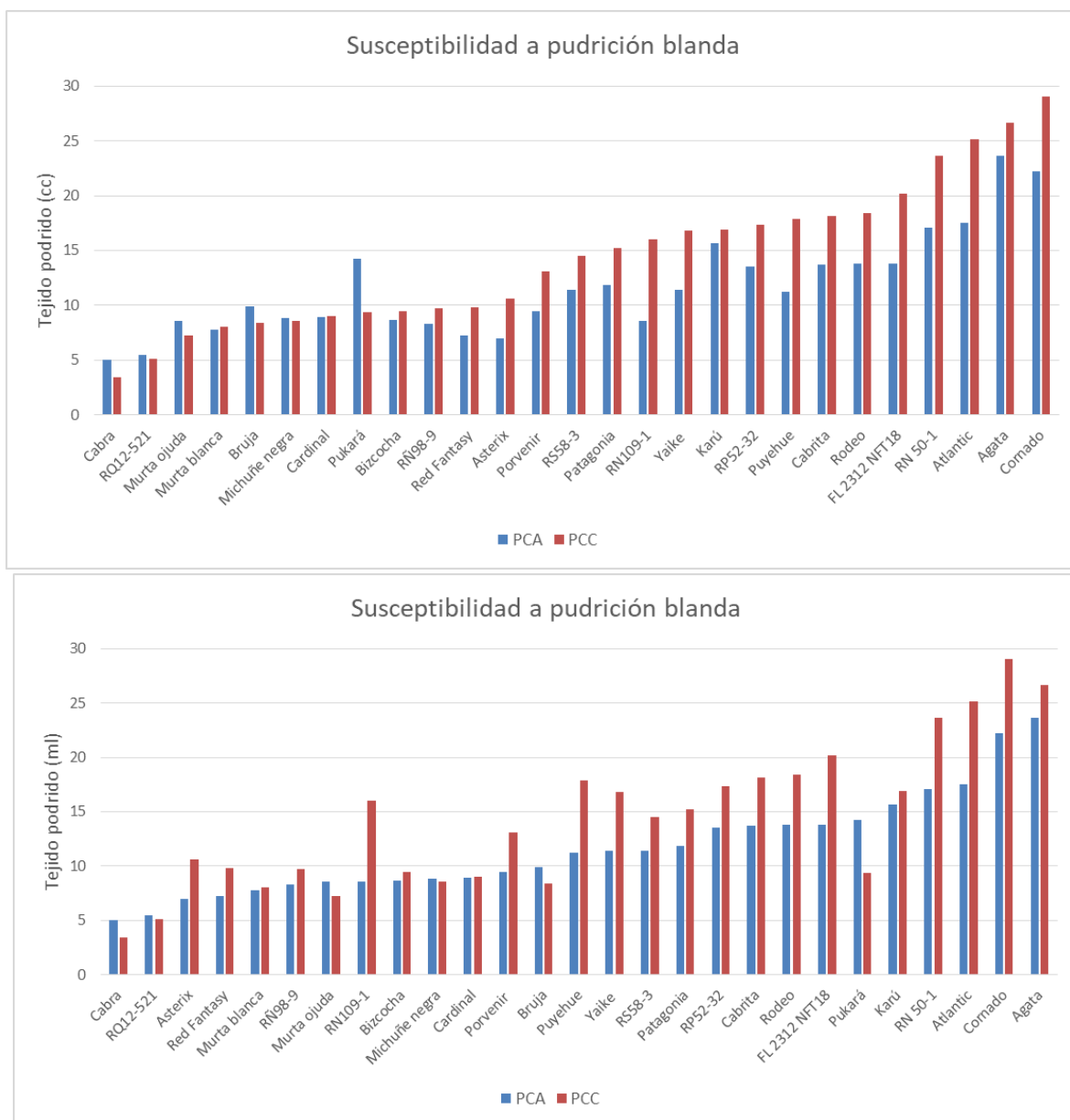


Figura 2. Susceptibilidad a pudrición blanda de tubérculos de papa inoculados con *P. carotovorum subsp. carotovorum* y *P. atrosepticum*. Arriba ordenado de mayor a menor por susceptibilidad a Pcc, y en de gráfico de abajo a Pca.

2.2 Efecto del manejo productivo sobre la cuantificación del potencial de infección en tubérculos e incidencia de pie negro y pudriciones blandas determinado.

Se describen varios factores de importancia que favorecen la expresión de pie negro y pudriciones blandas en el cultivo de papa, entre los que se destacan la calidad de semilla, susceptibilidad varietal, exceso de humedad en el suelo y la fertilización, especialmente contenido de Calcio en el tubérculo, el cual favorece la resistencia a golpes en los tubérculos y a pudriciones blandas.

Para evaluar la importancia e interacción de los diferentes factores involucrados en la expresión de la enfermedad relacionados a manejo productivo, durante el transcurso de este proyecto se llevaron a cabo varios experimentos de campo. En la temporada 2017-18 se evaluó el efecto del riego, Calcio y Nitrógeno en la expresión de *Pectobacterium* con el cultivar Pukará. Para estos experimentos, los tubérculos semilla utilizados fueron inoculados al vacío con una cantidad conocida de bacteria para homogeneizar la carga bacteriana por tubérculo.

En este experimento se pudo apreciar que la severidad de daño presentaron diferencias significativas para el factor calcio y adicionalmente en riego. En calcio el tratamiento con una aplicación de 4 t/ha manifestó mayor porcentaje de tubérculos sanos con un valor de 48,41% en contraste a un 35,45% en ausencia de la aplicación de calcio, el índice de daño por pudriciones también expresó esta diferencia alcanzando significativamente un mayor valor en ausencia de la aplicación de calcio. Por parte el riego, al existir una condición más húmeda en goteo se manifestó mayores pudriciones donde fueron significativamente superiores al tratamiento a secano. En el efecto aislado de nitrógeno no se apreciaron diferencias significativas. En el efecto de interacción de los factores solamente se observaron diferencias en la interacción riego*calcio, donde el tratamiento con Goteo y sin aplicación de calcio muestra un mayor porcentaje de plantas enfermas (70%) en comparación a goteo y calcio o la condición de secano (50%) (Cuadro 1).

Se podría inferir que el efecto que logra aumentar la protección frente a los ataques de *Pectobacterium* spp. es una aplicación de calcio en una condición de humedad. Sin embargo, la presencia de la enfermedad fue alta en los otros casos también.

Adicionalmente, al evaluar la resistencia de estos tubérculos a las pudriciones blandas, se observa que los tubérculos que se cultivaron bajo condiciones de riego presentaron una mayor susceptibilidad a pudriciones blandas, mostrando una mayor cantidad de tejido dañado en esta evaluación. A su vez no se detectan diferencias entre los tratamientos que están bajo riego, tampoco los que están bajo secano. Sin embargo, se puede observar interacción entre los tratamientos que están bajo riego y secano y el uso de Ca, donde la ausencia de Ca bajo condiciones de riego mostro un mayor daño (Cuadro 2).

Cuadro 1. Porcentaje de plantas sanas y con sintomatología causadas por acción de *Pectobacterium* spp bajo efectos de interacciones de riego*calcio, riego*nitrógeno y calcio*nitrógeno a los 111 días post plantación. En el experimento de efecto del riego, Calcio y Nitrógeno en la expresión de *Pectobacterium* en papa, Temporada 2017-18. INIA Remehue.

Población de plantas con Pie Negro y Pudrición (%)						
Tratamientos			Sanas		Con Pie Negro o Pudrición	
1	Goteo	Sin Calcio	29,58	b	70,42	a
2		Calcio 4 Ton/ha	50,00	a	50,00	b
3	Secano	Sin Calcio	42,50	a	57,50	b
4		Calcio 4 Ton/ha	47,08	a	52,92	b
Coef. Var.			9,3		11,5	
Prueba de F			5,8		5,8	
Probabilidad			0,0325		0,0325	
LSD			11,591		11,591	
1	Goteo	Sin Nitrógeno	41,67	ns	58,33	ns
2		Nitrógeno 250 Kg/ha	35,55		64,50	
3	Secano	Sin Nitrógeno	43,33		56,67	
4		Nitrógeno 250 Kg/ha	47,00		53,00	
Coef. Var.			9,3		11,5	
Prueba de F			1,7		1,7	
Probabilidad			0,2159		0,2159	
LSD			-		-	
1	Sin Calcio	Sin Nitrógeno	34,58	ns	65,41	ns
2		Nitrógeno 250 Kg/ha	36,50		63,50	
3	Calcio 4 Ton/ha	Sin Nitrógeno	50,41		49,58	
4		Nitrógeno 250 Kg/ha	46,00		54,00	
Coef. Var.			9,3		11,5	
Prueba de F			2,5		2,5	
Probabilidad			0,1404		0,1404	
LSD			-		-	

Cuadro 2. Resistencia a pudriciones blandas en tubérculos de papa cultivados bajo diferentes combinaciones de Calcio y Nitrógeno al suelo. INIA Remehue 2017-18.

Tratamientos	Tejido dañado (ul)	
Secano Nitrógeno	1637,5	A
Secano Calcio	2130,0	A
Secano Calcio + Nitrógeno	3750,0	A B
Riego Calcio	4000,0	A B
Secano testigo sin fertilización	4075,0	A B
Riego Calcio + Nitrógeno	4160,0	A B
Riego testigo sin fertilización	5350,0	B
Riego Nitrógeno	5750,0	B

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

Durante la temporada 2018-19 se repitió este experimento, pero ahora considerando el factor varietal en el paquete tecnológico, se utilizaron 2 cultivares de papa Asterix y Desireé.

Sin embargo, en este experimento no se detectó diferencias para la interacción de variedad, riego, fertilización (Cuadro 3). Pero, nuevamente se observa que los tratamientos con Ca presentan un menor índice de daño por pudrición blanda en campo (Cuadro 4).

No obstante, al inocular tubérculos progenie de plantas de cada tratamiento, no se observaron diferencias significativas en cuanto a la susceptibilidad a pudrición blanda (Cuadro 5).

Cuadro 3. Índice de daño por pudrición blanda en campo de tratamientos con interacción de irrigación, cultivar y fertilización. INIA Remehue. 2018-19.

Índice de Daño				
Cultivar	Irrigación	Tratamiento	30-01-2019	
Asterix	Riego	Calcio + Nitrógeno	0,38	ns
		Calcio	0,5	
		Nitrógeno	0,34	
		Testigo sin Fertilización	0,44	
	Secano	Calcio + Nitrógeno	0,39	
		Calcio	0,25	
		Nitrógeno	0,78	
		Testigo sin Fertilización	0,74	
Desiree	Riego	Calcio + Nitrógeno	1,38	
		Calcio	1,21	
		Nitrógeno	2,34	
		Testigo sin Fertilización	2,18	
	Secano	Calcio + Nitrógeno	1,63	
		Calcio	1,94	
		Nitrógeno	1,94	
		Testigo sin Fertilización	2,39	
CV				
Estadístico F			2,45	
p -value			0,0793	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5% LSD. ns: estadísticamente no significativo, p=0.05.

Cuadro 4. Índice de daño por pudrición blanda en campo de tratamientos según la fertilización. INIA Remehue, 2018-19.

Tratamiento	30-01-2019	
Calcio + Nitrógeno	0,95	b
Calcio	0,97	b
Nitrógeno	1,35	a
Testigo sin Fertilización	1,43	a
Estadístico F	4,4	
P -Value	0,0098	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5% LSD. ns: estadísticamente no significativo, p=0.05.

Cuadro 5. Índice de daño en tubérculos por pudrición blanda obtenido tras la interacción entre el cultivar y los tratamientos de irrigación y fertilización. INIA Remehue 2018-19.

Índice de daño en tubérculos								
Cultivar	Irrigación	Tratamiento	PIL		%TP		ID	
Asterix	Secano	Calcio + Nitrógeno	0,73	ns	5,34	ns	4,38	ns
		Calcio	0,92		9,47		6,75	
		Nitrógeno	0,9		6,54		5,85	
		Testigo sin Fertilización	0,96		6,73		8,62	
	Riego	Calcio + Nitrógeno	0,64		2,23		2,88	
		Calcio	0,62		2		2,58	
		Nitrógeno	0,5		0,93		1,98	
		Testigo sin Fertilización	0,65		3,11		2,98	
Desiree	Secano	Calcio + Nitrógeno	0,48		1,59		2,42	
		Calcio	0,27		8,76		1,5	
		Nitrógeno	0,56		2,51		3,58	
		Testigo sin Fertilización	0,41		4,7		4,38	
	Riego	Calcio + Nitrógeno	0,4		1,44		2,44	
		Calcio	0,47		1,1		2,44	
		Nitrógeno	0,48		1,8		2,56	
		Testigo sin Fertilización	0,46		2,33		2,73	
Estadístico F			1,9		0,2		1,15	
p –value			0,147		0,8957		0,3409	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5% LSD.

ns: estadísticamente no significativo, p=0,05.

Como una forma de corroborar la información obtenida la temporada anterior, en la temporada 2019-20 se estableció un experimento de campo nuevamente, pero con 3 cultivares de diferente susceptibilidad: Desiree, Karú y Pukará.

Se puede comentar que el factor riego, el goteo muestra un mayor índice de daño, frente al secano más avanzada la temporada (Cuadro 6). También que el cultivar Pukará mostró un mayor daño de *Pectobacterium* que Desiree y Karú (Cuadro 7) y que los tratamientos con fertilización N y Ca muestran un menor daño que el tratamiento sin fertilización (Cuadro 8). Estos resultados no dejan claro el efecto de la interacción N y Ca en la disminución de la expresión en condiciones de campo, insinuando una variabilidad de acuerdo a la temporada en la que se evaluó.

El cuadro 9 exhibe la susceptibilidad a pudriciones blandas de los tubérculos progenie de cada tratamiento. En general no se observó efecto de la interacción cultivar y fertilización, excepto para condiciones de secano e inóculo con Pcc, donde Karú y Desiree no muestra diferencias bajo los diferentes tratamientos, pero Pukará muestra menos pudrición con la fertilización de calcio más nitrógeno.

Se observa diferencias de susceptibilidad varietal, donde Pukará tiene un mejor comportamiento que Karú y Desiree, tanto en riego como en seco para la inoculación con Pca, y en seco con Pca y Pcc. Sin embargo, no se detectaron diferencias para los tratamientos con fertilización bajo las diferentes condiciones hídricas, excepto en la inoculación con Pca en seco, donde la fertilización con calcio y calcio + nitrógeno, tiende a mostrar menor daño (Cuadro 9 y Figura 3).

Adicionalmente, se observa que Pcc tiende a desarrollar más daño que Pca y que los tubérculos bajo condiciones de riego desarrollaron más pudrición (Figura 3). Sin embargo, se deben hacer más evaluaciones para esta aseveración. En general se puede comentar que el cultivar Pukará muestra una menor susceptibilidad a las pudriciones blandas y que el uso de Calcio podría tener un efecto en disminuir esta susceptibilidad.

Dado esto, se realizará un nuevo experimento de campo con otras fuentes de calcio de mejor y más rápida absorción en la planta. Se describe que la absorción de Ca por parte de los tubérculos en las plantas de papa dependerá de muchos factores, entre los cuales está la fuente de Ca y el momento de aplicación, ya que el Ca debe estar disponible al momento de inicio de la tuberización.

Cuadro 6. Índice de daño por *Pectobacterium* obtenido para cada estrategia de riego.

