

INFORME FINAL TÉCNICO

EJECUTOR: BIO INSUMOS NATIVA LIMITADA

NOMBRE DEL PROYECTO: "PRODUCCIÓN SUSTENTABLE, POSTCOSECHA Y COMERCIALIZACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS ORGÁNICAS EN LA VII Y VIII REGIONES PARA EL MERCADO INTERNACIONAL Y NACIONAL DE PRODUCTOS FRESCOS Y AGROINDUSTRIALES"

Herramienta N° 20: "Evaluación de Insumos Específicos para la Producción Orgánica de Frutas y Hortalizas"

CÓDIGO: PIT- 2007 - 003

N° INFORME: FINAL

PERIODO: Desde: Septiembre 2010 Hasta: Junio 2011

NOMBRE Y FIRMA COORDINADOR PROYECTO:

EDUARDO DONOSO CUEVAS

USO INTERNO FIA	
FECHA RECEPCIÓN	

1. RESUMEN EJECUTIVO.-

Concluido el desarrollo del proyecto por parte de Bio Insumos Nativa Ltda., se cuenta con un conjunto de productos comerciales y microorganismos los cuales fueron probados y analizados en experiencias de laboratorio y campo durante el período de duración del proyecto.

Las plagas y enfermedades en cultivos, estipulados en el comienzo del proyecto fueron Manzano, abordando los temas de *Venturia inaequalis*, *Eriosoma lanigerum*, *Pseudococcus* spp. y *Cydia pomonella*; Cerezos con *Pseudomonas syringae*, *Monilia* spp., Chape del cerezo; Hortalizas con problemas asociados a hongos y bacterias y pudriciones de frutos y otras plagas como *Tuta absoluta*, *Plutella xylostela*, *Agrotis* spp. y Nemátodos. Desde un cominezo se comenzó a trabajar en cada uno de estos problemas, incluso, a la lista se agregó la problemática del tizón del Frambueso, el cual sería sustituido por ensayos en arándanos. Sin embargo, existieron inconvenientes asociados a la contaminación de materilaes en el laboratorio, problemas asociados al clima (heladas), baja y nula incidencia en campo del patógeno (*Venturia inaequalis*) y la incertidumbre que generaba en los agricultores el uso de biocontroladores en estudio. Todo lo anterior provocó que algunas plagas y enfermedades quedaran sin la ficha del plan de manejo, a pesar de que se hizo trabajos en *in vitro* e *in vivo* con resultados positivos, lo que es un indicador, sin embargo, no permite tomar decisiones debido a que no determina la efectividad de los nuevos formulados en campo.

Finalmente, los productos seleccionados, se utilizaron para elaborar un plan de manejo por cultivo y por enfermedad, con el fin de entregar al agricultor nuevas herramientas para prevenir y controlar enfermedades y plagas asociadas a cultivos bajo manejo orgánico.

En las diferentes etapas de desarrollo del proyecto se realizaron alianzas de trabajo con la Universidad de Talca y Universidad Católica del Maule, desarrollando 20 tesis de pregrado. Además, se contó con el apoyo de la empresa privada, en especial, con el campo perteneciente a Agrícola Ana María ubicado en los Niches (Curicó). Otra institución que apoyó esta iniciativa, fue el Colegio Agrícola "María Auxiliadora" de Colín (Talca), otorgándonos las facilidades para desarrollar ensayos con el fin de prevenir y controlar *Venturia inaequalis* en sus manzanos, problemática de mayor importancia dentro del desarrollo de este proyecto y motivo por el cual se otorgó a Bio Insumos Nativa Ltda. un aplazamiento en el período de finalización del proyecto, ya que con el plazo inicial, no se alcanzó a finalizar la temporada agrícola, quedando pendiente el desarrollo del último

ensayo de campo, el cual permitiría definir la mejor estrategia para el manejo de este hongo fitopatógeno.

Una vez concluidos todos los ensayos de campo, se procedió a confeccionar los planes de manejo de los diferentes cultivos, en cada una de las enfermedades y plagas propuestas en el proyecto, con el objetivo de difundir estos resultados a los agricultores, quienes contarán con nuevas herramientas para enfrentar su problemática.

Los resultados fueron dados a conocer en una charla con agricultores organizada por Bio Insumos Nativa® Ltda., con el objeto de dar a conocer los resultados de los ensayos de laboratorio y de campo; además de presentar los planes de manejo destinados a todos los agricultores y productores orgánicos de la VII y VIII región.

Debido a que los nuevos microorganismos seleccionados para la prevención y control de *Venturia inaequalis* obtuvieron muy buenos resultados de campo, se utilizará los ensayos realizados, como pruebas experimentales para ser presentados al SAG y comenzar el proceso de obtención del registro pertinente en esta institución. Además y en forma paralela, se comenzarán los trámites para obtener la certificación orgánica BCS con homologación en IMO y SERES.

2. Resumen del Período

En el último período del proyecto, se pidió un aplazamiento de la fecha de término del éste, principalmente por el ensayo de campo donde se estaban evaluando nuevos biocontroladores en la prevención y control de *Venturia inaequalis* en manzanos, bajo condiciones de campo.

El objetivo de esta prórroga fue concluir el ensayo en manzanos, con las evaluaciones de precosecha, período que estaba fuera de los plazos de entrega del informe final técnico y de las actividades de difusión y transferencia para los agricultores y productores. Sin embargo, se finalizó exitosamente la evaluación, lo que permitió seleccionar los mejores biocontroladores y desarrollar una estrategia preventiva.

Una vez concluidos los ensayos, se elaboraron planes de manejo para cada cultivo y cada patógeno asociado, realizando fichas por cultivo, las cuales, tienen por finalidad ser entregadas al productor orgánico de la VII y VIII Región, herramienta que les permitirá contar con nuevos conocimientos y tecnologías, que serán un gran aporte a la hora de tomar decisiones.

Los planes de manejo fueron entregados a los agricultores en una charla de difusión, donde se dieron a conocer los resultados de los ensayos realizados durante el proyecto. Los resultados fueron presentados por el coordinador del proyecto, Eduardo Donoso Cuevas, quien abordó estrategias de manejos, productos comerciales y biocontroladores que se recomiendan en los planes de manejo.

Fue complicado acceder a campos donde se pudieran realizar ensayos con testigo absoluto o utilizar sectores sólo para evaluar nuevos biocontroladores, por el riesgo de contaminar, o aumentar el nivel patogénico del sector evaluado y las consecuencias o efectos en el agricultor que genera una situación de fracaso. Es por este motivo, que algunos trabajos realizados no se lograron concluir o generar una discusión, debido a la variabilidad de resultados. Sin embargo, Bio Insumos Nativa Ltda. Seguirá realizando trabajos de investigación para generar nuevas estrategias en la búsqueda de productos y biocontroladores que puedan resultar, una alternativa para el manejo de plagas y enfermedades en las cuales no se cumplió a cabalidad los objetivos iniciales.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general del proyecto

3.1.1 Desarrollar, evaluar y validar agentes de control de enfermedades y plagas, que se ajusten a la normativa orgánica, en cultivos de pomáceas, carozos y hortalizas.

El objetivo general del proyecto se cumplió a cabalidad, ya que desde un principio, se realizaron prospecciones para seleccionar microorganismos con un alto potencial como agentes biocontroladores, de enfermedades y plagas, para frutales y hortalizas bajo manejo orgánico. Para seleccionar los mejores biocontroladores, se realizaron pruebas en placa, de competencia (*in vitro*), en plantas (macetas) bajo condiciones controladas y se criaron insectos para hacer pruebas directas (*in vitro*), con la finalidad de discriminar los mejores microorganismos y comenzar a hacer pruebas de campo en hortalizas y frutales. Finalizado el período de pruebas de laboratorio y de campo, se cuentan con productos como el hongo biocontrolador *Trichoderma* spp. microorganismo eficiente en la prevención y control de hongos de suelo como *Phytophthora* spp., *Verticilium* spp., *Fusarium* spp., *Pythium* spp. y una cepa específica de Trichonativa®, para el control de *Botrytis cinerea*; también presenta una disminución del ataque de *Venturia inaequalis* en brotes y frutos. Además se cuenta con un formulado comercial (Nacillus®), bactericida compuesto por cepas nativas de *Bacillus* spp. y *Brevibacillus* spp. efectivo en la prevención y control de enfermedades como *Pseudomonas* spp., *Xanthomonas* spp. y *Clavibacter* spp., que atacan principalmente tomates y pimientos en la VII y VIII región. Otro formulado nuevo encontrado durante la prospección, fueron otras cepas de *Bacillus* spp., agente biocontrolador de plagas, con buenos resultados en Pulgón Lanígero y Chanchito blanco en manzanos.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Desarrollar y/o evaluar un formulado en base a microorganismos, para el control de plagas causadas por especies descritas en frutales bajo producción orgánica.

Este objetivo específico no se logró completamente debido a la dificultad de criar insectos *in vitro* y el temor que genera, desarrollar evaluaciones a nivel de campo, por el desmedro económico que podría generar el riesgo de evaluar nuevos productos en

huertos comerciales. Sin embargo, esto ocurrió sólo para algunas plagas como es el caso de *Cydia pomonella* (Polilla de la manzana), ya que no se pudo concretar evaluaciones de campo donde se pudiera utilizar sólo este producto. Se lograron hacer aplicaciones sólo sobre el manejo del huerto. Con respecto a la crianza, no se logró contar con individuos suficientes para realizar evaluaciones de laboratorio. Sin embargo, se desarrollaron ensayos de laboratorio y de campo para evaluar nuevos agentes biocontroladores para Pulgón Lanígero y Chanchito Blanco.

3.2.2 Desarrollar y/o evaluar un formulado en base a microorganismos, para el control de enfermedades causadas por hongos y bacterias en las especies descritas en frutales bajo producción orgánica.

Este objetivo se cumplió completamente ya que se realizaron ensayos para evaluar diferentes hongos fitopatógenos en placas (*in vitro*) y en plantas en maceta. Los productos formulados que se evaluaron para este objetivo son en base a *Trichodermas* spp. y *Bacillus* spp., donde se evaluaron dosis y momentos de aplicación. Además, se evaluaron formulados comerciales como cobre utilizados en agricultura orgánica y Polisulfuro de Calcio.