Tratamiento	Índice de daño por <i>Pectobacterium</i>							
	17/12/2019		23/01/2020		25/02/2020		AUDPC	
Riego por goteo	1.11	ns	1.42	ns	2.07	b	98.29	ns
Secano	1.12		1.48		1.07	a	106.03	
Estadístico F	0.06		0.53		10.38		2.94	
p-Value	0.825		0.5206		0.0485		0.1851	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5% LSD. ns: estadísticamente no significativo, p=0,05.

Cuadro 7. Índice de daño por *Pectobacterium* obtenido por cada cultivar.

Tratamiento	Índice de daño por <i>Pectobacterium</i>							
	17/12/2019		23/01/2020		25/02/2020		AUDPC	
Desiree	1.23	b	1.35	a	1.47	a	94.38	a
Karú	1.05	a	1.31	a	1.61	a	91.97	a
Pukará	1.06	a	1.69	b	2.51	b	120.13	b
Estadístico F	5.83		15.32		31.4		22.88	
p-Value	0.0171		0.0005		<0.0001		0.0001	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5% LSD. ns: estadísticamente no significativo, p=0,05.

Cuadro 8. Índice de daño por *Pectobacterium* en campo obtenido por cada tratamiento de fertilización.

Tratamiento		índice de daño por <i>Pectobacterium</i>							
		17/12/2019		23/01/2020		25/02/2020		AUDPC	
Calcio + nitrógeno	4 t/ha + 250 kg/ha	1.12	ab	1.44	a	1.8	ab	100.64	ab
Calcio	4 t/ha	1.11	ab	1.45	a	1.88	b	102.2	b
Nitrógeno	250 kg/ha	1.07	a	1.35	a	1.71	a	95.26	a
Testigo sin Fertilización	-	1.16	b	1.58	b	2.06	c	110.54	c
Estadístico F		2.85		6.08		8.86		8.4	
p-Value		0.0456		0.0012		0.0001		0.0001	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5% LSD.
ns: estadísticamente no significativo, p=0,05.

Cuadro 9. Resistencia a pudriciones blandas en tubérculos por tratamiento en 3 cultivares de papa, bajo riego y secano.

Cultivar	Tratamientos	Tejido podrido (ul)				Tejido podrido (ul)			
		Secano Inóculo Pca		Secano Inóculo Pcc		Riego Inóculo Pca		Riego Inóculo Pcc	
Desirée	Calcio + nitrógeno	5035,0	ns	8000,0	ab	6175,0	ns	11000,0	ns
Desirée	Calcio	6422,0		7300,0	ab	9542,5		12400,0	
Desirée	Nitrógeno	6540,0		6675,0	b	9850,0		13450,0	
Desirée	Testigo sin Fertilización	5900,0		6875,0	b	8425,0		11350,0	
Karú	Calcio + nitrógeno	7085,0		8750,0	a	8690,0		14450,0	
Karú	Calcio	6532,0		7725,0	ab	8975,0		10925,0	
Karú	Nitrógeno	8165,0		8250,0	ab	7775,0		12350,0	
Karú	Testigo sin Fertilización	6827,0		7775,0	ab	7425,0		11975,0	
Pukará	Calcio + nitrógeno	290,0		550,0	e	2265,0		10200,0	
Pukará	Calcio	3027,0		3385,0	cd	2175,0		11625,0	
Pukará	Nitrógeno	3832,0		4135,0	c	1500,0		10475,0	
Pukará	Testigo sin Fertilización	4347,0		2170,0	de	2225,0		10225,0	
Desirée		5974,4	a	7212,5	a	8498,0	a	12050	ns
Karú		7152,5	a	8125	a	8216,0	a	12425	
Pukará		2874,4	b	2560	b	2041,0	b	10631,3	
Calcio + nitrógeno		4136,7	b	5766,7	ns	5710	ns	11883,3	ns
Calcio		5327,5	ab	6136,7		6897,5		11650,0	
Nitrógeno		6179,2	a	6353,3		6375		12091,7	
Testigo sin Fertilización		5691,7	a	5606,7		6025		11183,3	
CV		77.49		47.29		61.80		39.3	
Factor F		var: 25.83; trat:2.66; var*trat 1.15		var:61.46; trat:0.87; var*trat: 3.36		var:22.91; trat:1.04; var*trat: 1.79		var:3.48; trat:0.43; var*trat: 1.61	
Probabilidad		var: 0.001; trat:0.0491; var*trat: 0.3352		var: 0.001; trat:0.4554; var*trat: 0.0035		var: 0.0001; trat:0.3754; var*trat: 0.1033		var: 0.0529; trat:0.7306; var*trat: 0.1455	

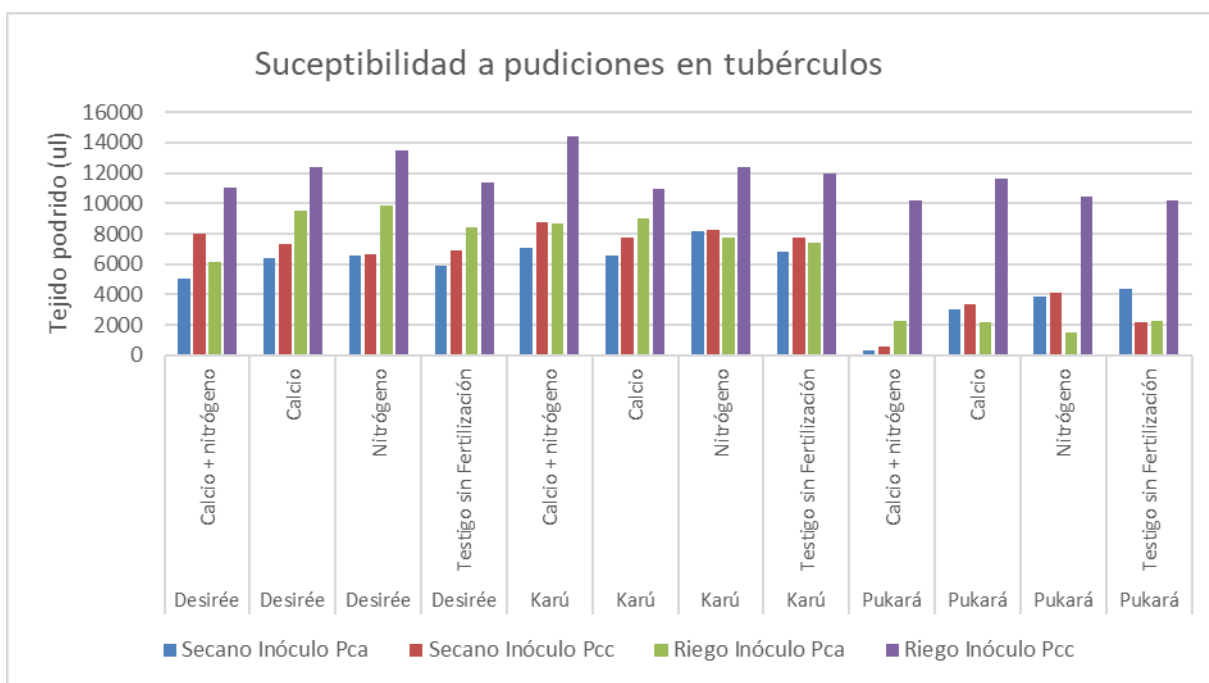


Figura 3. Efecto de los tratamientos sobre la susceptibilidad a pudrición blanda, en tubérculos de 3 cultivares de papa bajo riego y secano.

De acuerdo a la literatura, el calcio es un macronutriente que juega un rol importante en el desarrollo y productividad de la papa. La transpiración es la principal fuerza que transporta el calcio en las plantas, el cual se mueve con el agua en el xilema y muy poco hacia los tubérculos, ya que su transpiración es casi nula. Es por ello, que los órganos de baja transpiración, como los tubérculos, padecen deficiencia de calcio. Esto sucede porque los tubérculos al estar rodeados de tierra húmeda transpiran mucho menos que la parte aérea de la planta. Debido a esto, el contenido de calcio en los tubérculos es bajo comparado con hojas y tallos. Una mayor concentración de calcio en los tubérculos se relaciona con una mejor calidad y resistencia a enfermedades que atacan al cultivo. Por otra parte, la deficiencia de este elemento favorece desórdenes fisiológicos, lo que afecta sus cualidades para el procesamiento industrial.

Así, es posible incrementar el contenido de calcio en los tubérculos con aplicaciones de nitrato de calcio (CaNO_3) en el suelo durante el periodo de tuberización, que corresponde a las seis semanas posterior a la emergencia completa del cultivo.

Dado lo anterior, en la temporada 2020-21, se evaluaron diferentes combinaciones de fertilización para determinar su relación con el rendimiento del cultivo y la concentración de calcio en el tejido de los tubérculos. Se utilizó la variedad de papa Pukará-INIA.

El experimento consideró 10 tratamientos en condiciones de riego. El riego fue homogéneamente aplicado después de la emergencia durante el ciclo del cultivo.

Basada en análisis de suelo la fertilización consideró 250 kg N ha⁻¹, 120 kg de Superfosfato triple y 240 kg ha⁻¹ Muriato de potasio. Además, se realizaron tres aplicaciones de boro foliar a los 20, 35 y 50 días post emergencia, para corregir la deficiencia (Cuadro 10).

Cuadro 10. Tratamientos evaluados.

Tratamientos	Aplicación de CaCO_3	N	B	Aplicación de calcio durante tuberización
1 $\text{Ca} + \text{NPK} + \text{B}$	3 t/ha	250 kg/ha	25 kg/ha Boronatrocalcita	0
2 $\text{Ca} + \text{PK}$	3 t/ha	0	0	0
3 NPK	0	250 kg/ha	0	0
4 $\text{PK} + \text{B}$	0	0	25 kg/ha Boronatrocalcita	0
5 $\text{Ca} + \text{NPK}$	3 t/ha	250 kg/ha	0	0
6 $\text{Ca} + \text{PK} + \text{B}$	3 t/ha	0	25 kg/ha Boronatrocalcita	0
7 $\text{NPK} + \text{B}$	0	250 kg/ha	25 kg/ha Boronatrocalcita	0
8 $\text{Ca} + \text{NPK} + \text{B} + 100 \text{ Ca}$	3 t/ha	250 kg/ha	25 kg/ha Boronatrocalcita	100 kg/ha CaNO_3
9 $\text{Ca} + \text{NPK} + \text{B} + 200 \text{ Ca}$	3 t/ha	250 kg/ha	25 kg/ha Boronatrocalcita	200 kg/ha CaNO_3
10 Testigo	0	0	0	0

En la Figura 4, los resultados de rendimiento demostraron un incremento en la productividad en el tratamiento 9, que considera la fertilización en la siembra con NPK y la adición de 200 kg/ha de CaNO_3 durante el periodo de tuberización del cultivo. Esta fertilización aumentó el rendimiento de Pukará-INIA, alcanzando 74,0 t/ha, mientras que el tratamiento 1, que considera encalado, NPK+B, obtuvo un rendimiento de 66,8 t/ha. Por otra parte, el tratamiento 10 (sin fertilización) registró el menor rendimiento (53,8 t/ha). Esto nos indica que el cultivo de la papa es exigente en la fertilización para alcanzar rendimientos óptimos, pero también es posible incrementar esta productividad mediante estrategias en la fertilización.

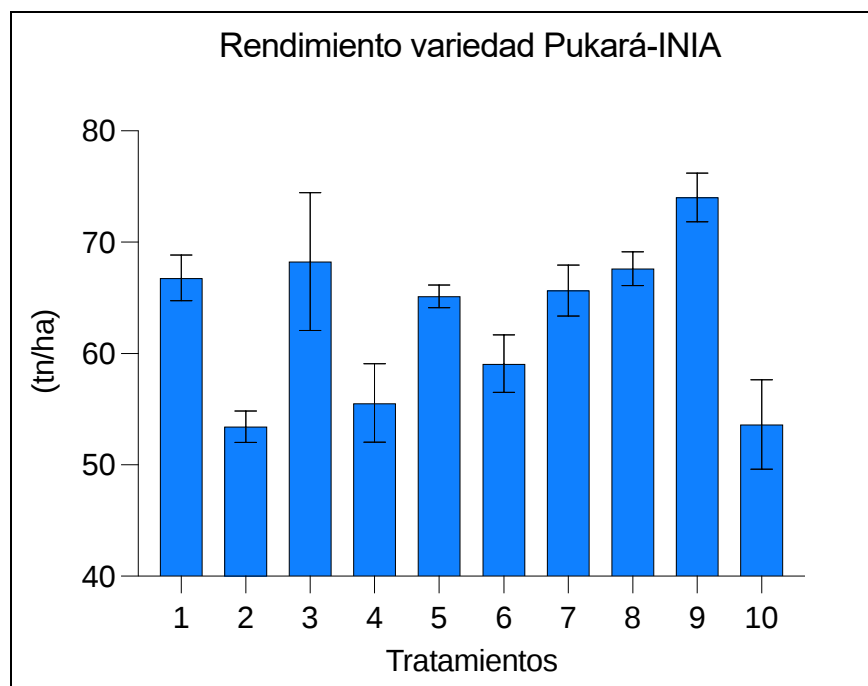


Figura 4. Rendimiento para cada tratamiento. INIA Remehue, Temporada 2020-21.

La misma tendencia se observó en la Figura 5, que indica la concentración de calcio en los tubérculos, siendo superior en los tratamientos 8 y 9 que consideran aplicaciones a las seis semanas después de la emergencia de 100 y 200 kg/ha de CaNO_3 , respectivamente.

Los resultados también indican que aplicaciones de CaCO_3 como encalado, como lo ocurrido en el tratamiento 2, no son efectivas incrementando la concentración de calcio en los tubérculos (182 mg/kg de Ca). Por otra parte, se estima que concentraciones de calcio superiores a 250 (mg/kg) presentan una baja incidencia (< 10%) a daño por golpe durante la cosecha y el almacenamiento. Esto último podría también reducir el daño por *Fusarium* y pudriciones blandas causadas por *Pectobacterium*, ya que las heridas y golpes son puntos de ingreso de estos patógenos. En la Figura 6 se observa que la mayor concentración de calcio se relacionó con los mayores rendimientos del cultivo durante la temporada de estudio. Esto demuestra que la fertilización deficiente limita la productividad de la papa, demostrando además que el calcio es importante para el cultivo.

Adicionalmente, las Figura 7 y 8 muestran que los tubérculos que presentaron mayor contenido de Ca, también mostraron una menor susceptibilidad a las pudriciones blandas causadas por *Pectobacterium* spp.

Se puede concluir que al combinar la fertilización en la siembra con la aplicación de calcio durante el periodo de tuberización, es posible incrementar el rendimiento del cultivo y la concentración de calcio en los tubérculos cosechados. Un mayor contenido de calcio en el tubérculo disminuye la susceptibilidad a golpes, lo que le confiere menor susceptibilidad al ataque de *Pectobacterium*. Por lo tanto, la recomendación de aplicación de Ca en tuberización puede ser parte del paquete de manejo integrado.