3.2.3 Desarrollar y/o evaluar un formulado en base a microorganismos, para el control de plagas causadas por insectos en hortalizas bajo producción orgánica.

Este objetivo específico al igual que en las plagas de frutales no se logró completar debido a la dificultad de criar insectos *in vitro* (*Tuta absoluta* y *Agrotis* spp.) y la reticencia que genera en los productores desarrollar evaluaciones a nivel de campo, por el desmedro económico que podría generar el riesgo de evaluación de nuevos productos que se encuentran en las primeras etapas de investigación. Esto ocurrió sólo para algunas plagas como es el caso de *Plutella xylostella* (Polilla del repollo), ya que no se pudo concretar evaluaciones de campo; en la crianza, no se logró contar con individuos suficientes para realizar evaluaciones de laboratorio. Sin embargo, se desarrollaron ensayos de laboratorio donde se logró evaluar *Agrotis* spp. (gusanos cortadores) y algunas experiencias en plantas en maceta con *Tuta absoluta*.

3.2.4 Desarrollar y/o evaluar un formulado en base a microorganismo, para el control de enfermedades causadas por hongos y bacterias en hortalizas bajo producción orgánica.

Este objetivo específico se cumplió completamente ya que se realizaron ensayos para evaluar diferentes hongos fitopatógenos en placas (*in vitro*); además de *Verticillium* spp., *Phytophthora* spp., entre otros, sobre plantas en maceta. Los productos formulados evaluados son en base a *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp., además se evaluaron dosis y momentos de aplicación. Es importante mencionar que Bio Insumos Nativa Ltda., cuenta con una basta experiencia en el manejo de hongos de suelo, y que afectan al follaje, como *Botrytis cinerea* y en bacterias fitopatógenas asociadas a cultivos de solanáceas, específicamente en tomate.

3.2.5 Proponer, validar y establecer alternativas de biocontrol de insectos y enfermedades de importancia, para un Programa Fitosanitario Estándar en frutales y hortalizas bajo producción orgánica validado en la zona para los frutales y hortalizas de interés.

Para el cumplimiento de este último objetivo, se elaboraron fichas con planes de manejo por cultivo y sus principales plagas y enfermedades. El objetivo fue entregar a los productores nuevas herramientas basadas en el uso de nuevos biocontroladores, productos y nuevas estrategias, para enfrentar problemáticas específicas (enfermedades y plagas) en cada cultivo. Los planes de manejo fueron entregados a los beneficiarios de las regiones involucradas en una charla de difusión. En esta oportunidad, se dieron a conocer los resultados de los ensayos realizados por Bio Insumos Nativa Ltda, por su director y coordinador del proyecto Eduardo Donoso Cuevas, además de presentar las fichas que contienen los planes de manejos de los diferentes cultivos.

4. Actividades Ejecutadas y Análisis de Brecha (Comparativo)

ENFERMEDAD	Descripción de actividades	Fecha inicio	Fecha realización	Observaciones
Sarna del manzano (<i>Venturia inaequalis</i>)	1. Recolección y reproducción de agentes de control biológico.	Mar 08-Dic 08	Ene 10-Jun 10	Se realizó la recolección de agentes de control y se han reproducido <i>in vitro</i> . Se recolectaron hojas con síntomas con <i>Venturia inaequalis</i> , se sembraron sin resultados positivos, ya que no se pudo aislar el patógeno en placa. Se comenzó este proceso en Enero del 2010. No se pudo aislar el patógeno.
	2. Evaluación de la capacidad inhibitoria <i>in vitro</i> de agentes de control sobre <i>Venturia inaequalis</i>	May 08-Oct 08	May 10-Feb 11	Esta etapa se comenzó durante el mes de junio del 2009 con pruebas <i>in vivo</i> , sobre hojarasca y ensayo de campo en manzano. Se realizaron las primeras evaluaciones de los contenedores con hojarasca de un tercer ensayo. Ensayo terminado.
	1. Evaluación de la capacidad inhibitoria <i>in vivo</i> de agentes de control sobre <i>Venturia inaequalis</i>	Oct 08-Nov 09	May 10-Feb 11	Este ensayo se volvió a desarrollar en dos campos. Sólo se concretó un ensayo, debido a que uno de los administradores no siguió con las aplicaciones de los controladores biológicos. Ensayo terminado con resultados positivos.

ENFERMEDAD/ PLAGA	Descripción de actividades	Fecha inicio	Fecha realización	Observaciones
Pudriciones en hortalizas (<i>Botrytis cinerea</i>, <i>Verticillium dahliae</i>, <i>Fusarium spp.</i>)	Ensayo <i>in vitro</i> : selección de agentes controladores factibles de utilizar en agricultura orgánica.	May 08- Ene 09	Dic 09 - Mar 10	Se seleccionaron agentes de control como Trichonativa® (<i>Verticillium dahliae</i>) Se realizó un ensayo para evaluar biocontroladores sobre <i>Botrytis cinerea</i> en tomates y se agregó ensayo de campo en arándanos. No se realizaron nuevos ensayos en esta materia.
	Evaluación de actividad inhibitoria, selección de los mejores agentes de control.			
Manchas negras en hortalizas (<i>Alternaria alternata</i>)	Ensayo <i>in vitro</i> : selección de agentes controladores factibles de utilizar en agricultura orgánica.	May 08- Ene 09	Oct 09 - Mar 10	No se realizaron nuevos ensayos en esta materia.
	Evaluación de actividad inhibitoria, selección de los mejores agentes de control.			
Pudrición de cuello y raíz (<i>Phytophthora spp.</i>)	Ensayo <i>in vitro</i> : selección de agentes controladores factibles de utilizar en agricultura orgánica.	May 08- Ene 09	Dic 09 - Mar 10	Ensayo finalizado
	Evaluación de actividad inhibitoria, selección de los mejores agentes de control.			
Chanchitos Blancos (<i>Pseudococcus viburni</i>)	Ensayos <i>in vivo</i> : Evaluación de plaguicidas orgánicos, microorganismos y extractos vegetales: pre y post inoculación; formulaciones, momentos, dosis, LD50.	Jul 09- Mar10	Oct 10 - Mar 10	Ensayos <i>in vitro</i> sin resultados positivos. Ensayo en plantas en maceta finalizado.
Nemátodos (<i>Meloydogine spp.</i>)	Ensayos <i>in vivo</i> : Evaluación de plaguicidas orgánicos, microorganismos y extractos vegetales: pre y post inoculación; formulaciones, momentos, dosis, LD50.	May08- May 09	May10-May 11	Se desarrolló ensayo en Vid vinífera var. Viognier en campo. Ensayo de campo finalizado.

Polilla de la manzana (<i>Cydia pomonella</i>)	Ensayos <i>in vivo</i> : Evaluación de plaguicidas orgánicos, microorganismos y extractos vegetales: pre y post inoculación; formulaciones, momentos, dosis, LD50.	May 08-May 09	Sep 09-May 10	Ensayo terminado.
Pulgón lanígero	Ensayos <i>in vivo</i> : Evaluación de plaguicidas orgánicos, microorganismos y extractos vegetales: pre y post inoculación; formulaciones, momentos, dosis, LD50.	May 08-May 09	Jul 09-Abr 10	Se realizaron colectas de la plaga desde huertos con presencia de la plaga, se inoculó una población inicial en manzanos en macetas a fines de Diciembre 2010. Ensayos terminados.
Eulia	Prospección y selección de agentes controladores: evaluación de agentes biocontroladores, extractos vegetales y microorganismos.	May 08-May 09	May 09-Nov 10	Ensayo de campo en arándanos orgánicos, concluido.
Polilla del repollo	Ensayos <i>in vivo</i> : Evaluación de plaguicidas orgánicos, microorganismos y extractos vegetales: pre y post inoculación; formulaciones, momentos, dosis, LD50.	May 08-May 09	Ene 10-Dic 10	Se tienen seleccionados agentes de control (<i>Bacillus thuringiensis</i> y otros). No se logró concretar ensayo.
Polilla del tomate	Ensayos <i>in vivo</i> : Evaluación de plaguicidas orgánicos, microorganismos y extractos vegetales: pre y post inoculación; formulaciones, momentos, dosis, LD50.	May 08-May 09	Oct 09-Ene 10	Se han seleccionado agentes de control biológico (<i>Bacillus thuringiensis</i>), entre otros. Ensayo de campo comenzado en plantas de tomate (botado), ya se aplicaron los tratamientos. Ensayo sin resultados positivos.

Gusanos cortadores	Ensayos <i>in vivo</i> : Evaluación de plaguicidas orgánicos, microorganismos y extractos vegetales:	May 08-May 09	Jul 09-Feb 10	De la crianza de <i>Agrotis</i> spp. se obtuvieron larvas de 1° estadio, pero no fueron suficientes para repetir ensayo.
	Ensayos de pre y post inoculación; formulaciones, momentos, dosis, LD50.	May08-May 09	Sep 10-Oct 10	No se concretaron más ensayos
Chape del cerezo	Ensayos <i>in vivo</i> : Evaluación de plaguicidas orgánicos, microorganismos y extractos vegetales: pre y post inoculación; formulaciones, momentos, dosis, LD50.	May 08-May 09	Dic 09	Ensayo <i>in vitro</i> establecido. No se concretó debido a que la severidad de la plaga fue alta, repercutiendo en la mortalidad de las plantas. No se desarrollaron nuevos ensayos.
Moniliasis en cerezo	Selección de agentes de control disponibles en mercado nacional Ensayos <i>in vitro</i> : actividad inhibitoria y selección MIC	May 08-Dic 08	Sep 10-Mar 11	No se logró concretar ensayo de campo, debido a que no se contó con huerto orgánico y en plantas en maceta no se logró inocular el patógeno
Tizón de Frambueso	Ensayos en campo: dosis, formulaciones, etc.	NUEVO (definido en reunión directorio)	Jul 09-Nov 09	No se ha realizado. Se cambió por ensayo en arándanos para manejo de Tizón (<i>Pseudomonas syringae</i>). Ensayo concluido.