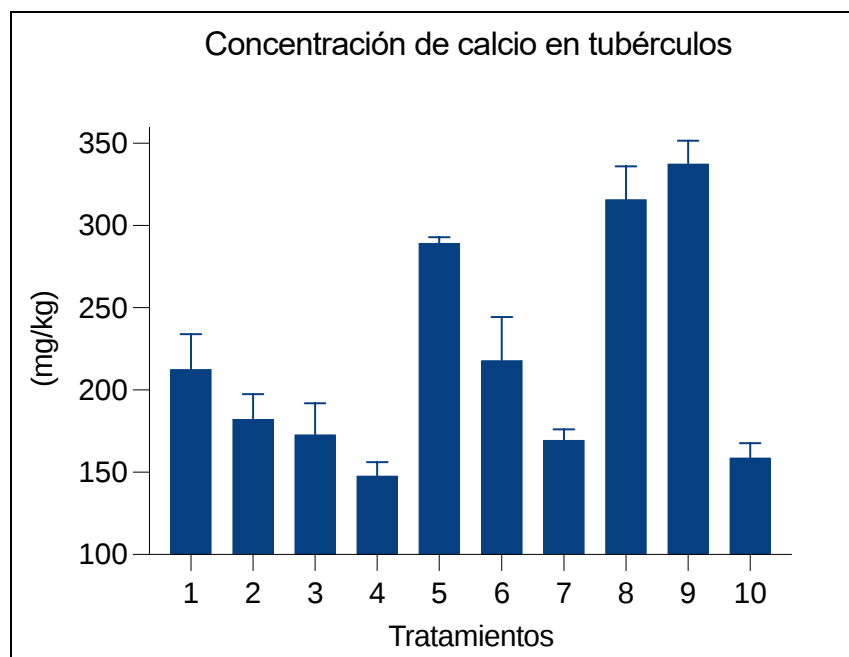


Figura 5. Concentración de calcio en los tubérculos. INIA Remehue. 2020-21.

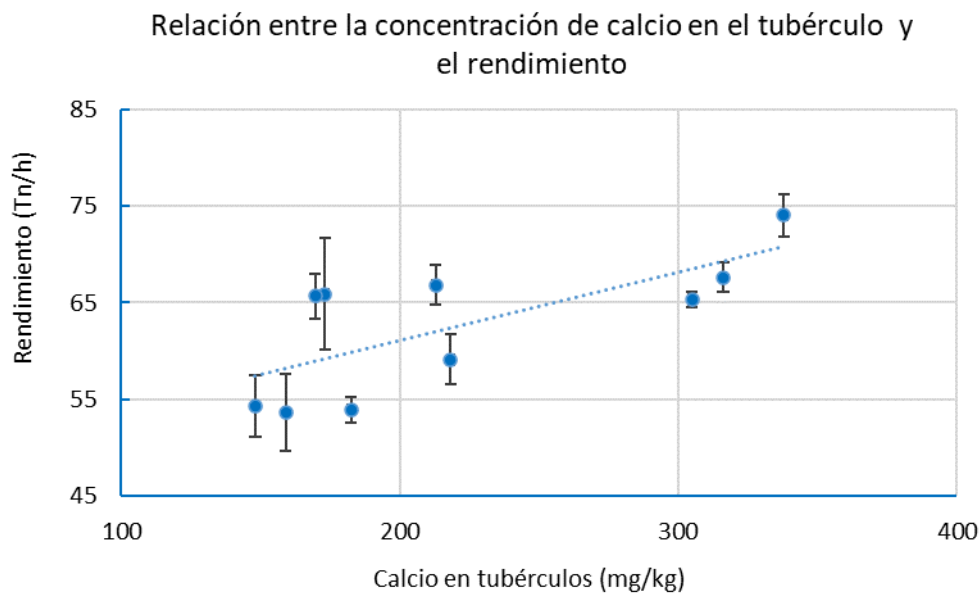


Figura 6. Relación de la concentración de calcio en los tubérculos y la productividad del cultivo. INIA Remehue. 2020-21.

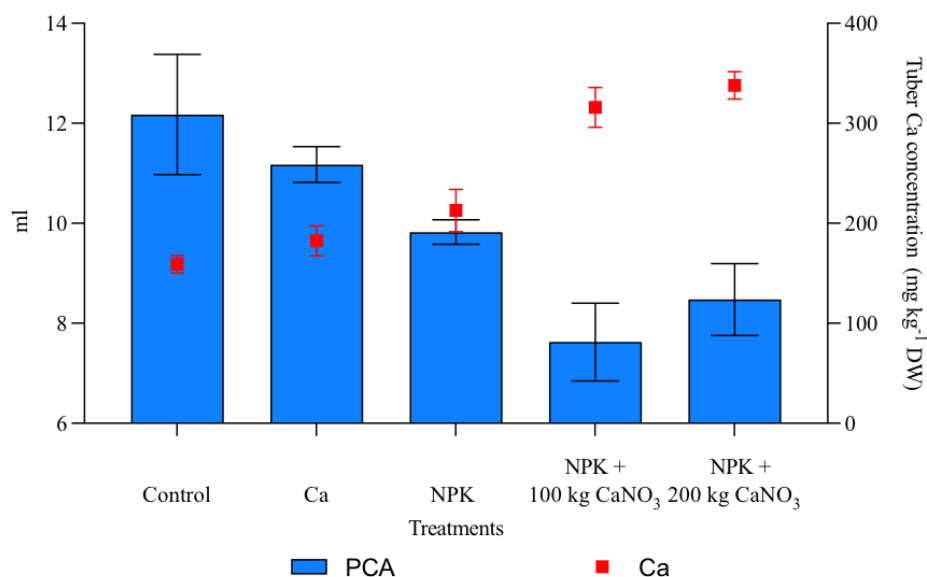


Figura 7. Relación entre contenido de Ca en tubérculos y la susceptibilidad a pudriciones blandas al inocularse con *Pectobacterium atrosepticum*, para cada tratamiento. INIA Remehue. 2020-21.

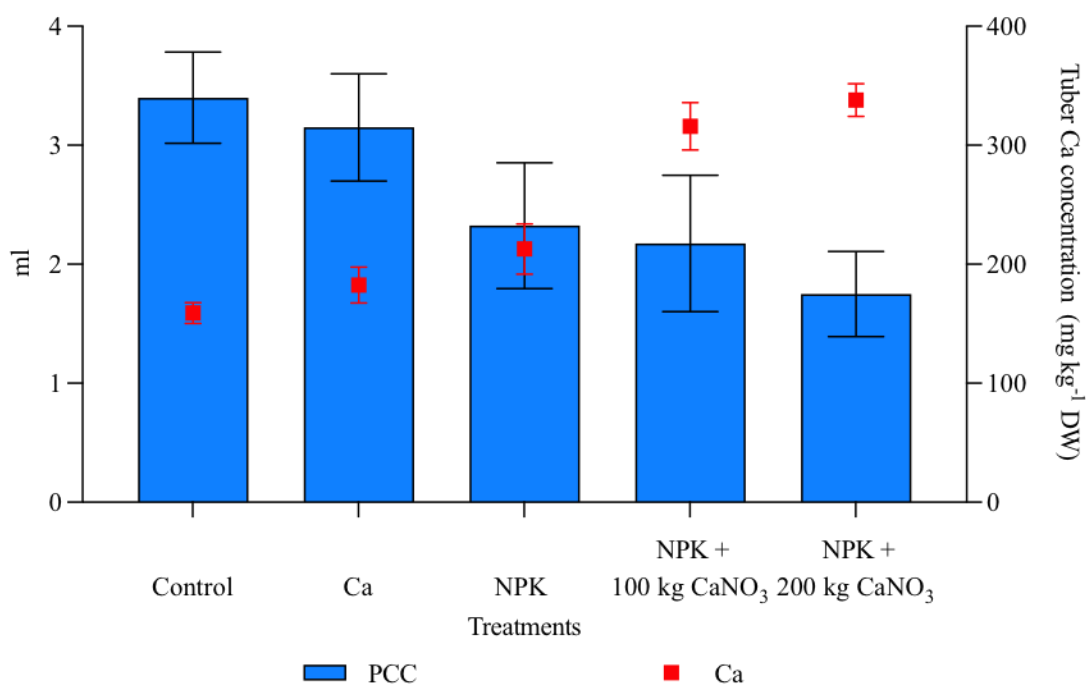


Figura 8. Relación entre contenido de Ca en tubérculos y la susceptibilidad a pudriciones blandas al inocularse con *Pectobacterium carotovorum*, para cada tratamiento. INIA Remehue. 2020-21.

Evaluación de Control químico.

Con el objetivo de evaluar la eficiencia del control químico de diferentes productos contra la pudrición dada por *Pectobacterium*, se realizaron dos ensayos en la temporada 2018-19: uno en campo y otro en invernadero. Se utilizaron tubérculos inoculados con una suspensión bacteriana 1×10^4 de *P. carotovorum* y *P. atrosepticum*.

Luego de la inoculación con *Pectobacterium*, los tubérculos semillas fueron sembrados en campo y en invernadero según un diseño experimental de bloques al azar de cuatro repeticiones, y donde la unidad experimental correspondió a parcelas de 4 hileras con 20 plantas cada una para el ensayo en campo, y una unidad experimental de 1 hilera con 10 plantas en macetas para el ensayo en invernadero.

Los 10 tratamientos utilizados fueron diferentes productos químicos para el control de *Pectobacterium* junto a sus respectivos testigos.

Con respecto al índice de vigor relativo, el tratamiento Mancozeb- Pcc presentó en el ensayo en campo un índice de vigor relativo estadísticamente mayor con un AUDPC de 28,47, pero sin presentar diferencias con los tratamientos Testigo- Pa, Testigo- Pcc, Biocopper – Pa, Biocopper- Pcc, KOCIDE 2000- Pa, KOCIDE 2000- Pcc, Testigo sin inocular con desinfección, y Mancozeb- Pa, mientras que el tratamiento que obtuvo el menor índice de vigor relativo fue el Testigo absoluto sin nada con un AUDPC 19,68, y sin presentar diferencias significativa con Mancozeb- Pa y el Testigo sin inocular con desinfección (Cuadro 11). Para el ensayo realizado en invernadero se obtuvo que el tratamiento Biocopper - Pa presentó un índice de vigor relativo estadísticamente mayor con un AUDPC 8,24 siendo el tratamiento con mayor índice de vigor relativo, mientras que nuevamente el tratamiento Testigo absoluto sin nada fue el cual obtuvo el menor índice de vigor relativo con un AUDPC de 5,8, y también sin presentar diferencias con Mancozeb- Pa y el Testigo sin inocular con desinfección (Cuadro 12).

Referente al índice de daño provocado por *Pectobacterium*, fue el tratamiento Testigo absoluto sin nada el cual obtuvo el mayor índice de daño con 2,84, en el ensayo en campo, y no presentó diferencias significativas con los tratamientos Biocopper – Pa, Mancozeb- Pa, y el Testigo sin inocular con desinfección, con índices de 2,33, 2,43, y 2,83 respectivamente. Mientras que el tratamiento que presentó un menor índice de daño en campo fue el Testigo- Pa con un índice de 1,73, sin presentar diferencia estadística con los tratamientos Testigo- Pcc, Biocopper – Pa, Biocopper- Pcc, Mancozeb- Pcc, KOCIDE 2000- Pa y KOCIDE 2000- Pcc (Cuadro 13). El ensayo en invernadero no presentó diferencias significativas (Cuadro 14).

Al observar el efecto de los tratamientos sobre los rendimientos, no se detecta un efecto claro sobre los rendimientos en campo y tampoco en invernadero (Cuadro 14 y 15). En general, podríamos comentar que los resultados fueron no concluyentes y no se observa un efecto claro del tratamiento químico en el desarrollo de las plantas, rendimiento y el daño por *Pectobacterium*.

Cuadro 11. Muestra el índice de vigor relativo obtenido para cada uno de los tratamientos, durante el ensayo en campo. INIA Remehue. 2018-19.

Índice de Vigor Relativo								
Tratamiento	01-02-2019		19-02-2019		27-03-2019		AUDPC	
Testigo absoluto sin nada	0,18	ns	0,34	b	0,49	d	19,68	b
Testigo- Pa	0,26		0,48	a	0,66	abc	27,14	a
Testigo- Pcc	0,27		0,49	a	0,66	abc	27,71	a
Biocopper - Pa	0,28		0,5	a	0,7	a	28,6	a
Biocopper- Pcc	0,25		0,49	a	0,68	ab	27,83	a
Mancozeb- Pa	0,23		0,42	ab	0,57	cd	23,67	ab
Mancozeb- Pcc	0,26		0,51	a	0,69	a	28,47	a
KOCIDE 2000- Pa	0,27		0,47	a	0,65	abc	26,95	a
KOCIDE 2000- Pcc	0,26		0,51	a	0,67	abc	28,13	a
Testigo sin inocular con desinfección	0,23		0,41	ab	0,57	bcd	23,29	ab
CV	18,26		15,34		12,38		14,03	
Estadístico F	1,75		2,44		2,94		2,59	
P-value	0,1254		0,035		0,0144		0,0269	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5% LSD. ns: estadísticamente no significativo, p=0.05.

Donde Pa: *P. atrosepticum* y Pcc: *P. carotovorum* subsp *carotovorum*

Cuadro 12. Muestra el índice de vigor relativo obtenido para cada uno de los tratamientos, durante el ensayo en invernadero. INIA Remehue. 2018-19.

Índice de Vigor Relativo								
Tratamiento	22-01-2019		30-01-2019		06-02-2019		AUDPC	
Testigo absoluto sin nada	0,38	ns	0,59	ns	0,68	ns	5,8	d
Testigo- Pa	0,38		0,56		0,73		7,89	abc
Testigo- Pcc	0,31		0,57		0,78		7,80	abc
Biocopper - Pa	0,3		0,51		0,7		8,24	a
Biocopper- Pcc	0,26		0,48		0,67		8,04	ab
Mancozeb- Pa	0,33		0,57		0,74		6,67	cd
Mancozeb- Pcc	0,28		0,5		0,67		7,99	abc
KOCIDE 2000- Pa	0,35		0,52		0,67		7,85	abc
KOCIDE 2000- Pcc	0,3		0,56		0,71		7,82	abc
Testigo sin inocular con desinfección	0,4		0,54		0,67		6,77	bcd
CV	22,08		26,59		25,6		25,6	
Estadístico F	1,64		0,26		0,19		2,86	
P-value	0,1539		0,9799		0,994		0,0165	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5% LSD. ns: estadísticamente no significativo, p=0.05.

Donde Pa: *P. atrosepticum* y Pcc: *P. carotovorum* subsp *carotovorum*

Cuadro 13. Índice de daño por pudrición blanda para cada uno de los tratamientos, durante el ensayo en campo. INIA Remehue. 2018-19.

Índice de Daño		
Tratamiento	07-03-2018	
Testigo absoluto sin nada	2,84	a
Testigo- Pa	1,73	c
Testigo- Pcc	1,93	bc
Biocopper - Pa	2,33	abc
Biocopper- Pcc	1,91	bc
Mancozeb- Pa	2,43	ab
Mancozeb- Pcc	1,78	c
KOCIDE 2000- Pa	2,11	bc
KOCIDE 2000- Pcc	2,16	bc
Testigo sin inocular con desinfección	2,83	a
CV	19,99	
Estadístico F	3,32	
P-value	0,0075	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5% LSD. ns: estadísticamente no significativo, $p=0.05$.

Donde Pa: *P. atrosepticum* y Pcc: *P. carotovorum* subsp *carotovorum*

Cuadro 14. Índice de daño por pudrición blanda para cada uno de los tratamientos, durante el ensayo en invernadero. INIA Remehue. 2018-19.