Se finalizó ensayo, donde se evaluó combinaciones de los mejores biocontroladores (*Trichoderma* spp.) en la prevención y control de *Venturia inaequalis*, en manzanos orgánicos bajo condiciones de campo. Ensayo con resultados positivos, los cuales se describirán en la metodología.

5. Metodología

5.1 Selección de productos factibles de utilizar en la agricultura orgánica

La lista de insumos que se utilizó para el desarrollo de todos los ensayos es la que se presenta a continuación.

Lista de productos orgánicos utilizados en los ensayos.

- Trichonativa® (*Trichoderma* spp.).
- Nacillus® (*Bacillus* spp. y *Brevibacillus* spp.)
- *Bacillus* spp (bacterias formadoras de endosporas)
- Betk-03® (*Bacillus thuringiensis*)
- Virus de la Granulosis de la Carpocapsa.
- Feromonas (Codlemone).
- Biorend
- Zeolita
- Sílice
- Tierra de Diatomeas
- Polisulfuro de Calcio
- Azufre.
- Productos cúpricos (con certificación orgánica)

Se utilizaron diferentes metodologías para el desarrollo del proyecto. Estos protocolos de trabajos fueron elaborados según el objetivo de cada ensayo. Se realizó la prospección de nuevas cepas, ensayos de competencia *in vitro*, ensayos en plantas bajo condiciones semicontroladas y ensayos de campo. A continuación, se describen las diferentes metodologías mediante las cuales se desarrollaron los diferentes ensayos.

5.2 Prospección de nuevos biocontroladores.

Bio Insumos Nativa Ltda. está constantemente en la búsqueda de nuevos microorganismos, con la finalidad de encontrar alternativas para contrarrestar el ataque de agentes fitopatógenos en cultivos hortícolas y frutales. Durante esta prospección, se tomaron muestras de diferentes zonas geográficas, de diferentes huertos orgánicos, recolectando muestras de suelo, agua, malezas, plantas cultivadas, entre otros. Asimismo, se obtuvieron muestras de suelos descansados y de lugares con una alta biodiversidad, bosque nativo principalmente. La finalidad fue utilizar microorganismos con alto potencial de control biológico, y del banco de cepas pertenecientes a la empresa, para enfrentar la problemática de frutales y hortalizas con manejo orgánico. Estos microorganismos (potenciales biocontroladores) una vez que son aislados y purificados por metodologías validadas en el laboratorio, se realiza la colecta de microorganismos patógenos, los cuales son obtenidos de plantas que presentan síntomas y signos del desarrollo de la enfermedad. Cuando ambos componentes se encuentran aislados, se realizan pruebas de competencia en placa petri las cuales se describirá en el punto 5.2.1.

5.2.1 Pruebas de competencia.

Esta prueba de laboratorio se utilizó para evaluar la capacidad de posibles microorganismos frente a patógenos específicos. Se realizan dos pruebas diferentes, tanto para hongos como para bacterias.

5.2.1.1 Hongos

En placa petri con un medio específico (agar agar, PDA, malta), según patógeno. Se enfrentan como se observa en la Figura 1 para ver como se comportan, en condiciones ideales para que puedan desarrollarse (nutrientes, temperatura, luz, entre otros). De placas con colonias puras (biocontrolador y patógeno) se extrae un disco el cual se deposita en polos opuestos. Se evalúa el crecimiento radial (cm), cada 24 hrs y una vez que se encuentran los microorganismos, se analiza el comportamiento del biocontrolador: si sólo coloniza por espacio, si depreda al patógeno o si hay liberación de compuestos antibióticos, como se observa en las Figuras 2 y 3.

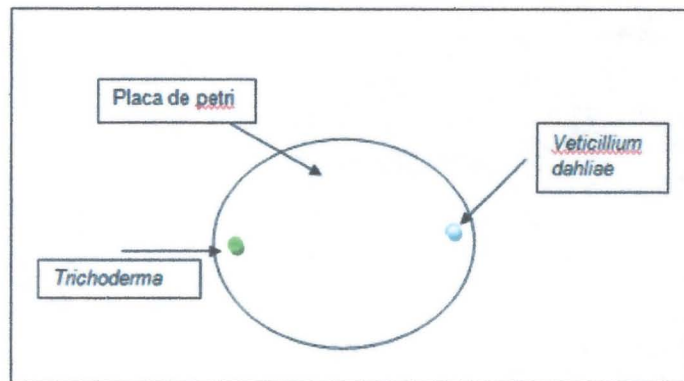


Figura 1. Imagen que muestra la ubicación que tendrá el fitopatógeno y del biocontrolador.



Figura 2. Imagen que muestra *Trichonativa* spp. que coloniza por espacio y *Fusarium* spp.



Figura 3: *Trichoderma* no sólo modifica el pH, sino que libera mico-toxinas y exo-enzimas que matan a los patógenos.

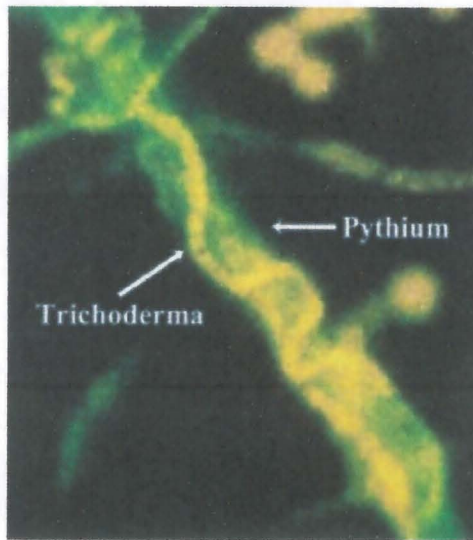


Figura 4. Micoparasitismo de Pythium por Trichoderma sobre la superficie de una semilla de arveja

5.2.1.2 Bacteria

Esta evaluación también se realizó en placa petri con un medio específico (agar, nutirente, Bking), según patógeno. Se siembra el patógeno en toda la placa como se observa en la Figura 5, y una vez que el patógeno colonice todo el medio, se coloca un disco con la bacteria biocontroladora extraídos de un cultivo puro. Se evalúa el halo de inhibición que se produce cuando se encuentran ambos microorganismos. Otra posibilidad, es sembrar líneas paralelas con el patógeno y una línea con el biocontrolador. Se evalúa el comportamiento del biocontrolador frente al patógeno, tal como se observa en la Figura 6.

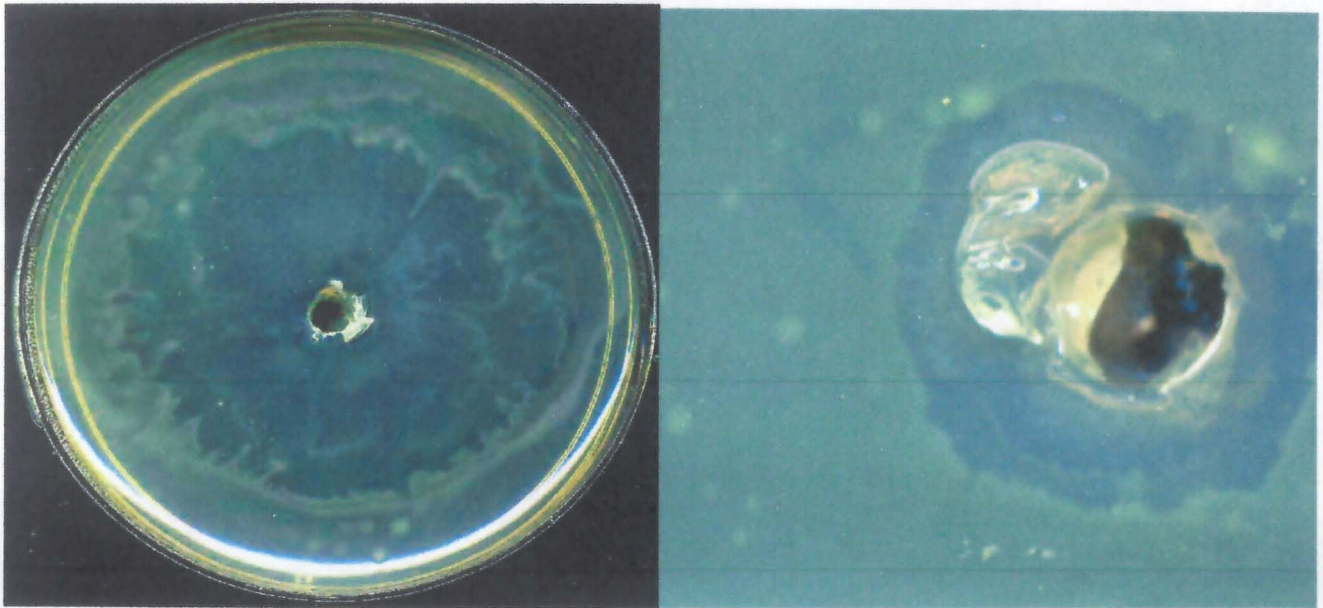


Figura 5. Inhibición producida por *Bacillus* spp. y *Brevibacillus* spp. sobre *Pseudomonas* spp.

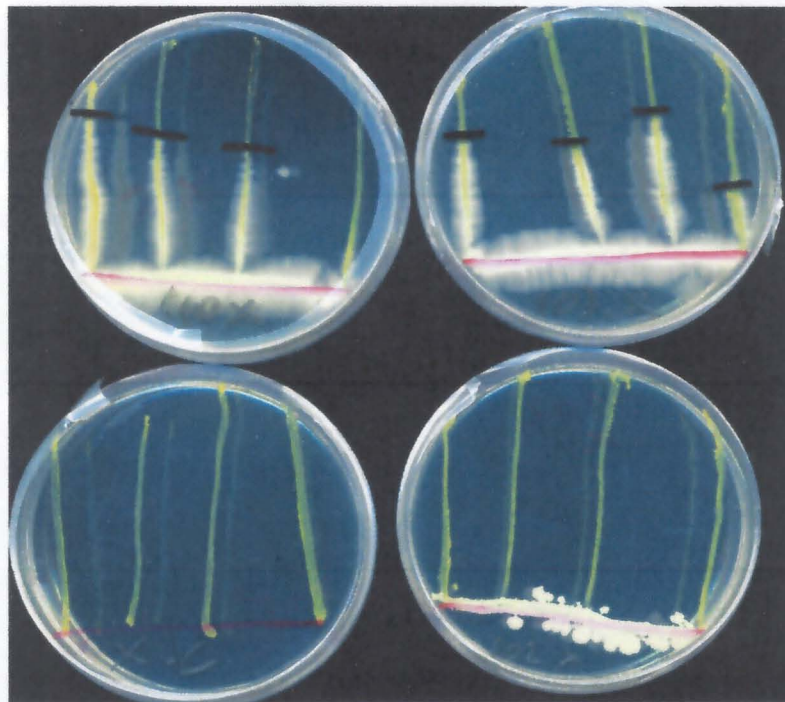


Figura 6. Depredación producida por *Bacillus* spp. y *Brevibacillus* spp. sobre *Pseudomonas* spp.