					Índice de Daño									
Tratamiento	22-01-2019		30-01-2019		06-02-2019		19-02-2019		05-03-2019		03-04-2019		AUDPC	
Testigo absoluto sin nada	1,53	ns	1,65	ns	1,93	ns	2,4	ns	2,5	ns	2,88	ns	168,36	ns
Testigo- Pa	1,43		1,5		1,53		1,8		1,95		2,45		136,53	
Testigo- Pcc	1,53		1,58		1,75		1,9		2,03		2,33		138,79	
Biocopper - Pa	1,9		2,03		2,1		2,3		2,38		2,65		165,23	
Biocopper- Pcc	1,9		1,9		2,15		2,05		2,23		2,45		152,05	
Mancozeb- Pa	1,75		1,8		2		2,23		2,35		2,75		162,61	
Mancozeb- Pcc	2,15		2,15		2,23		2,45		2,5		2,65		174,05	
KOCIDE 2000- Pa	1,53		1,53		1,55		2,03		2,2		2,48		146,45	
KOCIDE 2000- Pcc	1,95		2,2		2,33		2,38		2,43		2,78		171,28	
Testigo sin inocular con desinfección	1,4		1,43		1,58		1,75		1,9		2,4		133,33	
CV	38,23		36,45		35,67		29,66		28,92		22,41		26,69	
Estadístico F	0,63		0,76		0,75		0,67		0,47		0,41		0,55	
P-value	0,7592		0,6524		0,6583		0,7314		0,8808		0,9204		0,8229	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5% LSD. ns: estadísticamente no significativo, $p=0.05$. Donde Pa: *P. atrosepticum* y Pcc: *P. carotovorum* subsp *carotovorum*

Cuadro 15. Rendimiento hectárea obtenido para cada uno de los tratamientos, durante el ensayo en campo. INIA Remehue. 2018-19.

Tratamiento	Rendimiento Tuberculos (Toneladas/ha)												Totales					
	Fuera calibre		Deforme		Semillita		Semilla		Semillón		Consumo		Desecho		Comercial		Total	
Testigo absoluto sin nada	0,55	ns	15,8	c	1,4	ns	2,75	ns	7,43	bc	19,45	ns	16,35	c	31	ns	47,3	c
Testigo- Pca	1,25		18,53	bc	2,2		6,65		14,08	a	28,38		19,75	bc	51,28		71,03	ab
Testigo- Pcc	1,28		23,78	ab	3,15		6,15		12,95	a	28,98		25,05	ab	51,2		76,2	a
Biocopper - Pca	1,38		22,18	abc	2,33		5,8		12,8	ab	25,95		23,53	abc	46,83		70,35	ab
Biocopper- Pcc	1,23		17,95	bc	2,53		5,2		10,18	abc	20,18		19,2	bc	38,05		57,28	bc
Mancozeb- Pca	1,23		25,23	ab	2,1		5,2		7,38	bc	19,1		26,45	ab	33,8		60,25	abc
Mancozeb- Pcc	1,48		27,98	a	2,7		5,85		11,08	abc	22,4		29,45	a	42,03		71,48	ab
KOCIDE 2000- Pca	0,85		18,3	bc	2,2		4,5		12,35	ab	29,65		19,18	bc	48,68		67,83	ab
KOCIDE 2000- Pcc	0,88		18,03	bc	1,9		5,73		13,98	a	26,75		18,9	bc	48,33		67,23	ab
Testigo sin inocular con desinfección	1,3		15,53	c	2,18		4,33		6,43	c	13,25		16,83	c	26,18		42,98	c
CV	44,67		26,06		35,53		33,43		34,74		36,35		26,03		30,85		19,96	
Estadístico F	1,27		2,53		1,35		1,66		2,33		1,6		2,47		1,96		3,05	
P-value	0,2981		0,0301		0,2596		0,1496		0,0435		0,1644		0,0336		0,085		0,0118	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5% LSD. ns: estadísticamente no significativo, p=0,05.

Cuadro 16. Rendimiento para cada uno de los tratamientos, durante el ensayo en invernadero. INIA Remehue. 2018-19.

Tratamiento	Rendimiento Tuberculos (Toneladas/ha)												Totales					
	Fuera calibre		Deforme		Semillita		Semilla		Semillón		Consumo		Desecho		Comercial		Total	
Testigo absoluto sin nada	0,91	ns	0,38	ns	2,39	ns	4,24	ns	0,5	ns	0	ns	1,29	ns	7,13	ns	8,42	ns
Testigo- Pca	0,82		0,53		2,32		3,86		1,06		0		1,35		7,24		8,59	
Testigo- Pcc	0,69		0,28		2,47		3,61		0,61		0		0,97		6,69		7,66	
Biocopper - Pca	0,75		0,18		4,84		4,44		1,28		0		0,93		10,56		11,49	
Biocopper- Pcc	0,66		0,54		1,37		4,13		1,69		0		1,2		7,19		8,39	
Mancozeb- Pca	0,87		0,46		2,22		4,06		1,25		0		1,33		7,53		8,86	
Mancozeb- Pcc	0,76		0,63		2,14		3,41		1,06		0		1,39		6,61		8	
KOCIDE 2000- Pca	0,76		0,42		2,1		4,37		1,71		0		1,18		8,19		9,37	
KOCIDE 2000- Pcc	0,67		0,56		2,02		4,33		1,61		0		1,23		7,95		9,18	
Testigo sin inocular con desinfección	0,92		0,23		2,38		4,42		0,88		0		1,15		7,68		8,83	
CV	100,77		241,78		186,04		89,46		193,74		-		103,27		85,78		75,92	
Estadístico F	0,41		0,71		0,98		0,29		1,12		-		0,52		0,87		0,71	
P-value	0,928		0,7004		0,4602		0,977		0,3493		-		0,8632		0,5525		0,7027	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5% LSD. ns: estadísticamente no significativo, p=0,05.

Durante la temporada 2019-20, se repitió este experimento de campo, con el cultivar Pukará ,con tubérculos inoculados con *P. atrosepticum* y *P. carotovorum*.

El resultado muestra que el testigo absoluto sin inoculación y con previa desinfección con cloro obtuvo los mayores porcentajes de plantas emergidas, pero sin ser estadísticamente diferente a su contra parte no inoculada ni desinfectada, al igual que el testigo inoculado con PCC obtuvo un menor porcentaje de plantas emergidas con respecto al testigo inoculado con PCA, pero tampoco se presentaron diferencias significativas entre ellos. Los testigos absolutos sin inoculación presentaron un mayor porcentaje de plantas emergidas y se diferenciaron estadísticamente de los testigos con inoculación, quienes obtuvieron los porcentajes de emergencia más bajos.

Los tratamientos con Biocopper no se diferenciaron de los testigos inoculados, como tampoco hubo diferencias entre el tratamiento Biocopper inoculado con PCA e inoculado con PCC. Los tratamientos con Mancozeb tampoco se diferenciaron de los testigos inoculados, y tampoco hubo diferencias significativas entre el tratamiento Mancozeb inoculado con PCA e inoculado con PCC. Por otro lado, los tratamientos KOCIDE 2000 presentaron diferencias significativas contra los testigos inoculados, siendo mayor el porcentaje de plantas emergidas bajo los tratamientos con KOCIDE 2000, y, además, estos porcentajes de emergencia obtenidos por los tratamientos con KOCIDE 2000 fueron iguales a los obtenidos en los testigos sin inocular sin y con previa desinfección. Sin embargo, los tratamientos con KOCIDE 2000 inoculados con PCC y PCA no presentaron diferencias significativas (Cuadro 17).

En cuanto al índice de daño, no se presentó diferencias significativas entre los testigos absoluto con y sin desinfectar, como tampoco hubo diferencias entre los testigos inoculados con PCA y con PCC. Sin embargo, los testigos absolutos con y sin previa desinfección obtuvieron un índice de daño estadísticamente menor al índice de daño presentado por los testigos inoculados con PCA y PCC.

Los tratamientos con Biocopper no se diferenciaron de los testigos inoculados, como tampoco hubo diferencias entre el tratamiento Biocopper inoculado con PCA e inoculado con PCC. Los tratamientos con Mancozeb tampoco se diferenciaron de los testigos inoculados, y tampoco hubo diferencias significativas entre el tratamiento Mancozeb inoculado con PCA e inoculado con PCC. Mientras que, los tratamientos con KOCIDE 2000 presentaron un índice de daño estadísticamente menor a los obtenidos por los testigos inoculados, y estadísticamente iguales a los índices de daño obtenidos en los testigos absolutos con y sin previa desinfección. No obstante, los tratamientos con KOCIDE 2000 inoculados con PCC y PCA tampoco presentaron diferencias significativas entre ellos (Cuadro 18).

A pesar de que el testigo absoluto con previa desinfección presentó un mayor porcentaje de plantas emergidas, un mayor índice de vigor y estado fenológico, y un menor índice de daño, estas no fueron estadísticamente diferentes a los valores obtenidos por el testigo absoluto sin desinfectar. El testigo inoculado con PCC presentó un menor porcentaje de

plantas emergidas, menor vigor, menor estado fenológico y un mayor índice de daño, con respecto al testigo inoculado con PCA, lo cual indica que *P. carotovorum* pudiese ser más agresiva que *P. atrosepticum*. Sin embargo, no hubo diferencia estadística entre ellos.

Por otro lado, los tratamientos con KOCIDE 2000 lograron controlar los efectos de *Pectobacterium* spp. de manera tan eficiente como los testigos sin inocular e incluso que el testigo sin inocular y previamente desinfectado con cloro.

Se puede concluir, que en general el tratamiento químico podría ser un complemento al manejo integrado, pero en general presenta una eficacia media, y es muy variable de temporada en temporada.

Cuadro 1. Porcentaje de plantas emergidas por tratamiento de control químico para *Pectobacterium* spp. Temporada 2019-2020.

Tratamientos			Emergencia (%)					
			24-01-2020		20-02-2020		12-03-2020	
1	Testigo absoluto sin desinfección	Sin producto	95.0	de	95.0	cd	97.5	d
2	Testigo inoculado con PCA	Sin producto	75.6	ab	78.8	ab	84.4	ab
3	Testigo inoculado con PCC	Sin producto	64.4	ab	66.3	a	70.6	a
4	Biocopper e inoculado con PCA	300 cc/t	82.5	abc	82.5	ab	87.5	abc
5	Biocopper e inoculado con PCC	300 cc/t	58.8	a	60.6	a	65.6	a
6	Mancozeb e inoculado con PCA	200 g/t	83.8	bcd	83.8	abc	89.4	bcd
7	Mancozeb e inoculado con PCC	200 g/t	81.9	abc	81.9	ab	86.3	abc
8	KOCIDE 2000 e inoculado con PCA	360 g/t	88.8	cde	88.8	bcd	93.1	cd
9	KOCIDE 2000 e inoculado con PCC	360 g/t	87.5	cde	87.5	bcd	91.9	bcd
10	Testigo absoluto y con desinfección	Sin producto	96.9	e	96.9	d	98.8	d
Estadístico H			36.24		35.15		35.59	
p-Value			<0.0001		<0.0001		<0.0001	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5%. ns: estadísticamente no significativo, $p=0,05$.

Cuadro 18. Índice de daño causado por *Pectobacterium spp* en plantas de papa bajo diferentes tratamientos de control químico. Temporada 2019-20.

Tratamientos			Índice de daño							
			24-01-2020		20-02-2020		12-03-2020		AUDPC	
1	Testigo absoluto sin desinfección	Sin producto	1.2	ab	1.2	ab	1.1	a	56,9	a
2	Testigo inoculado con PCA	Sin producto	2.0	de	2.1	d	2.2	cd	98,9	cd
3	Testigo inoculado con PCC	Sin producto	2.4	de	2.4	d	2.4	cd	115,7	cd
4	Biocopper e inoculado con PCA	300 cc/t	1.7	cde	1.8	bcd	1.7	abc	82,9	abc
5	Biocopper e inoculado con PCC	300 cc/t	2.7	e	2.7	d	2.6	d	126,6	d
6	Mancozeb e inoculado con PCA	200 g/t	1.7	bcd	1.9	cd	1.9	bcd	87,5	bcd
7	Mancozeb e inoculado con PCC	200 g/t	1.7	cde	1.9	cd	2.0	bcd	88,5	bcd
8	KOCIDE 2000 e inoculado con PCA	360 g/t	1.5	abc	1.5	abc	1.5	ab	71,3	ab
9	KOCIDE 2000 e inoculado con PCC	360 g/t	1.5	abc	1.5	abc	1.4	ab	71,7	ab
10	Testigo absoluto y con desinfección	Sin producto	1.1	a	1.1	a	1.1	a	53,3	a
Estadístico H			36.24		35.84		35.93		22,24	
p-Value			<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001	

Cifras seguidas por igual letra en cada columna no son significativamente diferentes al 5%. ns: estadísticamente no significativo, $p=0,05$.

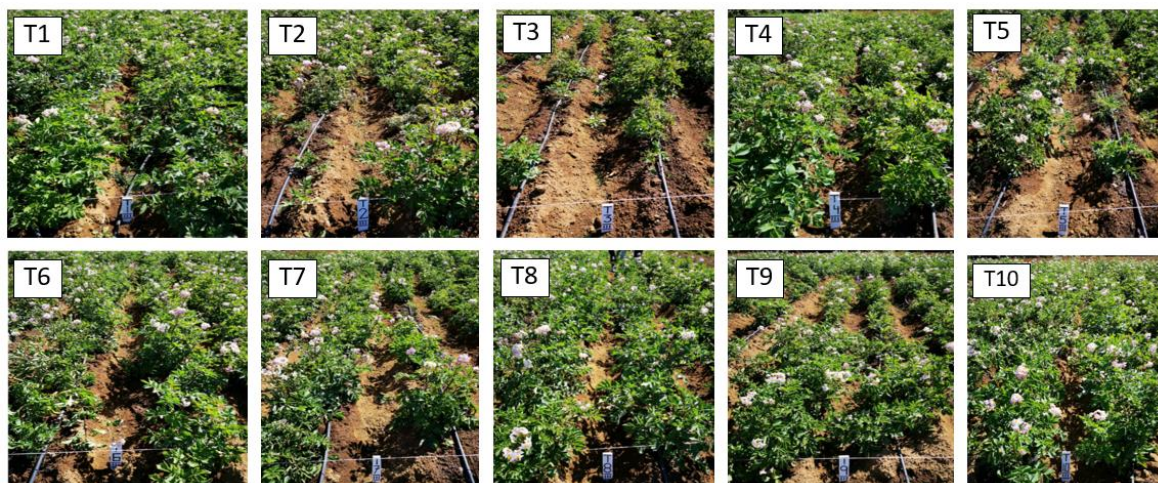


Foto 2. Parcela experimental control químico contra *Pectobacterium spp*. 90 días post plantación, y donde: T1: Testigo absoluto sin inoculación ni desinfección, T2: Testigo inoculado con PCA, T3: Testigo inoculado con PCC, T4: Biocopper con PCA, T5: Biocopper con PCC, T6: Mancozeb con PCA, T7: Mancozeb con PCC, T8: KOCIDE 2000 con PCA, T9: KOCIDE 2000 con PCC, y T10: Testigo sin inoculación y con previa desinfección con cloro. INIA Remehue. 2019-20.

ANEXO 3:

Resultado esperado:

3.1 Importancia relativa de los factores de riesgo que influyen en el desarrollo de la enfermedad priorizados.

3.2 Paquete de manejo integrado preventivo determinado.

En el cultivo de la papa se describen más de 100 problemas sanitarios que lo afectan en mayor o menor medida, causados por agentes bióticos como agentes abióticos. Es decir, problemas causados por hongos, virus, bacterias, y nemátodos entre otros, pero también problemas fisiológicos causados por el ambiente y el manejo, tanto en campo como en almacenamiento. Por lo tanto, para prevenir los problemas sanitarios se debe tener un enfoque de manejo integrado, es decir se debe considerar todas las técnicas disponibles para combatir las plagas y enfermedades, y la integración de las medidas apropiadas que disminuyan el desarrollo del problema, con una mirada sostenible, reduciendo al mínimo los costos productivos y los riesgos para la salud humana y el ambiente.