5.3 Ensayos en plantas (laboratorio).

Una vez seleccionados los mejores biocontroladores se procede a trabajar con plantas en macetas, donde se inocularon plantas con el patógeno, para ver el efecto de éste, sobre el desarrollo del cultivo. En ciertos casos, se realizaron heridas en las plantas para facilitar la entrada del patógeno. Los tratamientos aplicados con biocontroladores fueron preventivos (antes de inocular el microorganismo patógeno) o curativo (post inoculación). Los parámetros evaluados correspondieron a incidencia y severidad de la enfermedad y factores de rendimiento, como porcentaje de materia seca, (número, peso de frutos y calibre de frutos cuando fuera necesario), entre otros.



Figura 7: Cerezos en macetas, que se utilizaron para evaluar la efectividad de *Bacillus* spp y *Brevibacillus* spp. en la prevención y control de cáncer bacterial en cerezo.



Figura 8: Plantas de manzanos y tomates utilizadas para ensayos *in vivo*, en dependencias de Bio Insumos Nativa Ltda .

5.4 Ensayos de campo.

Después que se obtienen microorganismos con resultados positivos de las etapas anteriores, se procede a realizar ensayos de campo (semicomerciales), para evaluar su efectividad frente a las condiciones que se ve enfrentado el cultivo durante la temporada. Los ensayos se realizan en sectores donde históricamente existen antecedentes de la presencia de la enfermedad y/o plaga. Se comienza generalmente haciendo aplicaciones en momentos específicos según biología del patógeno en combinaciones con el manejo del huerto. Los mejores microorganismos se reevalúan en una segunda temporada, para descartar que los resultados estén relacionados con condiciones ambientales de una sola temporada (errático). Posteriormente, se evalúan dosis y momentos de aplicación y se estudia la posibilidad de reemplazar los productos anteriormente utilizados en el manejo del huerto, asociado a un tema de costos.



Figura 9: Aplicación con bomba carretilla biocontroladores de biocontroladores par aevaluarlos frente a pulgón lanígero en manzanos orgánicos en huerto de la VII Región.

5.5 Sarna del manzano (*Venturia inaequalis*)

5.5.1 Evaluación de la efectividad de controladores biológicos en la prevención y control sobre la liberación de inóculo e infección de *Venturia inaequalis* manzanos.

A mediados de Mayo del 2010, se estableció nuevamente un ensayo en el huerto de manzanos de la variedad Gala, perteneciente al Liceo Técnico Agrícola María Auxiliadora de la localidad de Colín, perteneciente a la provincia de Talca, para evaluar mezclas de los controladores biológicos que obtuvieron los mejores resultados durante la temporada pasada en campo. Se realizaron 7 aplicaciones de los biocontroladores durante la temporada; post caída de hojas, invierno, brotación, floración y después de precipitaciones con fruto formado.

Todas las aplicaciones de los biocontroladores se realizaron en una concentración de 10^9 conidias / mL con bomba carretilla (Colegio Agrícola de Colin), con un volumen de 1000 L/ha.

El ensayo fue conducido bajo un diseño experimental completamente al azar, con 6 tratamientos, 3 repeticiones (hilera). La unidad fue un árbol y se evaluaron 15 árboles por tratamiento.

Tratamientos

Tratamientos	
T0	Manejo Huerto
T1	Macerado + Linares + 9 glaciard sucio
T2	Macerado + 5 Vilches + 12 Glaciard sucio
T3	Macerado + Linares + 5 Vilches
T4	Macerado + 9 Glaciard sucio + 12 Glaciard sucio
T5	Linares + 9 Glaciard sucio + 12 Glaciard sucio
T6	Queule + Sherwood + Linares + 5 Vilches

Las evaluaciones que se desarrollaron fueron:

- Incidencia de la enfermedad en hojas (%).
- Porcentaje de daño en frutos (previo a cosecha).

5.5.2 Evaluación de campo del efecto de controladores biológicos sobre la liberación de inóculo e infección de *Venturia inaequalis* manzanos.

A mediados del mes de Junio del 2009 se recolectó hojarasca del huerto de manzanos de la variedad Red Chief, perteneciente al Liceo Técnico Agrícola María Auxiliadora de la localidad de Colín, Talca, las cuales fueron llevadas hasta las dependencias del Laboratorio de Bio Insumos Nativa, previa rotulación en campo y evaluadas durante un periodo de seis meses.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con 8 tratamientos, 4 repeticiones y 4 muestras por repetición (contenedores). La unidad experimental fue un contenedor.

Tratamientos

Dosis

T0: Testigo absoluto.	5 L. de agua.
T1: Controlador 1.	3 ml. de solución / L. de agua.
T2: Controlador 2.	3 ml. de solución / L. de agua.
T3: Controlador 3.	3 ml. de solución / L. de agua.
T4: Controlador 4.	3 ml. de solución / L. de agua.
T5: Controlador 5.	3 ml. de solución / L. de agua.
T6: Controlador 6.	3 ml. de solución / L. de agua.
T7: Controlador 7.	3 ml. de solución / L. de agua.

El ensayo tuvo 7 tratamientos con organismos que tienen un alto potencial como agentes biocontroladores, los cuales fueron probados en el laboratorio de Bio Insumos Nativa, de forma *in vitro*.. Los periodos de aplicación fueron, a fines de caída de hojas, dos aplicaciones invernales, brotación, floración y una aplicación postlluvia a fines de Noviembre, a la hojarasca y follaje dependiendo de la repetición correspondiente a cada tratamiento.

Las 5 aplicaciones de los biocontroladores, se realizaron en una concentración de 10^9 conidias/mL con bomba espalda.

La evaluación realizada consistió en el conteo de formación de pseudotecios de *Venturia inaequalis* y el porcentaje de liberación de ascosporas bajo cada tratamiento. Además, se evaluó la incidencia de la enfermedad en hojas y frutos durante precosecha.

5.5.3. Evaluación en campo de Biocontroladores en la prevención y control de *Venturia inaequalis* en manzanos variedad Granny Smith, bajo condiciones de campo”

Se estableció un ensayo en Agrícola Ana María, ubicada camino a Los Niches, Km. 6, en la provincia de Curicó, en manzanos con producción orgánica, variedad Granny Smith.

Los tratamientos aplicados fueron los siguientes:

Tratamientos	Productos	Dosis
T1: Manejo del huerto (M. H.)	Polisulfuro de calcio Azufre	120 L/ha 7kg/ha
T2: M.H + Mezcla	Trichoderma, Nacillus y Quitosano	5ml./L.
T3: M.H +Controlador 2	Cepa Coyhaique	5ml./L.
T4: M.H + Contrlador 3	Cepa Linares	5ml./L.
T5: M.H + Contrlador 4	Cepa Los Leones	5ml./L.
T6: M.H + Contrlador 5	Cepa Los Queñes	5ml./L.

Nota: Nombre de biocontroladores según el lugar de prospección donde fueron encontrados.

Cada tratamiento fue aplicado sobre una superficie de 7000 m², con un nebulizador cargado con 1500 L. de agua. La aplicación se realizó con todas las boquillas abiertas, para asperjar los controladores sobre el follaje y hojarasca del suelo.

El diseño experimental fue completamente al azar, con 5 repeticiones (repetición = 1 hilera) por tratamiento, tomando como unidad experimental un árbol. Se evaluaron 30 árboles por tratamiento (3 hileras centrales, 10 árboles por hilera) y 50 frutos por árbol.

Los controladores se aplicaron en 5 oportunidades: Post caída de hojas, dormancia, puntas verdes, post floración y fruto formado. Los parámetros evaluados fueron los siguientes:

- Porcentaje de daño en hojas (100 hojas por árboles).
- Porcentaje de daño en fruto.

5.6. Pudriciones en hortalizas (*Botrytis cinerea*, *Verticillium dahliae*, *Fusarium spp.*)

5.6.1 Evaluación de tres cepas nativas de *Trichoderma* spp. como control biológico de aislados de *Verticillium* sp. obtenidos de tomate.

Los ensayos fueron realizados en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Talca y en los invernaderos de la Estación Experimental Panguilemo de la misma Facultad.

Se utilizó el patógeno *Verticillium dahliae*. Este patógeno fue obtenido de la colección del Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias, el que fue aislado desde plantas de tomate infectadas. Para reactivar el patógeno, éste fue repicado y multiplicado en placas petri en medio de cultivo Agar Papa dextrosa (PDA). Una vez multiplicado el hongo, tres trozos de micelio de la colonia (muestra original) fueron colocados en 3 placas petri distintas conteniendo PDA y mantenidos en estufa a 25°C por 10 días.