El primer paso para el manejo correcto de una enfermedad es conocer el agente causal y la epidemiología de la enfermedad. Por lo tanto, frente a una anomalía en el cultivo, el reconocimiento de los síntomas, su agente causal y su interacción con la planta y el ambiente, permite generar un conjunto de recomendaciones que pueden abarcar desde el manejo cultural hasta el control químico, con el objetivo de minimizar la incidencia y severidad de la enfermedad detectada.

Durante la ejecución de este proyecto nos enfocamos en determinar las principales prácticas de manejo que disminuyen el riesgo del pie negro y las pudriciones blandas.

El Pie negro y las pudriciones blandas son causados, principalmente por bacterias del género *Pectobacterium*. La bacteria se alberga en las lenticelas del tubérculo y en el sistema vascular de la planta y se disemina por semilla enferma, agua, insectos y aerosoles bacterianos, es decir gotas de agua con la bacteria que son llevadas por el viento desde una planta enferma a una sana. Se estima que esta enfermedad puede causar pérdidas de 10 a 40%, tanto en campo como en almacenamiento. Sin embargo, el daño causado varía según la susceptibilidad del cultivar, las condiciones ambientales, la cantidad de inóculo de la semilla y el manejo del cultivo en campo y almacenamiento.

Se considera que la principal fuente de inóculo en el cultivo, es la pudrición del tubérculo madre. Es así como las bacterias se pueden encontrar superficialmente sobre los tubérculos, en lenticelas y heridas en forma latente; el desarrollo de pie negro y la pudrición blanda ocurre sólo cuando las condiciones ambientales favorecen el crecimiento de la bacteria. La principal condición es el exceso de humedad, especialmente agua libre en el suelo y sobre los tubérculos.

Después de la siembra, si las condiciones ambientales son favorables, comienza la pudrición del tubérculo semilla, lo que libera hacia el suelo una gran cantidad de bacterias, infectando tubérculos progenies y plantas adyacentes. Las bacterias pueden multiplicarse y persistir en la rizósfera de la planta hospedante en desarrollo y también en algunas malezas, pudiendo movilizarse a través del agua en el suelo. La infección en los tubérculos hijos ocurre a través de las lenticelas, heridas o por el extremo del estolón que se comunica con la planta madre.

La infección en el tallo puede ocurrir en cualquier momento después de la multiplicación del patógeno en el tubérculo semilla podrido, a través del sistema vascular y, una vez en el tallo, la bacteria puede permanecer en dormancia o causar una infección si las condiciones son favorables.

Las bacterias localizadas en las lenticelas o en la superficie de los tubérculos durante el almacenaje permanecen en estado de metabolismo reducido y al darse condiciones ambientales predisponentes a la infección, se activan e inician la pudrición. Las condiciones que favorecen la infección son una película de agua que ayuda las condiciones anaeróbicas del tubérculo, mala aireación, alto inóculo en las lenticelas, tubérculos golpeados, entre otros.

Por lo tanto, los factores importantes a considerar en un manejo integrado de las pudriciones blandas y el pie negro son:

1. Conocer la susceptibilidad del cultivar

La elección de un determinado cultivar de papa a producir, dependerá de varios factores, entre los cuales el más importante es la demanda del mercado. Sin embargo, es de gran relevancia conocer la susceptibilidad o resistencia del cultivar seleccionado frente a los problemas sanitarios más importantes en la zona. Esta información nos ayudará a tomar las mejores decisiones de manejo para evitar la expresión del problema. Se debe destacar que el uso de cultivares resistentes o cultivares con una mejor resistencia relativa a ciertos patógenos, evita un ataque severo de la enfermedad y permite la utilización de un programa de control químico más eficiente y sustentable.

La Figura 1 muestra la susceptibilidad relativa de los principales cultivares de papa registrados en Chile a las principales enfermedades del cultivo en la zona sur.

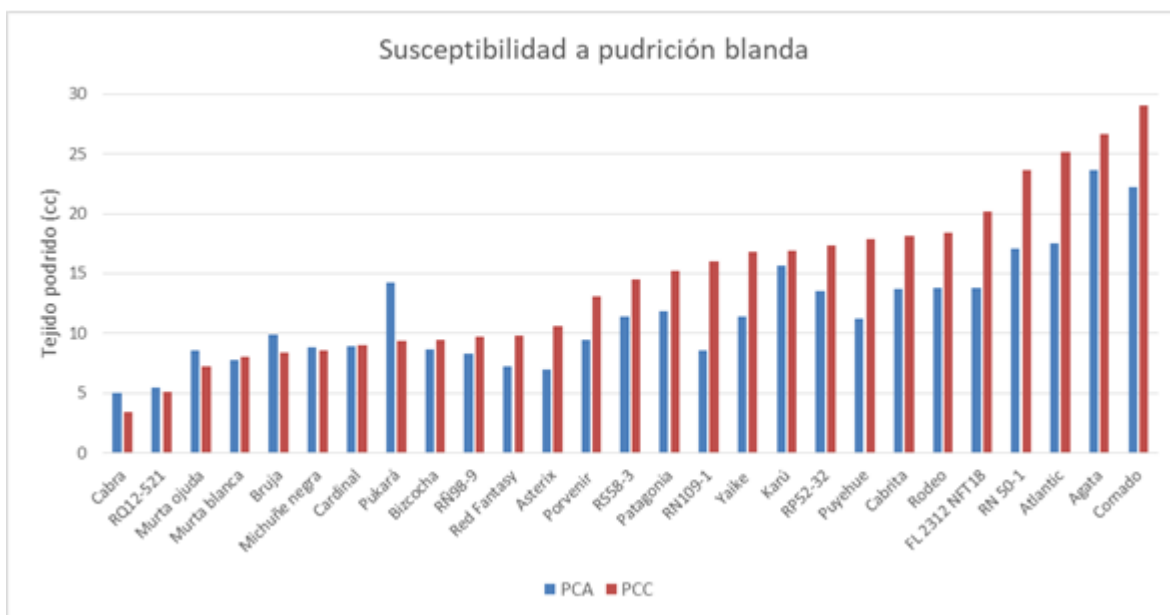


Figura 1. Susceptibilidad varietal relativa a diferentes problemas sanitarios del cultivo de papa para *Pectobacterium carotovorum* y *P. atrosepticum*

2. Eliminación de las fuentes de inóculo.

La primera y principal fuente de enfermedades en las zonas productoras de papa en Chile son los tubérculos, ya sea tubérculos semillas infectados, tubérculos invernantes de plantaciones de años anteriores que dan origen a papas voluntarias (plantas huachas o bochen) o tubérculos de desecho. Desde estos tubérculos infectados, que dan origen a plantas enfermas, el agente causal crece y se reproduce liberando el inóculo del patógeno, el cual es llevado por el agua de lluvia, el suelo y el viento hacia otras plantas, donde inician una nueva infección. Estas nuevas lesiones forman focos de infección en las plantaciones de papa, siendo una gran fuente de inóculo para plantaciones cercanas y los nuevos tubérculos.

Para disminuir las fuentes de inóculo se recomienda:

- **Uso de tubérculo semilla legal.** Un tubérculo legal, ya sea semilla certificada, corriente o propia, indica que es un material reproductivo con trazabilidad y que cumple con la normativa sanitaria vigente. Un tubérculo semilla certificado cumple con la normativa y es garantizado por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), mientras un tubérculo semilla corriente, la garantía de cumplimiento es del productor de esa semilla. Una semilla de buena calidad permite a una variedad mantener sus características genéticas, fenotípicas y potencialidad productiva. El Uso de tubérculos semilla de papa legal debe ser de origen conocido, no proveniente de plantaciones que presentaron problemas sanitarios, especialmente tarde en la temporada anterior, pues ésta es la principal causa de contaminación

de tubérculos. Los tubérculos semillas deben llegar al momento de la plantación en condiciones sanitarias y fisiológicas óptimas para poder expresar su potencialidad productiva.

- **Utilizar semilla con baja contaminación:** El conocer el potencial de infección que tiene una semilla es de gran ayuda en para determinar los factores de manejo a considerar para evitar la expresión de la enfermedad. Es recomendable realizar un análisis para la detección y cuantificación de la infección de la semilla y utilizar material con baja contaminación.
- **Rotación de cultivos.** En general se recomienda realizar una rotación de 3 a 4 años como mínimo, con cultivos no pertenecientes a la familia de las Solanáceas. Esto permite que los patógenos presentes en el suelo disminuyan la población por falta de hospedero. Además, se debe preferir rotaciones con cultivos que favorezcan la rápida eliminación de papas voluntarias, tales como praderas.
- **Eliminación de restos de papas desde el almacenamiento, cosecha y selección.** Se recomienda que sean enterrados, evitando la contaminación de suelo y fuentes de agua, o cubiertos con plástico negro para favorecer su pronta descomposición.
- **Prospección y eliminación de papas voluntarias, hospederos alternantes y focos con problemas sanitarios.** Se deben monitorear la plantación y sus alrededores para detectar la presencia de problemas sanitarios, tanto en el cultivo como en plantas de papa voluntarias y otras solanáceas, (tomates, berenjenas, malezas solanáceas como tomatillo, chamico, etc.). Se deben eliminar todas las plantas enfermas detectadas. Se debe realizar una cosecha eficiente la temporada anterior, pues gran parte de los tubérculos que quedan en el suelo, serán plantas voluntarias la próxima temporada.

3. Manejos culturales en campo

Realizar manejos culturales que impidan el establecimiento de la enfermedad, considerando en lo posible, variedades menos susceptibles, realizar una fertilización balanceada de acuerdo al objetivo de producción, utilizar una densidad de plantación que favorezca la ventilación en entrehilera, evitar el daño de plantas y tubérculos en las labores agrícolas, realizar un riego eficiente que evite el exceso de humedad en las plantas y en el suelo, mantener los tubérculos con una aporca alta para evitar la contaminación.

Algunos manejos culturales se detallan a continuación:

- **Riego eficiente.** Debido al cambio climático, cada vez es más frecuente que se presente déficit hídrico durante el desarrollo del cultivo, por lo que el riego es una práctica cada vez más requerida. Un adecuado riego evita el estrés hídrico en la planta por lo que las plantas se encuentran menos susceptibles al ataque de patógenos. Sin embargo, es importante señalar que el agua de riego es un diseminador de agentes patógenos y en exceso generan condiciones favorables

para el desarrollo de enfermedades, tanto de suelo como de follaje. De ahí la importancia de regar en forma oportuna y eficiente el cultivo, evitando excesos e inundaciones del terreno. Se debe, también, evitar suelos con mal drenaje que produzcan inundaciones ya sea por lluvia o por riego.

- **Fertilización.** Se debe considerar fertilizar de acuerdo a los requerimientos del cultivo, basado en un análisis de suelo. El exceso o el déficit de algunos nutrientes puede afectar el desarrollo de la planta, haciéndola más susceptible al ataque de enfermedades, así, exceso de Nitrógeno puede favorecer la producción de un gran follaje, lo que produce un microclima de exceso de humedad y condiciones favorables para infección. Se ha demostrado que el Calcio (Ca) previene la susceptibilidad de los tubérculos a golpes y por ende al ataque de patógenos, como *Pectobacterium*. La fertilización con Ca debe hacerse en forma parcializada y especialmente después del inicio de la tuberización. Se ha demostrado que son los propios tubérculos los que absorben en mayor medida el Ca presente en las zonas inmediatamente adyacentes a través de raicillas que crecen desde las yemas de estos (Figura 2). De ahí que el Ca a usar como elemento fertilizante debe ser de gran solubilidad y aplicado a la zona de tuberización lo más cercana posible a los tubérculos en formación.
- **Higiene predial.** Se debe mantener el predio, los caminos y los potreros limpios de restos de papa y malezas que pueden ser hospederos de enfermedades. Se debe desinfectar los vehículos, la maquinaria, herramientas, calzado y vestuario ya sea con hipoclorito de sodio (1 % de cloro activo en pH neutro) o amonio cuaternario (al 4%) antes de ingresar al predio. Además, se debe reducir el tráfico a través del cultivo para evitar dañar las plantas y diseminar problemas sanitarios.

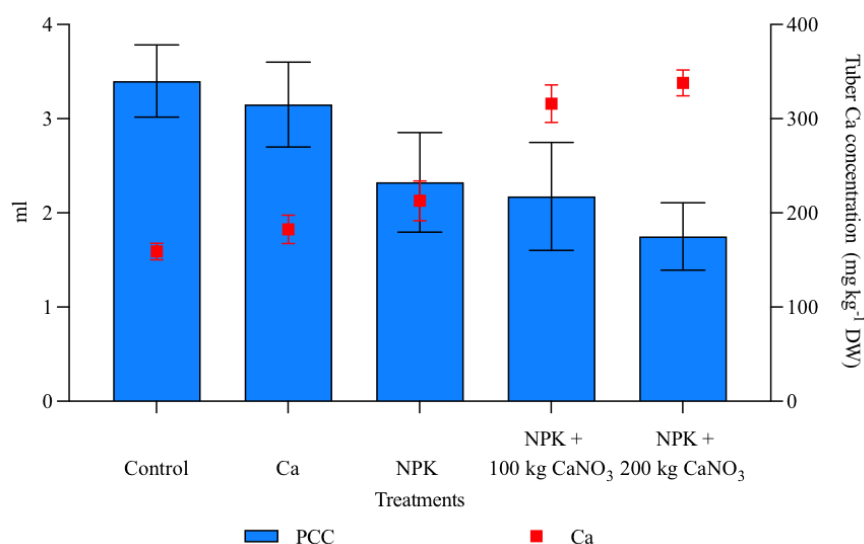


Figura 2. Relación entre contenido de Ca en tubérculos y la susceptibilidad a pudriciones blandas al inocularse con *Pectobacterium carotovorum*, para cada tratamiento. INIA Remehue. 2020-21.

4. Manejo en cosecha y almacenamiento

Para disminuir los problemas sanitarios en tubérculos en almacenamiento es importante haber mantenido un cultivo sano en el campo. Gran parte de los problemas que se desarrollan en bodega proviene de infecciones de los tubérculos durante el desarrollo del cultivo, especialmente en los últimos estados de desarrollo o bien al momento de la cosecha.

Se sugiere durante la cosecha:

- **Destruir y eliminar el follaje antes de la cosecha.** Esta labor puede ser utilizando un producto químico (herbicida de contacto no sistémico), por medio mecánicos (cortadora rotatoria u otro) o arranque manual, ya que el follaje infectado puede contaminar las papas durante la cosecha, especialmente en cultivos con aporca baja o donde los tubérculos están pobremente cubiertos con suelo. En lo posible, también se debe eliminar las malezas del cultivo, porque tienden a dificultar la cosecha y a favorecer cortes y daños mecánicos a los tubérculos. Se recomienda la eliminación del follaje al menos 10 días antes de la cosecha. Esto permite que la piel del tubérculo madure, dándole una mayor firmeza y una mejor resistencia a los daños mecánicos.
- **Cosecha oportuna.** Se recomienda no dejar los tubérculos por un período excesivamente largo en el suelo, después del secado de las plantas. Mientras más tiempo permanecen en el suelo, aumentará la contaminación bacteriana en las lenticelas de los tubérculos.
- **Cuidados al cosechar.** Esta labor nunca se debe realizar con lluvia, debido a que en un suelo muy húmedo y/o saturado de agua, los tubérculos se hacen más susceptibles a la infección, favoreciendo así el ingreso de patógenos a los tubérculos. Igualmente, se debe cosechar, seleccionar y guardar sólo las papas sanas, secas y limpias, separándolas de todos aquellos tubérculos con cortes y/o heridas, dañados por pudriciones o con lesiones necróticas. Los tubérculos enfermos pueden servir como fuente de contaminación de las papas sanas durante el período de almacenamiento. Se debe prevenir las heridas en tubérculos, magulladuras, golpes y heridas en la cosecha y selección de la semilla son puntos de infección.

Se sugiere durante almacenamiento:

- **Dar condiciones apropiadas para que las heridas sanen rápidamente.** Esto evitará que se produzcan infecciones y desarrollo de problemas sanitarios en la bodega. Las condiciones adecuadas incluyen temperaturas moderadas (10-13°C), alta humedad relativa (80 a 90%) y buena ventilación por al menos 10 – 14 días postcosecha. También es importante evitar suelos fríos, muy calientes, saturados o muy secos al momento de la plantación y cosecha.
- **Acondicionar la bodega de almacenamiento.** El lugar de almacenamiento de la producción debe estar limpio, sin goteras y sin posibilidad de anegamiento. Las

goteras generan flujo de agua sobre los tubérculos que actúan como fuente de transporte de los patógenos causando pudriciones.

- **Limpiar y desinfectar la bodega de almacenamiento y el equipamiento.** Esto significa eliminar todos los restos de papas lavando con detergente y agua a presión el piso, las paredes y los ductos de ventilación. Posteriormente, desinfectar toda la bodega y los equipos de línea de selección y clasificación de la producción. Para ello se puede utilizar hipoclorito de sodio (1% cloro activo en pH neutro) o amonio cuaternario al 4%.
- **Controlar y regular periódicamente la ventilación y temperatura de la bodega.** Los tubérculos son órganos vivos que respiran, por lo tanto, necesita oxígeno, sin embargo, también generan calor y eliminación de CO₂ y agua. La temperatura ideal de almacenamiento de la papa para prolongar al máximo su período de dormancia es alrededor de 4°C o 10°C si es para procesamiento, con humedad relativa ambiental de aproximadamente 90%.

3.3 Evaluación de implementación de riesgo preventivo.

Se realizó seguimiento a 8 lotes de tubérculo semilla de papa pertenecientes a 4 distintas empresas semilleras, los cuales fueron evaluados en laboratorio para determinación de su PIL (potencial de infección latente), mediante técnica clásica y molecular. A su vez se realizó seguimiento de la expresión de la enfermedad en campo, evaluando las plantaciones realizadas con los lotes de tubérculos, pudiendo acceder a la información de manejo mediante una encuesta.

Toma de muestra y detección del PIL en los lotes de tubérculo semilla de papa destinados a plantación.

Se tomaron muestras de 8 lotes tubérculos semilla de papa de las variedades FL2312NFT18, Agata, Atlantic, Red Fantasy, Porvenir, Puyehue y Patagonia provenientes de 4 empresas semilleras. Las plantaciones de estos lotes se localizaron en distintos lugares de la Región de Los Lagos, realizándose su seguimiento en campo.

La metodología de determinación del PIL mediante técnica clásica, consistió en envolver cada tubérculo en toalla de papel estéril húmeda con la adición de una película de plástico impermeable para otorgar humedad y anaerobiosis, luego cada tubérculo se colocó en una bolsa plástica pequeña y fue depositado en grupos de 20 en una bolsa más grande, incubándose a 26°C por 5 días. Se consideraron 5 repeticiones de 20 tubérculos por cada lote evaluado.

Transcurridos los días, se desarrollaron los tubérculos, se pesaron para conocer su peso inicial y se evaluó (1) el potencial de infección latente (PIL), contabilizando la cantidad de tubérculos con y sin pudrición, (2) el índice de daño promedio (ID), estimando el porcentaje de pudrición de la superficie de cada tubérculo en el lote inducido y (3) porcentaje de tejido podrido obtenido por diferencia de peso con el peso inicial, para lo

cual se retira todo el tejido podrido de cada tubérculo con ayuda de una espátula y se vuelve a pesar cada repetición (peso final).

La metodología de evaluación del PIL mediante PCR en tiempo real, tiene como primera etapa la extracción de ADN, para lo cual se tomó la piel de 10 tubérculos correspondiente al contorno del tubérculo e inserción del estolón depositándola en una bolsa plástica. Luego se adicionó buffer Ringer con DIECA (1 g de piel: 2 ml de buffer), moliendo completamente el tejido con una procesadora de alimentos, filtrando la molienda con ayuda de gasa para recuperar la parte líquida, depositándola en tubo estéril de 50 mL. Posteriormente, cada muestra fue centrifugada por 10 min a 700 rpm para peletear almidón y restos de piel, rescatando el sobrenadante para nuevamente centrifugar por 15 min a 3.500 rpm para peletear la bacteria, siendo resuspendida en 300 µL de buffer Ringer para realizar la extracción de ADN mediante kit comercial Zymo Research, según las instrucciones del fabricante. El ADN fue cuantificado en equipo Nanoquant y diluido a 10 ng/µL para ser analizado mediante PCR en tiempo real.

Para la cuantificación de *Pectobacterium* en tiempo real se utilizan los partidores PEC-1F/PEC-1R y sonda PEC-P, además de COX-F/COX-R y sonda COX-P, ya descritos en informes anteriores (Humphris et al., 2015). La mezcla de reacción consiste en: 1X Takyon Rox probe master mix; 0,3 µM de cada partidor y 0,1 µM de sonda y 20 ng de ADN a la reacción. Las condiciones de amplificación se componen de una denaturación inicial de 3 min a 95°C, seguido de 40 ciclos de: denaturación 95°C por 5 s y annealing 60°C por 40 s.

Seguimiento de la expresión de pie negro y pudriciones blandas en plantaciones de papa correspondientes a los lotes evaluados.

Para conocer la incidencia y nivel de expresión de *Pectobacterium* spp. en campo, se visitaron las plantaciones de papa correspondientes a los lotes evaluados en laboratorio, permitiendo evaluar *in situ* el comportamiento de la semilla, el cual será expresado como porcentaje de emergencia, según la localidad, variedad y manejo agronómico. Se visitaron plantaciones ubicadas en las comunas de Osorno (Remehue, Pichidamas, Cancura), Purranque y Puerto Octay (Laguna Bonita).

La evaluación en campo consistió en el conteo del N° de plantas emergidas en 10 metros de longitud de hilera por 10 repeticiones y la presencia de pie negro en la plantación. Además, se aplicó una encuesta a cada empresa para conocer los antecedentes productivos y de manejo predial.

En el Cuadro 1 se muestran los resultados obtenidos en la determinación del PIL mediante la técnica clásica de inducción de tubérculos y de cuantificación por PCR en tiempo real, además del porcentaje de emergencia de plantas evaluada en la visita a terreno.

Cuadro 1. Resultados de los análisis efectuados en laboratorio a cada lote de semilla e inspección de campo.

Análisis realizados	Empresa 1			Empresa 2	Empresa 3		Empresa 4	
	Agata	Atlantic	Red Fantasy	FL 2312	Puyehue	Porvenir	Patagonia N3	Patagonia PBT1
PIL	100%	96%	98%	94%	96%	79%	97%	87%
%TP	2,6	9,9	7,8	3,1	2,7	3,5	2,2	2,3
ID	1,3	1,9	1,8	1,6	1,3	1,5	1,4	1,0
qPCR: Fg ADN <i>Pectobacterium</i> /ADN total	0	13.496	1	14.660	1	22	28.653	85.119
qPCR: Fg ADN <i>Pectobacterium</i> /g piel tubérculo	0	193	0	231	0	0	627	1.383
% emergencia plantas en terreno	98,3	98,2	98,6	96,1	92,2	96,3	88,7	73,1
N° plantas con pie negro	0	0	0	0	0	0	2	0

*Donde PIL: potencial de infección latente, %TP: porcentaje de tejido podrido, ID: índice de daño.

Al comparar los valores de porcentaje de tejido podrido e índice de daño obtenido con la técnica de inducción de tubérculos en los 8 lotes de semillas evaluados con los resultados de la cuantificación de ADN de *Pectobacterium*, podemos informar que estos valores son bajos, indicativos de una buena calidad de semilla con un mínimo riesgo de expresar pie negro y pudriciones blandas. Incluso en los lotes de de Agata, Red Fantasy, Puyehue y Porvenir no se detectó el patógeno.

Al efectuar el seguimiento en campo, se pudo ver que la emergencia de plantas en los lotes fue alta y bastante similar en los distintos sitios de plantación visitados, no detectándose la presencia de pie negro en los cultivos, a excepción del lote evaluado en el predio de la Empresa N°4. En esta última, se observó el menor porcentaje de emergencia, notoriamente en el lote Patagonia PBT1, el cual, presentó la mayor cuantificación por PCR de *Pectobacterium* dentro de los lotes.

Si analizamos los resultados de la encuesta de manejo predial, se comunicó que el lote PBT1 fue rebajado de categoría a básico 1. Si se considera que ambos lotes pertenecen a una misma variedad y además presentaron el mismo manejo predial, probablemente el factor influyente en la expresión de pie negro y pudrición blanda haya sido la infección del tubérculo semilla, reflejado en la diferencia arrojada por la técnica de cuantificación de PCR.

Cabe destacar, que los asociados al proyecto en los cuales se hizo el seguimiento de lotes eran productores de semilla certificada, por lo que la calidad de su material era alta. Sería recomendable hacer evaluaciones en agricultores productores de papas comerciales o semilla corriente para seguir mejorando y obteniendo resultados de riesgo a expresar la enfermedad.

Cuadro 2. Resultados de la encuesta de manejo predial realizada a las empresas semilleristas que aportaron con muestras de sus lotes de semillas llevabas a plantación durante la temporada 2020-2021.

Preguntas encuesta	Empresa 1			Empresa 2		Empresa 3		Empresa 4	
1. Variedad de papa	Agata	Atlantic	Red Fantasy	FL 2312		Puyehue	Porvenir	Patagonia N3	Patagonia PBT1
2. Superficie plantada (ha)	102			109		1,15	1,5	1,5	1,4
3. Lugar de plantación	Cancura			Fundo Pindahue, Remehue		INIA La Pampa, Purranque		Laguna Bonita, Puerto Octay	
4. Fecha de plantación	05-11-2020			06-10-2021		12-11-2020		19-11-2020	
5. El terreno donde se estableció la plantación es:	Arrendado			Arrendado		Propio		Arrendado	
6. ¿Realiza análisis de suelo?	Si			Si		Si		Si	
7. ¿Fertiliza el cultivo de acuerdo al análisis de suelo?	Si			Si		Si		Si	
8. ¿Cuál fue su plan de fertilización de suelo?	Variable en relación a cada análisis de suelo			130-480-300 NPK		1000 Kg de mezcla 4-35-15-2-12-0,2 de N-P-K-Mg-S-Ca-B		1300 Kg mezcla 4-28-20	
9. ¿Realiza rotación de cultivo?	Si			Si		Si		Si	
10. ¿Aplicó riego al cultivo?	Si			Si		Si		No	
11. La aplicación de riego fue a:	Solo cuando se requirió			Calendario		Solo cuando se requirió		****	
12. El sistema de riego utilizado fue:	Carrete			Pivote, carretes y cobertura total		Aspersión		****	
13. ¿Desinfecta los equipos de riego?	No			No		No		****	
14. Si la respuesta fue Si ¿Qué productos utiliza para desinfectar y cual es el procedimiento?	****			****		****		****	
15. ¿Arrienda maquinaria agrícola para labores en el cultivo de papa?	No, cuento con mi propia maquinaria agrícola			No, cuento con mi propia maquinaria agrícola		No, cuento con mi propia maquinaria agrícola		Si arriendo, con procedencia conocida	
16. Antes de usar la maquinaria en el predio, ¿la sanitiza?	No			No		Si		Si	
17. Después de usar maquinaria en el predio, ¿la sanitiza?	No			No		Si		No	
18. El lugar donde almacenó la semilla antes de plantación cuenta con:	Ventilación y refrigeración			Ventilación y refrigeración		Ventilación y refrigeración		Solo ventilación	
19. ¿La plantación fue de forma mecánica?	Si			Si		Si		Si	
20. ¿Realiza control químico a la semilla antes de la plantación?	Si			Si		Si		No	
21. Si la respuesta fue Si, ¿Qué producto utilizó?	Vibrance Gold, Emesto Silver			Vibrance Gold		Mancozeb + Benomilo al momento de la plantación		Moncut (2L/ha en 100 L agua) al momento de la plantación	
22. ¿Aplica productos o enmiendas enfocadas a control bacteriano, ya sea a suelo o follaje?	No			No		Si		No	
23. Si la respuesta fue Si, ¿Qué producto utilizó?	****			****		Fertiyeso		****	
24. Ha observado problemas de pie negro o pudriciones blandas en la plantación del lote	No			No		No		Si	
25. Si la respuesta fue Si, ¿Qué porcentaje ha sido afectada?	****			****		****		menor al 0,1%	0,2% rebajada a básica 1
26. ¿Qué daño ha observado?	Otros: no se observaron daños de manera importante			****		Pudriciones blandas de tubérculos		Pie negro en plantas	
****: Sin respuesta									
Lote rebajado a básico 1									

A continuación, se muestran fotografías de las plantaciones tomadas durante las visitas a terreno.

Lote: FL2312NFT18, Fundo Pindahue, Osorno



Fotografía 1. Visita plantación correspondiente al lote de la variedad FL2312 ubicada en Fundo Pindahue, Remehue, Osorno, durante diciembre del 2020.

Lote: Agata, Cancura, Osorno.



Fotografía 2. Visita plantación correspondiente al lote de la variedad Agata ubicada en Cancura, Osorno, durante enero del 2021.

Lote: Atlantic, Cancura, Osorno.



Fotografía 3. Visita plantación correspondiente al lote de la variedad Atlantic ubicada en Cancura, Osorno, durante enero del 2021.

Lote: Red fantasy, Pichidamas, Osorno.



Fotografía 4. Visita plantación correspondiente al lote de la variedad Red fantasy ubicada en Cancura, Osorno, durante enero del 2021.

Lote: Puyehue, Purranque.



Fotografía 5. Visita plantación correspondiente al lote de la variedad Puyehue ubicada en Purranque, durante diciembre del 2020.

Lote: Porvenir, Purranque.



Fotografía 6. Visita plantación correspondiente al lote de la variedad Porvenir ubicada en Purranque, durante diciembre del 2020.

Lote: Patagonia, Laguna Bonita, Puerto Octay.



Fotografía 7. Visita plantación correspondiente al lote de la variedad Patagonia N3 y PBT1 ubicada en Laguna Bonita, Puerto Octay, durante enero del 2021.

ANEXO 4:

Objetivo N° 4. Desarrollar e implementar una plataforma de riesgo para enfermedades bacterianas de la papa como herramienta de apoyo para la adaptación al cambio climático.