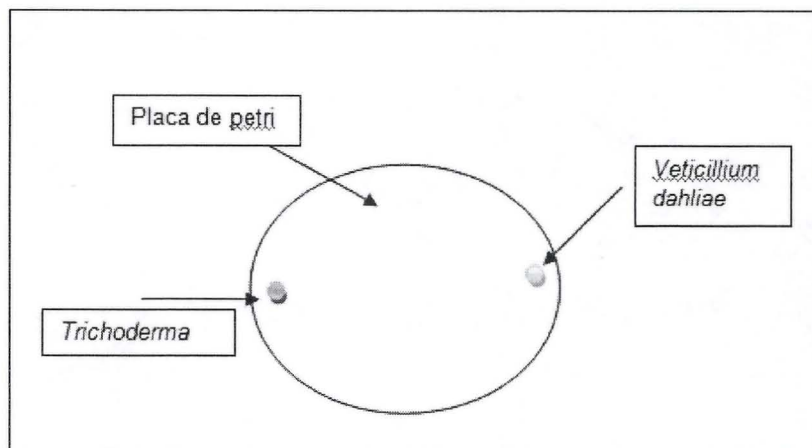
Para asegurar su patogenicidad, dos plántulas de tomate, fueron infectadas con micelio del aislado. Para esto se efectuaron dos heridas en el cuello de la planta donde se colocó el inóculo. Una vez desarrollados los síntomas propios de la enfermedad, se procedió a reaislar el patógeno desde el tejido enfermo sembrando en placas petri con medio PDA. Estos aislados fueron los utilizados en los ensayos *in vitro* e *in vivo*.

Se realizaron 2 ensayos simultáneos para la medir el efecto de tres cepas nativas de *Trichoderma* spp. como control biológico de aislados de *Verticillium dahliae* obtenidos de tomate. Las mediciones de ambos ensayos se realizarán entre los meses de mayo y octubre del 2008.

5.6.1.1 Evaluación *in vitro*.

Se midió el efecto de *Trichoderma* spp. sobre el crecimiento radial, expresado en centímetros del fitopatógeno en estudio en cada una de las placas. Se colocó en una placa un trocito de agar con *Verticillium dahliae* y en el polo opuesto a éste, se colocó un trocito de agar con una de las muestras de *Trichoderma*, como se observa a continuación.

Figura 10. Imagen que muestra la ubicación que tendrá el fitopatógeno y del biocontrolador



Estas mediciones se realizaron cada 24 horas, finalizándolas cuando el biocontrolador correspondiente al tratamiento cesó su crecimiento o completó la colonización de la placa. De esta manera se midió el crecimiento del hongo y el antagonista.

5.6.1.2 Evaluación *in vivo*.

Se estudió la eficiencia en el control preventivo de *Verticillium* de tres cepas de *Trichoderma* en plantas de tomate en macetas. Esta se estimó en base a la incidencia y severidad de la enfermedad que estas desarrollaron. Para esto, se utilizó plántulas de tomate trasplantadas a tubetes o macetas, que se contaminaron con conidias de *Verticillium dahliae* en concentraciones de 10^6 conidias/ml las que fueron aplicadas al cuello de la planta. Se dejaron por 48 horas, para que el hongo lograra establecerse y desarrollarse en las plantas. Posterior a esto, se aplicaron 3 cepas nativas de *Trichoderma* en dosis de 2 ml/L, en concentraciones de 10^6 conidias/ml.

A los 15 y 21 días post-inoculación, se midió el grado de marchitamiento utilizando la siguiente escala:

- 1: Planta sana.
- 2: Planta con síntomas de verticilosis.
- 3: Planta muerta, severidad en los daños provocados por el fitopatógeno.

Adicionalmente se midieron los porcentajes de incidencia, los que se determinaron de acuerdo al número de plantas con síntomas respecto del total.

	Tratamientos
T 1	Testigo
T 2	<i>Trichoderma harzianum</i> cepa nativa Queule
T 3	<i>Trichoderma parcenamosum</i> cepa nativa Trailes
T 4	<i>Trichoderma virens</i> cepa nativa Sherwood

Para el caso del ensayo *in vitro*, se agregó un total de 4 placas testigo por cada uno de los tratamientos con *Trichoderma*, para analizar el crecimiento de éstos con y sin el patógeno en el medio.

Los tratamientos en ambos ensayos se ordenaron en un Diseño experimental Completamente al Azar (DCA), con 4 tratamientos y 4 repeticiones. En el ensayo *in vitro* cada unidad experimental estuvo compuesta por 1 placa de Petri y en el *in vivo* (macetas) cada unidad experimental estuvo compuesta por una planta (20 unidades experimentales por repetición).

5.7 Pudrición de cuello y raíz (*Phytophthora spp.*)

5.7.1 Evaluación *in vivo* de tres cepas de *Trichoderma* y cinco cepas de *Bacillus* en el control de Tizón Tardío (*Phytophthora infestans*) en tomate.

Con el objeto de evaluar la acción de diferentes fungicidas en el control de tizón tardío en tomate bajo condiciones controladas, se estableció un ensayo en un invernadero, ubicado en la Estación Experimental Panguilemo, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca, a fines del mes de julio de 2008. El cultivo fue establecido a partir de plantas obtenidas de un almacigo de la zona.

La aplicación de los productos a evaluar se realizó 48 horas pre inoculación con *Phytophthora infestans*, la que se efectuó cuando las plantas tenían 6 hojas verdaderas. Estas aplicaciones se volvieron a repetir en dos oportunidades más. La segunda, cuando

el 5% de las plantas tuvo presenten síntomas de tizón tardío, y la segunda, dos semanas luego de la anterior (14 días).

Tratamiento	Producto	Dosis (cc/L)
1	<i>Trichoderma</i> (mezcla tres cepas)	2 cc/L
2	<i>Bacillus</i> spp.	2 cc/L
3	<i>Trichoderma</i> + <i>Bacillus</i>	4 cc/L
4	Metalaxilo	2,5 g/L
5	Testigo	Sin aplicación

Con el fin de asegurar la presencia del patógeno en el ensayo, se inoculó las plantas con una suspensión de propágulos del hongo, dos días después de realizar la primera aplicación de los tratamientos. El aislado a emplear ha sido obtenido desde folíolos de papa con síntomas de tizón tardío.

Los tratamientos evaluados se ordenaron en un diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones. Cada unidad experimental estará constituida por 10 macetas, cada una con plantas.

Las evaluaciones se realizaron en seis momentos distintos:

- previo a la inoculación con *Phytophthora infestans*.
- 7 días después de la primera aplicación.
- 14 días después de la primera aplicación.
- 7 días después de la segunda aplicación.
- 14 días después de la segunda aplicación.
- 21 días después de la segunda aplicación .

Se determinó la incidencia y severidad de la enfermedad. Se calculó de acuerdo a la gravedad de los síntomas presentes en los folíolos de cada planta, en base a una apreciación visual del área afectada. De esta forma, para cuantificarla se utilizó la siguiente escala ordinal, asignándole un número a cada categoría:

Grado de severidad	Gravedad de síntomas
Grado 1	Hoja sana
Grado 2	1-5% del área de la hoja afectada
Grado 3	5- 10% del área de la hoja afectada
Grado 4	11-20% del área de la hoja afectada
Grado 5	21-50% del área de la hoja afectada
Grado 6	Más de 50% del área de la hoja afectada

5.8 Bacteriosis en frutales

5.8.1 Determinación del efecto sistémico de *Bacillus* spp. en control de Cáncer Bacterial en cerezos (*Prunus avium*).

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con 7 tratamientos y 10 repeticiones. La unidad experimental fue un árbol de cerezo (en maceta) variedad Bing. Los tratamientos se describen a continuación.

Tratamientos

T1: Control *Pseudomonas syringae*

T2: Zeolita suelo + suspensión de *Pseudomonas syringae*.

T3: Zeolita follaje + suspensión de *Pseudomonas syringae*.

T4: Zeolita suelo + follaje + suspensión de *Pseudomonas syringae*.

T5: Nacillus suelo + suspensión de *Pseudomonas syringae*.

T6: Nacillus follaje + suspensión de *Pseudomonas syringae*.

T7: Nacillus suelo + follaje + suspensión de *Pseudomonas syringae*.

Los tratamientos fueron aplicados a 10 plantas y los potenciales controladores de *Pseudomonas syringae*, al suelo, follaje y a ambos (suelo y follaje). Veinticuatro horas después de la aplicación de los tratamientos, se realizó una aplicación de una suspensión de *Pseudomonas syringae* en una concentración de 1×10^6 UFC/ml, las cuales fueron extraídas de yemas atizonadas y canchales activos en rama, para evaluar la efectividad de

los productos en cuestión y realizar las comparaciones entre los tratamientos. A las plantas se les hicieron heridas, previa inoculación del patógeno, para asegurar la entrada del patógeno.

La evaluación se realizó entre los meses de Agosto y Diciembre y los parámetros evaluados fueron incidencia (número de yemas atizonadas / planta), vigor de la planta (número de hojas / planta), porcentaje de brotación y volumen de raíces.

5.8.2 Evaluación de *Bacillus* spp. en la prevención y control de *Xanthomonas corilyna* en Avellano Europeo bajo condiciones de campo.

El ensayo fue establecido en el Fundo Caracas de Agrichile en Cunco IX Región de la Araucanía. Se evaluó la efectividad de *Bacillus* spp. en la prevención y control *Xanthomonas corilyna* en Avellano Europeo, variedad Barcelona.

Variedad	Tratamientos	Dosis	Época de aplicación
Barcelona	Óxido cuproso	2 g/L	Mayo, Junio, Agosto, Septiembre y Octubre
	Óxido cuproso + Nacillus ®	2 g/L 1,5 g/L	Septiembre y Noviembre

El ensayo fue conducido en un diseño experimental completamente al azar, con un mínimo de tres repeticiones (repetición = hilera), cuya unidad experimental correspondió a una planta. En cada hilera se evaluará 15 plantas.

La aplicación se realizó con turbo en una concentración de 1,5 g/ L. con un volúmen de 1500 L / ha.

Los parámetros evaluados fueron:

Enero 2010

- Incidencia de brotes quebrados por *Xanthomonas corilyna*.

Cosecha (Abril 2010)

- Número de frutos por árbol / tratamiento.
- Peso de frutos (individual) por árbol / tratamiento
- Número de frutos vanos (%)

5.8.3 Evaluación de Nacillus ®, en la prevención y control de *Pseudomonas* spp. en kiwis

Este ensayo se realizó en un huerto de kiwi cv. Hayward de 6 años, con una densidad de plantación de 715 plantas/ha, con presencia de un ataque severo causado por *Pseudomonas* spp., ubicado en la comuna de Sagrada Familia.

Los tratamientos fueron aplicados a grupos de 3 hileras.