Resultado esperado:

4.1 Plataforma de riesgo para pie negro y pudriciones blandas implementada.

Durante esta iniciativa se implementó una plataforma de evaluación de riesgo para las principales enfermedades en el cultivo de la papa, cuyo principal objetivo es orientar al usuario (a) sobre el manejo sanitario preventivo, basado en una autoevaluación y mejora continua. Esta plataforma está alojada en el sitio web <http://enfermedadespapa.inia.cl>. En este link se puede acceder a distintas secciones como:

Sección 1. Enfermedades de importancia para el cultivo de la papa: La plataforma muestra contenido sobre Marchitez bacteriana, Pie negro y Pudriciones blandas, Rizoctoniasis, Sarna plateada, Sarna polvorienta, Tizón tardío y Tizón temprano. Para cada una de estas enfermedades se puede encontrar información sobre: *agente causal, sintomatología, epidemiología y ciclo, control y una galería de imágenes.*

Sección 2. Evaluación del nivel de riesgo según el manejo: El usuario (a) llena una encuesta de 20 preguntas, de acuerdo a manejos realizados en campo y almacenamiento. Este cuestionario se divide en: Información general del usuario y del predio, información de manejo de semilla, suelo, fechas de plantación, riego, fertilización, aplicaciones de agroquímicos, cultivar utilizado, higiene predial y buenas prácticas agrícolas, entre otras. Al enviar la encuesta, el usuario (a) obtendrá información sobre la evaluación de riesgo para las diferentes enfermedades de la papa. La información entregada es confidencial y se utilizará con fines de investigación.

Cada pregunta de la encuesta fue valorada del 1 al 4, según la importancia del factor en el desarrollo de las siete enfermedades que se analizan dentro de la plataforma. A su vez, cada respuesta es valorada del 1 al 10, según el grado de riesgo para el desarrollo de la enfermedad. Estas dos valoraciones se ponderan para generar un puntaje final de riesgo: muy bajo, bajo, medio, alto y muy alto de acuerdo a la probabilidad de generar finalmente la enfermedad en el cultivo. Mientras mayor sea el puntaje obtenido, más alto es el riesgo que se produzca la enfermedad. Una vez obtenida la evaluación, la plataforma dispone de recomendaciones para cada enfermedad tendientes a reducir al mínimo el riesgo de ataque de la enfermedad. Toda esta información se utiliza en el diseño de matrices y programación de códigos computacionales de la plataforma, de modo que una vez respondido el cuestionario, se despliega un gráfico para cada enfermedad evaluada, donde

se expone los factores de riesgo involucrados en esta incidencia, tomando como base los datos ingresados.

Pregunta 1: ¿Qué tipo de tubérculo semilla de papa utiliza?								
Ponderación								
Nivel de riesgo		Valor de riesgo para cada enfermedad, según respuesta usuario (a)						
Más riesgoso	4	Respuesta riesgo/usuario	4	4	4	4	4	3
Riesgo intermedio	3		Rizoctoniasis	Sarna plateada	Pudrición blanda	Marchitez bacteriana	Sarna polvorienta	Tizón tardío
Moderadamente riesgoso	2							
No riesgoso	1							
		Papa (origen desconocido)	10	10	10	10	10	10
		Propia	5	5	5	10	8	8
		Comente	3	3	3	10	5	5
		Certificada	1	1	1	1	1	1
Puntaje final de riesgo			Rizoctoniasis	Sarna plateada	Pudrición blanda	Marchitez bacteriana	Sarna polvorienta	Tizón tardío
		Papa (origen desconocido)	40	40	40	40	40	30
		Propia	20	20	20	40	32	24
		Comente	12	12	12	40	20	15
		Certificada	4	4	4	4	4	3
Escala de riesgo utilizada			Muy bajo	Bajo	Medio	Alto	Muy alto	
			1	8	9	16	17	24
						25	32	33
								40

Figura 1. Ejemplo de valoración por pregunta utilizada en el desarrollo de la plataforma. La valoración se efectúa de la siguiente manera: en la enfermedad Pudrición blanda, si el usuario (a) marca la opción de semilla de origen desconocido tendrá una ponderación de 40 puntuación (proveniente de la importancia del factor en la enfermedad: nivel 4 * 10 puntos de la valoración de la respuesta), mientras si selecciona certificada su ponderación será de 4 (nivel 4* 1 punto respuesta), haciendo la diferencia entre un riesgo muy alto de muy bajo.

Sección 3. Manejo integrado de enfermedades del cultivo de papa. Muestra un resumen con las principales consideraciones para un control sanitario eficiente y sustentable.

Sección 4. Galería de imágenes. Está disponible una serie de fotografías para facilitar el reconocimiento de las distintas enfermedades y su sintomatología.

Sección 5. Material audiovisual, acá está disponible el material generado durante la iniciativa como podcast, videos, informativos, fichas técnicas.

Sección 6. Sitios de interés, que se podrá visitar como complemento a la información de la plataforma.

ANEXO 5:

Objetivo N° 5. Difundir y transferir resultados del proyecto.

Resultado esperado:

Actividades de difusión desarrolladas.

Dentro de este objetivo estaba considerado la realización de: 2 seminarios, 2 días de campo, 3 publicaciones divulgativas, 1 curso taller y difusión de la plataforma en 3 medios de comunicación y redes sociales. Sin embargo, debido a la contingencia sanitaria por COVID-19, algunas de estas actividades inicialmente contempladas debieron ser modificadas por recursos comunicacionales como podcast, videos y un webinar. Además, se describen otras no contempladas como la asistencia a reuniones científicas y publicaciones divulgativas adicionales. A continuación se presentan las actividades de difusión desarrolladas durante la iniciativa.

Seminario de lanzamiento del proyecto y día de campo.

Este seminario y día de campo fue realizado el día 25 de Enero del 2018 en el Centro Regional de Investigación INIA- Remehue, Osorno. El evento fue realizado dentro de la actividad “Tecnologías para un manejo informado de la sanidad del cultivo de papa” contando con la presencia de 80 personas. Esta actividad tuvo como objetivo dar a conocer la iniciativa dentro del rubro papero, abordando temas como generalidades de los problemas sanitarios relacionados a bacterias, situación en Chile y el efecto del cambio climático sobre plagas y enfermedades. Además del reconocimiento y epidemiología de estas enfermedades en campo. (Actividad reportada en informe técnico N°2)



INVITACIÓN

La directora ejecutiva de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), **María José Etchegaray Espinosa**, y el director de INIA Remehue, **Rodrigo de la Barra Ahumada**, saludan atentamente a usted y tienen el agrado de invitarle a participar del Día de Campo: “**Tecnologías para un manejo informado de la sanidad del cultivo de papa**”. En esta ocasión se darán a conocer los avances de diversos proyectos interinstitucionales que apoyan la sustentabilidad y competitividad del rubro de la papa.

La iniciativa cuenta además con el apoyo de la Dirección Meteorológica de Chile, El Servicio Agrícola y Ganadero, Consorcio Papa Chile, Semillas SZ S.A. y Semillas Llanquihue Ltda.

La actividad se realizará el día jueves 25 de enero de 2018, a partir de las 8:30 horas, en el Centro Regional de Investigación INIA Remehue, ubicado en Carretera Panamericana Sur, Km 8 al Norte de Osorno.

Favor inscribirse en el link: <http://remehue.inia.cl/inscripciones/form/index.cfm?evento=8D71EEC936310458>
Informaciones al teléfono (64) 2 334821 Secretaría, María Teresa Mundaca E-mail: tmundaca@inia.cl

Osorno, enero de 2018.



Seminario y Día de Campo:
“Tecnologías para el manejo informado de la sanidad del cultivo de papa”

25 de enero de 2018
INIA Remehue, Osorno, Región de Los Lagos.

Programa:

8:30 a 9:00 Inscripciones
9:00 – 9:15 Bienvenida
9:15 – 9:45 Situación actual de las enfermedades bacterianas causadas por *Pectobacterium* y *Dickeya* en Chile. Mónica Gutiérrez, Laboratorio Regional SAG Osorno.

9:45 - 10:15 Plataforma de análisis de riesgo para el manejo de enfermedades causadas por patógenos de suelo en papa. Ivette Acuña. INIA Remehue

Café

11:00-11:30 Uso de información meteorológica aplicada a la agricultura e interpretación del pronóstico estacional. Juan Quintana. Dirección Meteorológica de Chile.

11:30- 12:30 Uso del pronóstico meteorológico en los sistemas de alerta temprana para Tizón tardío. Rodrigo Bravo. INIA Remehue.

12:30-14:30 Actividades de terreno

- Manejo integrado de Rizoctonias y pudriciones blandas en papa. Ivette Acuña B. INIA Remehue.
- Técnica de detección de patógenos en suelo. Camila Sandoval. INIA Remehue

14:30 Refrigerio

Seminario en línea: “Enfermedades bacterianas de la papa: Avances y desafíos”.

Este webinar internacional fue realizado el 30 de septiembre del 2021 a partir de las 16:10 horas asociado a la Semana de la Sanidad y Medio Ambiente de INIA, contó con la participación de expertos nacionales y extranjeros. Esta actividad fue planificada en reemplazo del seminario de finalización inicialmente planificado dentro del plan operativo y suspendido por la contingencia COVID19.



INVITACIÓN

El director regional de INIA Remehue, **Sergio Iralra Higuera** y el representante regional de Los Lagos y Aysén, de la Fundación para la Innovación Agraria- FIA, **Leonardo Russo Castillo**, tienen el agrado de invitar a usted al seminario en línea “Enfermedades bacterianas de la papa: Avances y desafíos” en el marco del proyecto apoyado por FIA “Desarrollo de un paquete de manejo integrado para bacteria en el cultivo de papa, basado en un método de cuantificación del potencial de infección latente y su expresión en el campo, como medida de adaptación al riesgo sanitario frente al cambio climático”.

Este evento gratuito, se realizará el día jueves 30 de Septiembre a partir de las 16:10 hrs. Asociado a la semana de la sanidad y Medio ambiente de INIA.

Para inscripciones ingresar al siguiente link: <https://www.inia.cl/semanasanidadyvegetalymedioambiente/inicio>

INIA Y FIA esperan contar con su participación.

Septiembre 2021

El programa de la actividad fue el siguiente:



SEMINARIO FINAL

PROGRAMA:

Seminario: Enfermedades bacterianas de la papa: Avances y desafíos.

1. What We Know About Potato Dickeya Blackleg So Far.
(Qué sabemos del pie negro causado por Dickeya).
Dr. Gary Secor. NDSU. EE.UU.
2. Maintaining high health status of Scottish seed crops against blackleg disease
(Cómo mantener una alta sanidad en los cultivos de semillas escocesas contra el pie negro).
Dr. Ian Toth. The James Hutton Institute. Escocia.
3. Pie negro y pudriciones blandas: Avances en su estrategia de manejo.
Dra. Ivette Acuña. INIA Remehue. Chile.
4. Cuantificación y detección de bacterias en tubérculo semilla.
M.Sc. Camila Sandoval, INIA Remehue. Chile.
5. Biofilms en sistemas agrícolas, cómo afecta su epidemiología: Caso bacterias asociadas a papa.
Dr. Homero Urrutia. Universidad de Concepción. Chile.
6. Preguntas y discusión.



Algunas noticias del evento están disponibles en los siguientes links:

<https://www.mundoagropecuario.cl/new/webinar-internacional-enfermedades-bacterianas-de-la-papa-avances-y-desafios/>

Webinar internacional: "Enfermedades bacterianas de la papa: Avances y desafíos"

La actividad se efectuará hoy jueves 30 de septiembre y se enmarca en el proyecto apoyado por FIA "Desarrollo de un paquete de manejo integrado para bacteria en el cultivo de papa."

© septiembre 30, 2021



“ Este jueves 30 de septiembre, a partir de las 16:10 horas y asociado a la Semana de la Sanidad y Medio Ambiente de INIA, se realizará el seminario en línea internacional titulado: "Enfermedades bacterianas de la papa: Avances y desafíos".

Espacio
DISPONIBLE
PUBLICA AQUI
CONTACTANOS
info@mundoagropecuario.cl
+56 9 6553 1412

<https://www.diariodeosorno.cl/noticia/agro-y-ganaderia/2021/09/inia-y-fia-realizan-webinar-internacional-enfermedades-bacterianas-de-la-papa-avances-y-desafios>



DiarioDeOsorno

Diario de la Provincia de Osorno

min 19 max 14°

CONTRATA +

SUSCRIBE +



INICIO

QUEMOS SOMOS

AVISOS LEGALES

CATEGORÍAS

BUSCAR EN DIARIO DE OSORNO

CONTACTANOS

Agro y ganadería

⌵

Autor: Luis Opatz. Periodista INIA Remehue. 29 de septiembre de 2021

INIA y FIA realizan webinar internacional: "Enfermedades bacterianas de la papa: Avances y desafíos"



Compartir







Kitchencenter.cl



Para cada estilo de vida hay un Volkswagen

CLASIFICADOS YOPUBLICO.CL



licitación ABIERTA
PLANTA REVISIÓN
TÉCNICA - Padre Las
Casas - Reg. Araucanía

VER MÁS AVISOS

Otras noticias

⌵

Videos

Se elaboraron 3 videos sobre pie negro y pudriciones blandas en el cultivo de papa, manejo integrado y uso de metodologías de detección y cuantificación de bacterias.

***Video 1: Pudriciones blandas y pie negro.**

Acuña B., Ivette (2021-11). *Pudriciones blandas y pie negro* [en línea]. Osorno, Chile: Video INIA Remehue. N°89. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68307> (Consultado: 25 noviembre 2021).

***Video 2: Manejo integrado para enfermedades bacterianas en papa.**

Acuña B., Ivette (2021-11) *Manejo integrado para enfermedades bacterianas en papa* [en línea]. Osorno, Chile: Video INIA Remehue N°90. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68308> (Consultado: 25 noviembre 2021).

***Video 3: Metodología de detección y cuantificación de bacterias en papa.**

Sandoval S., Camila (2021-11) *Metodología de detección y cuantificación de bacterias en papa* [en línea]. Osorno, Chile: Video INIA Remehue. N°91. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68309> (Consultado: 25 noviembre 2021).

***Video 4: Plataforma de evaluación de riesgo para enfermedades del cultivo de la papa.** Sepúlveda T., Constanza. Este video actualmente está en proceso de edición, por lo que el link aún no está disponible.

Podcast

Se elaboraron 5 podcast dentro de la iniciativa ejecutada.

1. Epidemiología de pudrición blanda y pie negro

Acuña B., Ivette (2021) *Epidemiología de pudrición blanda y pie negro* [en línea]. Osorno, Chile: Cápsula Radial INIA Remehue. N° 337. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68292> (Consultado: 17 noviembre 2021).

Link Directo: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68292>

2. Manejo integrado de enfermedades bacterianas

Acuña B., Ivette (2021-11) *Manejo integrado de enfermedades bacterianas* [en línea]. Osorno, Chile: Cápsula Radial INIA Remehue. N° 338. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68293> (Consultado: 17 noviembre 2021).

Link Directo: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68293>

3. Manejo integrado de fusariosis

Acuña B., Ivette (2021-11) *Manejo integrado de fusariosis* [en línea]. Osorno, Chile: Cápsula Radial INIA Remehue. N° 339. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68294> (Consultado: 17 noviembre 2021).

Link Directo: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68294>

4. Manejo integrado de tizón tardío

Acuña B., Ivette (2021-11) *Manejo integrado de tizón tardío* [en línea]. Osorno, Chile: Cápsula Radial INIA Remehue. N° 501. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68295> (Consultado: 17 noviembre 2021).