T0= Control sin aplicaciones

T1= Nacillus 1,5 g/L con 1500 L/ha con todas las boquillas abiertas.

Se realizaron 2 aplicaciones con diferencia de 7 días entre éstas.

Las evaluaciones se realizaron previo a las aplicaciones, se censaron las plantas, determinando el porcentaje de plantas con síntomas y clasificándolas según nivel de severidad, según la siguiente escala:

Escala	Características
0	Planta sana
1	Deshoje de cargadores
2	Árbol sin brotación
3	1 brazo podado
4	Planta rebajada (tocón)

A los 60 días, se repitió esta medición, determinando la variación en porcentaje de incidencia y promedio de nivel de severidad.

Adicionalmente, se contó la presencia de canchales en 10 plantas sintomáticas por unidad experimental, previo a las aplicaciones y luego a los 45 días, determinándose el incremento de canchales por planta.

En cada repetición se seleccionaron 10 canchales activos, previo a las aplicaciones y a los 10 días posterior a esta, se evaluó el estado de estos, estableciéndose el porcentaje de canchales secados en este periodo.

El diseño experimental constó en un diseño completamente al azar con 3 repeticiones por tratamientos, cada una compuesta por 3 hileras, evaluándose solo la hilera central y siendo replicado 3 veces. Entre cada tratamiento se dejaban 3 hileras adicionales.

5.9 Bacteriosis en hortalizas

5.9.1 Evaluación de Nacillus y Biocontroladores en la prevención y control de *Pseudomonas* spp. y *Xanthomonas* spp. en tomate industrial en condiciones de campo.

Se diseñó un ensayo en condiciones de campo en tomate industrial en bloque al azar, donde se aplicaron los siguientes tratamientos.

T1: Manejo del huerto.

T2: Nacillus. (3 g./L.)

T3: Nacillus. (5 g./L.)

T4: Biocontrolador A (3 g./L.).

T5: Biocontrolador B (5 g./L.).

Las aplicaciones de los biocontroladores se realizaron con bomba espalda y se realizaron 10, 20 y 30 días post plantación. Además por un ataque del patógeno, posterior a las aplicaciones realizadas por protocolo, se realizó una cuarta aplicación de los biocontroladores. Los parámetros evaluados fueron incidencia, porcentaje de folíolos dañados (severidad), diámetro de tallos, altura de plantas y rendimiento (número y peso de frutos) .

5.10 Pudriciones en Frutales

5.10.1 Evaluación de dos formulados de Trichonativa para la prevención y control de *Botrytis cinerea* en arándanos bajo condiciones de campo.

Este ensayo se desarrollo en la provincia de Curacaví en arándanos con producción orgánica, en la variedad Star, la más susceptible del huerto.

El ensayo fue conducido en un diseño experimental completamente al azar en una superficie de 0,5 ha. con tres repeticiones por tratamiento (hilera). Las aplicaciones se realizaron entre los meses de Agosto y Septiembre (Floración). Los tratamientos y dosis se detallan a continuación.

Tratamientos

T1: Bio traz.

T2: Trichonativa.

Se realizaron 3 aplicaciones de Biotras (dosis comercial) y 2 de Trichonativa (1,5 cc./L) durante el período de floración. Los parámetros a evaluar fueron incidencia (flores y fruto) y peso de frutos. Las evaluaciones consistieron en recolectar, flores y frutos (según período), por tratamiento, en 3 hileras centrales de 150 plantas. Las muestras se depositaban en cámaras húmedas (contenedores plásticos). Las evaluaciones se realizaron 7 después de depositar las muestras en los contenedores.

5.10.2 Evaluación de Trichonativa en la prevención y control de *Botrytis* spp. en arándanos var. Osrack y Legacy en condiciones de campo

Ensayo que se desarrolló en Agrícola Mataquito ubicada en la localidad de Curepto. Este trabajo fue conducido en un diseño experimental completamente al azar, en dos variedades de arándanos Osrack y Legacy bajo manejo orgánico. El ensayo tuvo 4 repeticiones (hileras de 400 m.), donde se evaluaron 200 plantas por hilera, la unidad experimental fue una planta.

Tratamientos

T1: Manejo del huerto (Tritac).

T2: Aplicaciones de Trichonativa (1,5 L / ha).

Las aplicaciones se realizaron en todo el período de floración, 2 para Trichonativa y 3 aplicaciones para el manejo del huerto.

Los parámetros evaluados fueron el desarrollo de *Botrytis* spp. en estructuras según la temporada: flores, restos florales y frutos, las cuales fueron sometidas a cámaras húmedas, dejándolas a 25°C, para entregarle todas las condiciones al patógeno para que se desarrollara y así poder determinar incidencia de *Botrytis* spp.

5.11 Polilla de la manzana (*Cydia pomonella*)

5.11.1. Evaluación en campo de Biocontroladores en la prevención y control de *Cydia pomonella* en manzanos variedad Gala Premium.

Durante el año 2008, se estableció un ensayo en Agrícola Ana María, ubicada camino a Los Niches, Km. 6, en la provincia de Curicó, en manzanos con producción orgánica, variedad Gala Premium. Los tratamientos aplicados fueron: T1:Control del huerto; T2: *Bacillus thuringiensis*, T3: *Bacillus thuringiensis* + Sílice, T4: *Bacillus thuringiensis* + Tierra de Diatomeas. Los tratamientos compuestos fueron mezclados en proporción 1:1. Las cepas de *Bacillus thuringiensis*, corresponden al formulado Betk-03®, perteneciente a Bio Insumos Nativa.

Cuadro 2. Tratamientos de ensayo en campo para Polilla de la manzana.

Tratamientos	Productos	Dosis
T1	Virus de la granulosis de la carpocapsa	1 L. / ha.
T2	<i>Bacillus thuringiensis</i>	3 g./L.
T3	<i>Bacillus thuringiensis</i> + Sílice	3 g./L.
T4	<i>Bacillus thuringiensis</i> + Tierra de Diatomea	3 g./L.

Cada tratamiento fue aplicado sobre una hectárea (dos cuarteles), con un nebulizador cargado con 1500 L. de agua. La aplicación se realizó con todas las boquillas abiertas, para cubrir el follaje. Anexo a la aplicación de los tratamientos, se colocaron dos trampas con feromonona (1 por cuartel), para evaluar número (captura), época de vuelo de adultos.

El diseño experimental fue completamente al azar, con 5 repeticiones (repeticón = hilera) por tratamiento, cuya unidad experimental correspondió a un árbol. Se evaluaron 30 árboles por tratamiento (3 hileras centrales, 10 árboles por hilera) y 30 frutos por árbol.

Los controladores se aplicaron en dos oportunidades: post floración y fruto formado, para ser evaluados previo a la cosecha.

Los parámetros a evaluar fueron los siguientes: Daño de Polilla de la manzana en frutos (porcentaje de daños) y posteriormente a la cosecha, se colocaron trampas de cartón para determinar número de larvas diapausantes.

5.11.2 Evaluación en campo de Biocontroladores en la prevención y control de *Cydia pomonella* en manzanos variedad Gala Premium.

La pasada temporada agrícola (2009-10), se volvió a establecer un ensayo en Agrícola Ana María, ubicada camino a Los Niches, Km. 6, en la provincia de Curicó, en manzanos con producción orgánica, variedad Gala Premium.

Tratamientos	Productos	Dosis
T1	Virus de la granulosis de la carpocapsa	1 L. / ha.
T2	<i>Bacillus thuringiensis</i>	5 g./L.
T3	Bacterias de Nemátodos	5 g./L.
T4	<i>Bacillus thuringiensis</i> + Bacterias de Nemátodos	5 g./L.
T5	Sílice	3 g./L.
T6	Tierra de diatomeas	5 g./L.
T7	Zeolita	5 g./L.

Los tratamientos compuestos fueron mezclados en proporción 1:1. Las cepas de *Bacillus thuringiensis*, corresponden al formulado Betk-03®, perteneciente a Bio Insumos Nativa.

Cada tratamiento fue aplicado sobre una superficie de 4500 m² (dos cuarteles), con un nebulizador cargado con 700 L. de agua. La aplicación se realizó con las boquillas abiertas, para cubrir el follaje. Anexo a la aplicación de los tratamientos, se colocaron dos trampas con feromonona (1 por cuartel), para evaluar época de vuelo de adultos.

El diseño experimental fue completamente al azar, con 5 repeticiones (repeticón = hilera) por tratamiento, cuya unidad experimental correspondió a un árbol. Se evaluaron 30 árboles por tratamiento (3 hileras centrales, 10 árboles por hilera) y 30 frutos por árbol. Los controladores se aplicaron según la acumulación de grados día y captura en trampas.

Los parámetros a evaluados fueron daño de Polilla en frutos (porcentaje de daños).

5.12. Eulia

5.12.1 Evaluación de *Bacillus Thuringiensis*, para la prevención y control de Eulia spp. en *Vid vinífera*, variedad Merlot, en viñedos orgánicos Sta. Emiliana

Se estableció un ensayo en Viñedos orgánicos Sta. Emiliana, ubicada en la comuna de Totihue, en vid vinífera, variedad Merlot.

En este huerto se aplicaron los siguientes formulados compuestos por *Bacillus thuringiensis*, BETK-03 ®, cepas nativas y Dipel®, producto importado. Los tratamientos aplicados fueron los siguientes:

Tratamiento	Producto	Dosis
T1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	2 K. / ha.
T2	Dipel	750 g. / ha.

Cada tratamiento fue aplicado sobre una hectárea, con un nebulizador cargado con 1000 L. de agua. La aplicación se realizó con las boquillas abiertas, para cubrir el follaje y tronco.

El diseño experimental fue completamente al azar, con 6 repeticiones (repeticón = hilera) por tratamiento. Se evaluaron 4 hileras centrales de cada tratamiento y 10 claros por hilera (4 plantas por claro).

Los controladores se aplicaron en tres oportunidades: floración, pinta y caída de hojas, para ser evaluados previo a la cosecha.

Los parámetros a evaluar fueron los siguientes:

- Porcentaje de brotes afectados.
- Daño en fruto (racimos): Porcentaje de frutos atacados por Eulia.
- Cosecha: Rendimiento, estimado por K. de fruta / repetición.

5.12.2 Evaluación de *Bacillus Thuringiensis* para la prevención y control de *Eulia* spp. en Arándanos con producción orgánica en condiciones de campo

Se estableció un ensayo en Agrícola Mataquito, ubicada en la comuna de Curepto, en arándanos var. Legacy.

En este huerto se aplicaron los siguientes formulados compuestos por *Bacillus thuringiensis*, BETK-03 ®, cepas nativas y Dipel®, producto importado. Los tratamientos aplicados fueron los siguientes:

Tratamiento	Producto	Dosis
T1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	2 K. / ha.
T2	Dipel	750 g. / ha.

Cada tratamiento fue aplicado sobre un cuartel de 2 ha. aproximadamente, con un nebulizador cargado con 800 L. de agua. La aplicación se realizó con las boquillas abiertas, para cubrir el follaje y tronco.

El diseño experimental fue completamente al azar, con 6 repeticiones (repetición = hilera) por tratamiento. Se evaluaron 3 hileras centrales de cada tratamiento donde evaluaban 100 plantas centrales en forma lineal.

Los controladores se aplicaron en tres oportunidades: 15 de Julio, 22 de Julio y 3 de Agosto. Las evaluaciones se hicieron el 6 Agosto, 3 días posterior a la última aplicación

Los parámetros a evaluar fueron los siguientes:

- Porcentaje de brotes afectados.
- Incidencia.

5.13. Gusanos cortadores

5.13.1 Evaluación de *Bacillus thuringiensis* y *Pasteuria* spp. para la prevención y control de *Agrotis* spp. en plantas de maíz en macetas

Se establecieron dos ensayos en los laboratorios de Bio Insumos Nativa, para evaluar la efectividad de dos bicontroladores, sobre gusanos cortadores, en plantas de maíz en macetas.

El maíz fue sembrado en bolsas plásticas negras de 25X20 cm, con un sustrato compuesto por compost, turba y perlita en proporción 1:1:0,5. Las plantas se mantuvieron en el laboratorio, con luz día, con un régimen de 12 hrs. de luz, a 25 °C (con las luces encendidas) y una mínima de 16 °C (con las luces apagadas).

Las larvas (100) fueron aportadas por el Laboratorio de Sanidad Vegetal, de la Universidad de Talca. Para realizar los dos ensayos fue necesario crear un sistema para que la planta pudiera seguir desarrollándose y la larva se alimentara sólo de la planta a la cual había sido inoculada. La siguiente imagen muestra el sistema que cumplió con los requisitos anteriormente nombrados.



El sistema consta de dos vasos plásticos transparentes de 1 L., que fueron pegados con scotch en forma opuesta. El vaso que está en contacto con el suelo, se le

cortó la base y fue enterrado en el sustrato 1 cm. aproximadamente. Al vaso que quedó arriba, se le hizo una ventana de 3x3 cm. para dejar escapar la evapotranspiración de la planta. Además, la base de este vaso fue perforado con un alfiler caliente con la misma finalidad.

De esta forma se logra asegurar que la larva se alimentara sólo de la planta en la cual se había establecido.

En este ensayo se utilizaron los siguiente productos: *Bacillus thuringiensis*, *Pasteuria* spp., la mezcla de ambas bacterias, Engeo (Químico, como control), y un testigo absoluto.

Tratamiento	Producto	Dosis
T1	Control Absoluto (agua destilada estéril)	-
T2	<i>Bacillus thuringiensis</i>	3 g. / L.
T3	<i>Pasteuria</i> spp.	3 g. / L.
T4	<i>Bacillus thuringiensis</i> + <i>Pasteuria</i> spp.	3 g. / L. Y 3 g. / L.
T5	Engeo	1 ml. / L.

El diseño experimental fue completamente al azar, con 10 repeticiones por tratamiento (5), como unidad experimental un planta.

Los controladores se aplicaron 48 hrs. antes de que las larvas fueran inoculadas a la planta. Se aplicó una larva por planta y fueron evaluadas cada 24 hrs. durante tres días bajo la siguiente escala.

Planta	Larva
Sana	Muerta
Mordida	Moribunda
Cortada	Viva

5.14. Chanchitos Blancos (*Pseudococcus viburni*)

5.14.1. Evaluación de Biocontroladores de Chanchitos blanco en manzanos, en condiciones de Laboratorio.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con 6 tratamientos y 3 repeticiones. La unidad experimental fue un árbol manzano Granny Smith.

Tratamientos

T0: Testigo (sin agente de control)

T1: *Bacillus thuringensis* (Btk-03)

T2: Tierra de diatomeas

T3: Sílice

T4: Zeolita (Ze)

T5: Bacterias formadoras de endosporas (BFE).

El ensayo se realizó entre los meses de agosto a marzo del año 2010, en las dependencias de Bio Insumos Nativa Ltda., ubicado en la comuna de San Javier.

En cada maceta se dispuso de una planta de *Malus domestica* L, variedades Royal Gala. Los individuos de *Pseudococcus viburni* (Signoret) se criaron por un período de dos a cuatro meses.

Se realizaron monitoreos cada 7 a 10 días, en el cual se contabilizaron las poblaciones de chanchitos de cada planta. Estos monitoreos se efectuaron desde Agosto- Septiembre hasta Diciembre de 2009, con el fin de establecer la dinámica poblacional desde el inicio de la aplicación de la plaga hasta el final del ensayo. Las muestras nos indicaron el volumen de los brotes y los efectos que causaron los agentes de control sobre *Pseudococcus viburni* (Signoret) y los brotes de *Malus domestica* L. (repelencia, mortalidad, entre otros.) Además en cada muestra se midió la densidad poblacional de *Pseudococcus viburni* (Signoret), por un área determinada.

5.15. Pulgón Lanígero

5.15.1 Evaluación de Biocontroladores en la prevención y control de Pulgón Lanígero en manzano var. Granny Smith en condiciones de campo.

Este ensayo se estableció en Agrícola Ana María, ubicada en el Km. 6 camino a Los Niches, Curicó, en mazanos var. Raku Raku con producción orgánica.

Tratamientos

T1: Manejo del huerto.

T2: *Bacillus thuringiensis* (5g / L; 50%) + Bacterias formadoras de endosporas. (5g / L; 50%)

T3: *Bacillus thuringiensis* (5g / L; 30%) + Bacterias formadoras de endosporas (5g / L; 30%) + Sílice. ((5g / L; 40%)

Nota: Porcentaje corresponde del 100% de la solución por tratamiento.

El ensayo fue conducido en un diseño experimental completamente al azar, con 3 repeticiones por tratamiento, 10 árboles por repetición, es decir, 30 árboles por tratamiento.

La evaluación se realizó seleccionando 4 ramas por árbol. Se hizo una medición inicial previa a la aplicación de los tratamientos, del número y tamaño de colonias por ramas.

Las aplicaciones de cada uno de los tratamientos se hicieron en Noviembre y Diciembre del 2009 respectivamente, con un volumen de 1500 L / ha.

Una semana después de cada aplicación se realizó una evaluación del número y tamaño de cada colonia de pulgón lanígero en cada una de las 4 ramas por árbol rotuladas desde un principio.

6. RESULTADOS E HITOS.

6.1 Sarna del manzano (*Venturia inaequalis*)

6.1.1 Incidencia en hojas y frutos de *Venturia inaequalis* en árboles de manzanos variedad Gala, bajo condiciones de campo

Se realizó la evaluación de la incidencia en hojas y frutos producida por *Venturia inaequalis*, previo a la cosecha, medición que consistió en evaluar hojas de brotes del año por árbol, 30 frutos por árbol, 15 árboles por tratamiento.

Los datos fueron sometidos al análisis estadístico correspondiente, resultados que se pueden observar en el siguiente gráfico.

Porcentaje de frutos con *Venturia inaequalis* en huerto abandonado en la VII Reg

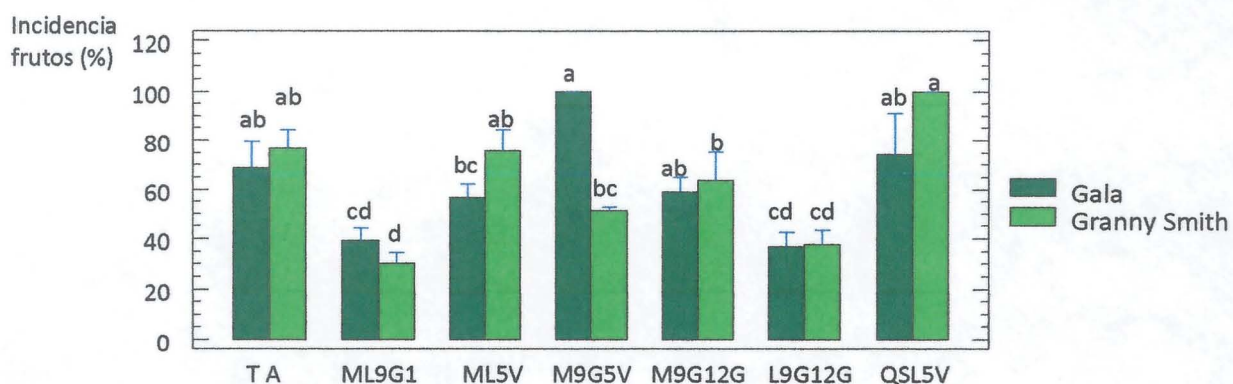


Gráfico 1: Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas, según test de Tukey ($p \leq 0,05$).

% de hojas por brotes con *V. inaequalis* en huerto abandonado en la VII Reg.