Link Directo: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68295>

5. Reconocimiento de pudrición blanda y pie negro

Acuña B., Ivette (2021-11) *Reconocimiento de pudrición blanda y pie negro* [en línea]. Osorno, Chile: Cápsula Radial INIA Remehue N° 502. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68296> (Consultado: 17 noviembre 2021).

Link Directo: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68296>

Publicaciones divulgativas

***Revista ACHIPA:** Enfermedades que afectan el cultivo y la calidad de la semilla, publicada en Mayo del 2021.

https://campoytecnologia.com/achipa_mayo_2021

FITOSANIDAD

Pie negro y pudriciones blandas
ENFERMEDADES QUE AFECTAN EL CULTIVO Y LA CALIDAD DE LA SEMILLA



► **Ivette Acuña B.**
Ingeniera Agrónoma, Ph.D.
Investigadora INIA Remehue



► **Camila Sandoval S.**
Bioquímica, M.Sc.
Profesional INIA Remehue

En el cultivo de papa se describen más de un centenar de problemas sanitarios diferentes, encontrándose aquellos causados por hongos, virus, bacterias y nemátodos, entre otros, los que tienen diversa importancia y efectos en la producción, tanto en el rendimiento como en la calidad.

El control de estas enfermedades necesariamente considera un Manejo Integrado, es decir, se debe utilizar un sistema que considere todas las alternativas posibles para controlar o combatir una enfermedad, ya que una sola medida no es suficiente. Para tomar buenas medidas de control es fundamental conocer bien la enfermedad, su sintomatología, la relación patógeno-hospedero-medio ambiente, las condiciones favorables, resistencia o susceptibilidad de las variedades y el objetivo de la producción, entre otras. Además, se debe tratar de buscar opciones de bajo costo y compatibles con el medio ambiente.

Sabemos que la mayoría de las enfermedades de la papa se pueden transmitir a través del material de propagación, de modo que el principal factor que define el potencial de rendimiento de un cultivo de papa es la calidad del tubérculo semilla.

Conociendo la importancia de la calidad del tubérculo semilla se han implementado normativas que regulan su producción. En Chile se determinó un área como la única en la que se puede producir Semilla Legal de papa (certificada y corriente) y corresponde al Área Libre de plagas cuarentenarias, que se extiende entre la provincia de Arauco, en la región del Biobío, y las regiones de La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Magallanes.

Hoy en día, entre los principales problemas sanitarios asociados a la calidad de la semilla, están las pudriciones blandas y pie negro causados por las bacterias *Pectobacterium carotovorum* y *P. atrosepticum*.



Foto 1. Pudrición de tallos causada por *Pectobacterium* spp. Se pueden apreciar los síntomas de necrosis ascendente en los tallos causada por la pudrición del tubérculo madre.

Revista Papa, Asociación Chilena de la Papa

24 Mayo 2021

*Informativo INIA N° 281.

Aplicación de calcio durante la tuberización incrementa el rendimiento en el cultivo de la papa.

Martínez G., Ingrid y Acuña B., Ivette (2021) Aplicación de calcio durante la tuberización incrementa el rendimiento en el cultivo de la papa [en línea]. Osorno, Chile: Informativo INIA Remehue. N° 281. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68301> (Consultado: 22 noviembre 2021). LinkDirecto: <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/123456789/68301/Informativo%20INIA%20N%20c2%ba281.pdf?sequence=1&isAllowed=y>



Aplicación de calcio durante la tuberización incrementa el rendimiento en el cultivo de la papa

Editoras:

Ingrid Martínez G. (ingrid.martinez@inia.cl), INIA Remehue

Ivette Acuña B., INIA Remehue

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS - INFORMATIVO INIA REMEHUE N° 281 - AÑO 2021

El calcio es un macronutriente que juega un rol importante en el desarrollo y productividad de la papa (*Solanum tuberosum* L.). La transpiración es la principal fuerza que transporta el calcio en las plantas, el cual se mueve con el agua en el xilema y muy poco hacia los tubérculos, ya que su transpiración es casi nula. Es por ello, que los órganos de baja transpiración, como los tubérculos, padecen deficiencia de calcio. Esto sucede porque los tubérculos al estar rodeados de tierra húmeda transpiran mucho menos que la parte aérea de la planta. Debido a esto, el contenido de calcio en los tubérculos es bajo comparado con hojas y tallos.

Una mayor concentración de calcio en los tubérculos se relaciona con una mejor calidad y resistencia a enfermedades que atacan al cultivo. Por otra parte, la deficiencia de este elemento favorece desórdenes fisiológicos, lo que afecta sus cualidades para el procesamiento industrial.

Es posible incrementar el contenido de calcio en los tubérculos con aplicaciones de nitrato de calcio

(CaNO_3) en el suelo durante el periodo de tuberización, que corresponde a las seis semanas posterior a la emergencia completa del cultivo, como se observa en la Figura 1. Estudios desarrollados en la Región de los Lagos, demostraron un mayor desarrollo de la planta y un incremento en la productividad de Pukará-INIA, la que se caracteriza por ser una variedad semitardía, con aptitud de consumo fresco y para procesamiento.

El efecto del calcio se observa en la etapa de floración del cultivo

Los efectos de las aplicaciones de CaNO_3 en tuberización se pueden observar en la etapa de floración del cultivo, que corresponde aproximadamente a las tres semanas posterior a esta aplicación, con un incremento del 30% del peso fresco de los tubérculos al aplicar 200 kg/ha de CaNO_3 comparado con la fertilización NPK (Nitrógeno-



Esta publicación se realizó con el apoyo de la Fundación para la Innovación Agraria FIA, a través del proyecto "Desarrollo de un paquete de manejo integrado para bacterias en el cultivo de papa, basado en un método de cuantificación del potencial de infección latente y su expresión en campo, como medida de adaptación al riesgo sanitario frente al cambio climático".

*Ficha Técnica N° 161.

Cómo evitar la expresión del pie negro y las pudriciones blandas de la papa.

Acuña B., Ivette (2021-11) Cómo evitar la expresión del pie negro y las pudriciones blandas de la papa [en línea]. Osorno, Chile: Ficha Técnica Remehue. N° 161. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68302> (Consultado: 22 noviembre 2021). LinkDirecto: <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/123456789/68302/Ficha%20161.pdf?sequence=1&isAllowed=y>



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS - INIA REMEHUE

Sanidad Vegetal

Cómo evitar la expresión del pie negro y las pudriciones blandas de la papa

Ivette Acuña B. (iacuna@inia.cl) / INIA Remehue

El pie negro y las pudriciones blandas son causadas principalmente por bacterias del género *Pectobacterium*. La bacteria se alberga en las lenticelas del tubérculo y en el sistema vascular de la planta y se disemina por semilla enferma, agua, insectos y aerosoles bacterianos, es decir gotas de agua con la bacteria que son llevadas por el viento desde una planta enferma a una sana. Se estima que esta enfermedad puede causar pérdidas de 10 a 40%, tanto en campo como en almacenamiento. Sin embargo, el daño causado varía según la susceptibilidad del cultivar, las condiciones ambientales, la cantidad de inóculo de la semilla y el manejo del cultivo en campo y almacenamiento. La sintomatología de la enfermedad se puede expresar como pudrición blanda de tubérculos, pudrición de semilla y/o pie negro en plantas.

Sintomatología

Los tubérculos que provienen de plantas infectadas pueden verse aparentemente sanos o presentar síntomas que varían desde una ligera decoloración vascular al extremo del estolón, hasta pudrición blanda de tejido. Las bacterias se encuentran superficialmente en los tubérculos, en lenticelas, en heridas o bien en el sistema vascular donde se protegen de cualquier desinfectante. Las lesiones asociadas con lenticelas se presentan en forma de áreas circulares, ligeramente hundidas, de color canela a castaño. El tejido del tubérculo afectado por pudrición blanda es húmedo, de color crema o canela y de consistencia blanda ligeramente granulosa, fácilmente separable del tejido sano. A medida que avanza el daño adquiere un olor desagradable, debido a la presencia de organismos secundarios (Foto 1).



Foto 1. Pudrición blanda de tubérculos.



Foto 2. Pie negro en plantas de papa.

El pie negro en campo se manifiesta en tallos con una pudrición de color negro, el cual generalmente empieza con la pudrición del tubérculo-semilla y se extiende hacia arriba en el tallo (Foto 2). El daño puede afectar todo el tallo o solo unos cuantos centímetros en la base. Las plantas afectadas debilitan su desarrollo



Esta publicación se realizó con el apoyo de la Fundación para la Innovación Agraria FIA, a través del proyecto "Desarrollo de un paquete de manejo integrado para bacterias en el cultivo de papa, basado en un método de cuantificación del potencial de infección basales y su expresión en campo, como medida de adaptación al riesgo sanitario frente al cambio climático".

Agrosistemas Sustentables

Existen 2 artículos divulgativos que están en diagramación para su próxima publicación, estos llevan por título:

***Ficha técnica INIA:** Plataforma de evaluación de riesgo para enfermedades del cultivo de la papa como herramienta de apoyo para la producción. Autoras: Constanza Sepúlveda, Camila Sandoval e Ivette Acuña.

***Artículo para revista Tierra Adentro:** Nueva herramienta para evaluar la sanidad del tubérculo semilla de papa mediante qPCR. Autoras: Camila Sandoval e Ivette Acuña. Esta publicación está programada en la revista Tierra Adentro de Enero 2022.

Asistencia a reuniones científicas y congresos.

*** Reunión Euphersco 2017: *Dickeya & Pectobacterium* Workshop**, realizada los días 1 y 2 de noviembre del 2017 en Science and Advice for Scottish Agriculture (SASA) Edimburgo, Escocia. El trabajo presentado fue: **Potato seed treatment as a part of an Integrated management of black leg and soft rot in potato**. Acuña, I¹.; Sandoval, C¹.; Gutiérrez, M².; Bermúdez¹, A.; Araya¹, M. and S. Mancilla¹. ¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA Chile. ²Laboratorio Regional Osorno, Servicio Agrícola y Ganadero SAG Chile. (Reportado en informe técnico N°1).

***Reunión Euphersco 2018: *Dickeya & Pectobacterium* Workshop**, realizado los días 15 y 16 de noviembre del 2018 en la ciudad de Emmeloord, Países Bajos. En esta oportunidad se presentó el trabajo: **Evaluation of the resistance to soft rot of commercial potato varieties in Chile**. Acuña, I¹.; Sandoval, C¹.; Mancilla and A. Bermúdez. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA Chile. (Reportado en informe técnico N°3).

***Reunión EAPR 2019 (European Association for Potato Research**, sección Patología y Pestes), realizada desde el 2 al 5 de septiembre en Neuchâtel, Suiza. El trabajo presentado fue: **Advances in the quantification of *Pectobacterium* spp in the potato seed as a method to determine seed quality under an integrated management approach in Chile**. I.Acuña¹, C. Sandoval¹, M. Gutiérrez² and S. Mancilla¹.¹Institute of Agricultural Research, INIA Chile. ²Agricultural and Livestock Service, SAG Chile. (Reportado en informe técnico N°5).

***XVII Congreso Sociedad Chilena de Fitopatología**, realizado entre el 5 y 7 de noviembre del 2019 en la ciudad de Arica, Chile. Se presentaron dos trabajos, ya reportados en el informe técnico N°5.

- **Implementación de un método de cuantificación de *Pectobacterium* spp. en tubérculo semilla de papa, como herramienta para determinar su calidad sanitaria.** Sandoval, C., Mancilla, S., Bermúdez, A. y Acuña, I. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA Remehue, Osorno, Chile. Resumen N°49 en <https://www.sochifit.cl/resumen/xxvii-congreso-sociedad-chilena-de-fitopatologia-universidad-de-tarapaca-noviembre-2019-2/>
- **Detección e identificación de bacterias asociadas a “Pie negro” y pudrición blanda en cultivos de papa (*Solanum tuberosum*) en las Regiones de Los Ríos y de Los Lagos del Sur de Chile.** Gutiérrez, M¹, Duval, D¹, Asenjo, C¹, Oyarzo, O¹, Monsalve, J¹, Neira, P¹. Sandoval, C². y Acuña, I². ¹Servicio Agrícola y Ganadero. Laboratorio Regional-SAG Osorno. Ruta Pto. Octay U-55V calle de Servicio, Osorno. Chile. ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA Remehue Carretera Panamericana Sur Km 8 Norte, Osorno. Chile. Resumen N°77 en <https://www.sochifit.cl/resumen/xxvii-congreso-sociedad-chilena-de-fitopatologia-universidad-de-tarapaca-noviembre-2019-2/>

17. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Bain RA, Pérombelon MCM, Tsrer L, Nachmias A, 1990. Blackleg development and tuber yield in relation to numbers of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on seed potatoes. Plant Pathology 39, 125–33.

Brierley J, Lees A, Hilton A, Wale S, Peters J, Elphinstone J, Boonham N. 2008. Improving decision making for the management of potato diseases using real – time diagnostics. Potato Council Final Report R253 2008/6.

Darrasse A, Priou S, Kotoujansky A, Bertheau Y. 1994. PCR and restriction fragment length polymorphism of a pel gene as a tool to identify *Erwinia carotovora* in relation to potato diseases. Applied and Environmental Microbiology, 60, 1437–1443.

De Boer SH, Ward LJ. PCR detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* associated with potato tissue. Phytopathology. 1995;85: 854–858.

De Boer SH, Li X, Ward LJ. 2012. *Pectobacterium* spp. associated with bacterial stem rot syndrome of potato in Canada. Phytopathology. 102(10):937-47.

Duarte V, De Boer S.H, Ward L.J, De Oliveira A.M.R. 2004. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. Journal of Applied Microbiology, 96, 535–545.

Humphris SN, Cahill G, Elphinstone JG, Kelly R, Parkinson NM, Pritchard L, Toth IK, Saddler GS. Detection of the Bacterial Potato Pathogens *Pectobacterium* and *Dickeya* spp. Using Conventional and Real-Time PCR. *Methods Mol Biol.* 2015;1302: 1-16.

Kang, H.W., Kwon, S.W. and Go, S.J. 2003. PCR-based specific and sensitive detection of *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* by primers generated from a URP-PCR fingerprinting-derived polymorphic band. *Plant Pathology*, 52: 127-133.

Khayti S, Cigna J, Chong TM, Quêtu-Laurent A, Chan KG, Hélias V, Faure D. 2016. Transfer of the potato plant isolates of *Pectobacterium wasabiae* to *Pectobacterium parmentieri* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 66(12):5379-5383.

Perombelon, M.C.M. 2000. Blackleg risk potential of seed potatoes determined by quantification of tuber contamination by the causal agent and *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*: a critical review. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 30; 413-420

Nassar, A., Darrasse, A., Lemattre, M., Kotoujansky, A., Dervin, C., Vedel, R., & Bertheau, Y. 1996. Characterization of *Erwinia chrysanthemi* by pectinolytic isozyme polymorphism and restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified fragments of *pel* genes. *Applied and environmental microbiology*, 62(7), 2228–2235.

Toth, I. K. Sullivan, L. Brierley, J. L. Avrova, A. O. Hyman, L. J. Holeva, M. Broadfoot, L. Perombelon, M. C. M. McNicol, J. 2003. Relationship between potato seed tuber contamination by *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*, blackleg disease development and progeny tuber contamination. *Plant Pathology*. 52: 2, 119-126.

Weller SA, Elphinstone JG, Smith NC, Boonham N, Stead DE. 2000. Detection of *Ralstonia solanacearum* strains with a quantitative, multiplex, real-time, fluorogenic PCR (Taq-Man) assay. *Appl Environ Microbiol* 66:2853–2858.