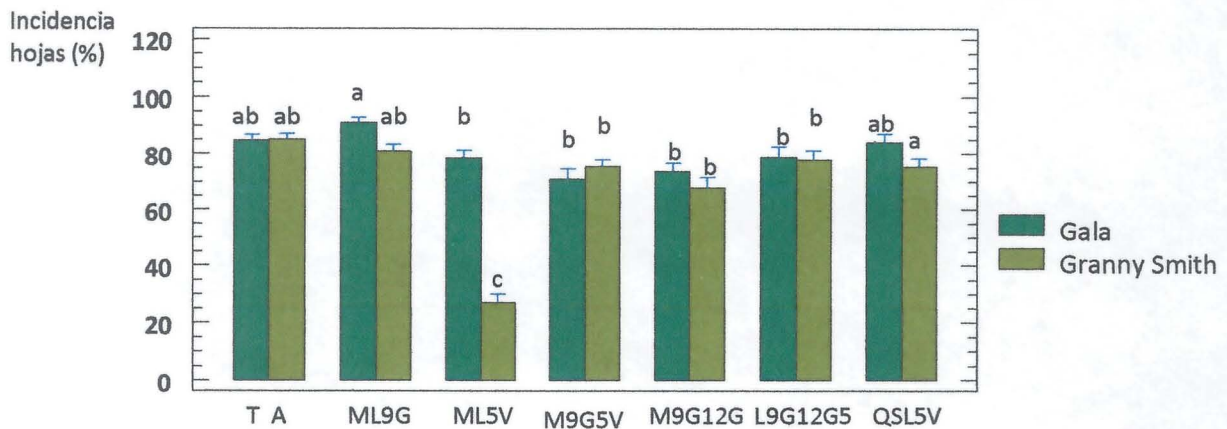


Gráfico 2: Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas, según test de Tukey ($p \leq 0,05$).

Respecto a la incidencia en hojas, los mejores biocontroladores son Macerado, Linares, 5 Vilches, presentando diferencias estadísticas significativas respecto del testigo en la variedad Gala.

En frutos los mejores biocontroladores evaluados fueron Macerado, 9 Glaciar sucio, 12 Glaciar sucio y Linares, ya que presentan una menor incidencia de *Venturia inaequalis*.

6.1.2 Evaluación de campo del efecto de controladores biológicos sobre la liberación de inóculo e infección de *Venturia inaequalis* manzanos.

6.1.2.1 Evaluación hojarasca

Durante la temporada 2009-10 se evaluó la hojarasca de acuerdo a las fechas establecidas en metodología. Se tomaron muestras previo a la primera aplicación de los controladores, para establecer el nivel de inóculo del campo.



Contenedores con hojarasca de manzanos (temporada 2009).

Después de cada aplicación de los tratamientos se tomó muestras, las cuales fueron llevadas a laboratorio y observadas a la lupa para establecer el número de pseudotecios presentes en 10 hojas por contenedor, quincenalmente (3 evaluaciones), las cuales fueron rotuladas en la primera evaluación (por colecta de hojarasca). A cada tratamiento se le asignaron 4 repeticiones, los cuales se ubican de acuerdo a los puntos cardinales, utilizados como bloque para la evaluación estadística.

A continuación se presentan los resultados obtenidos de la evaluación de número de Pseudotecios evaluados de la hojarasca durante la temporada.

Acumulación de Pseudotecios por tratamiento durante la temporada

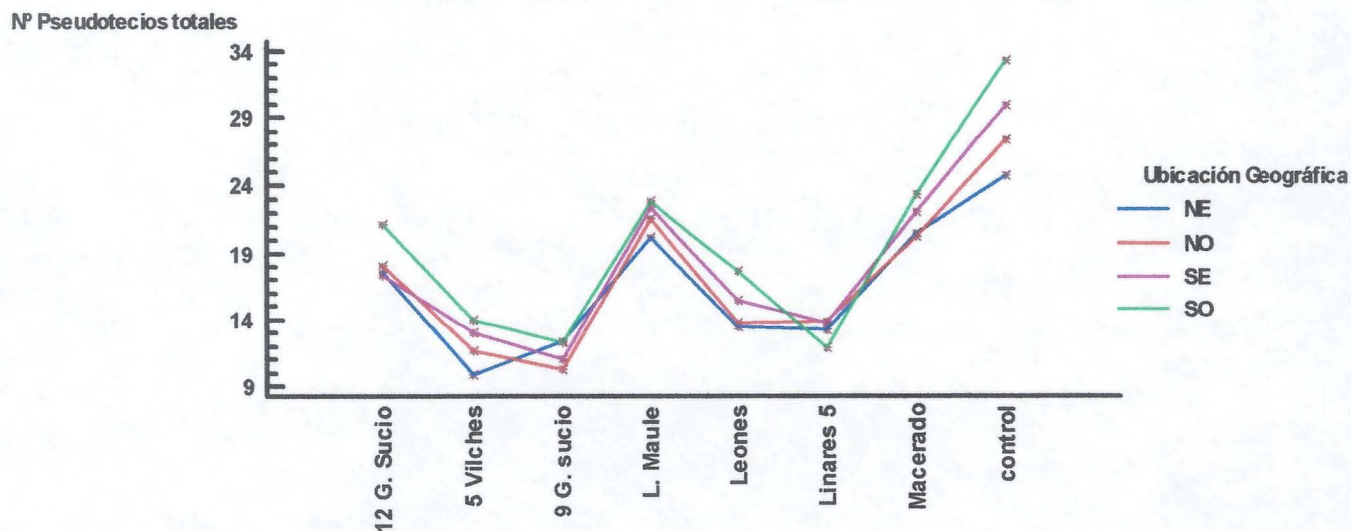


Gráfico 3: Tratamientos según número de Pseudotecios acumulados durante la temporada.

Acumulación de Pseudotécios por ubicación geográfica durante la temporada

Nº Pseudotécios totales

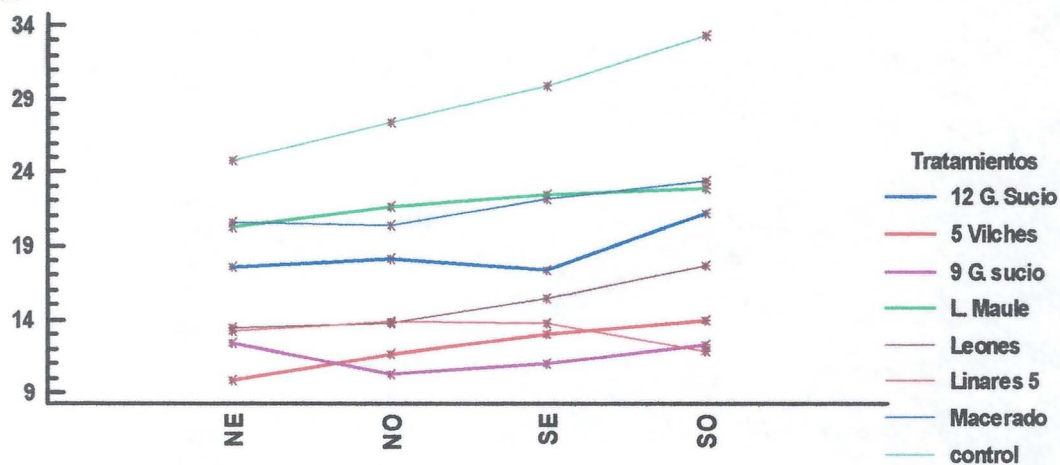


Gráfico 4: Acumulación de Pseudotécios por puntos cardinales de los diferentes tratamientos.

De los gráfico se desprende que los mejores tratamientos, que acumularon un menor número de Pseudotécios durante la temporada fueron 9 Glaciar sucio, 5 Vilches y Linajes 5.

Acumulación Pseudotécios por tratamiento durante la temporada

Nº Pseudotécios totales

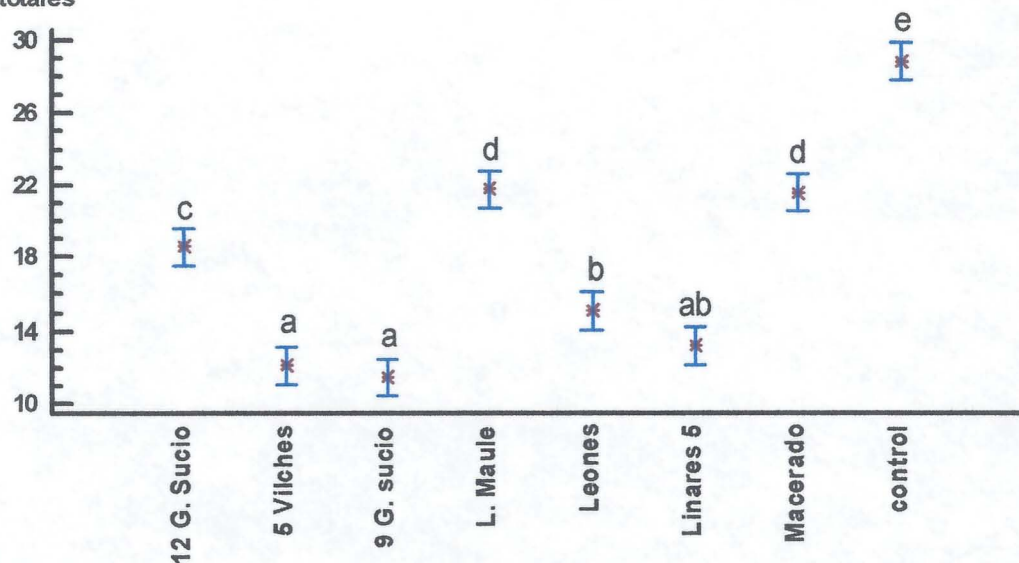


Gráfico 5: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

Del gráfico N° 5 se puede comprobar que todos los biocontroladores presentan diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$), en comparación al control, es decir, presentan una acción biocontroladora sobre los pseudotecios que se desarrollan en la hojarasca de los manzanos. Los mejores controladores que lograron disminuir el número de pseudotecios en hojas infectadas con *Venturia inaequalis*, son los biocontroladores 5 Vilches, 9 Glaciér Sucio y Linares 5, cepas de hongos biocontroladores pertenecientes a Bio Insumos Nativa.

Además de la evaluación de pseudotecios, se realizó una evaluación de la incidencia en hojas y frutos producida por *Venturia inaequalis*, previo a la cosecha, medición que consistió en evaluar 100 hojas y de 30 frutos por árbol, 10 árboles por tratamiento.

Los datos fueron sometidos al análisis estadístico correspondiente, resultados que se pueden observar en el siguiente gráfico.

6.1.2.2 Incidencia en hojas y frutos de *Venturia inaequalis* en árboles de manzanos variedad Red Chief, bajo condiciones de campo

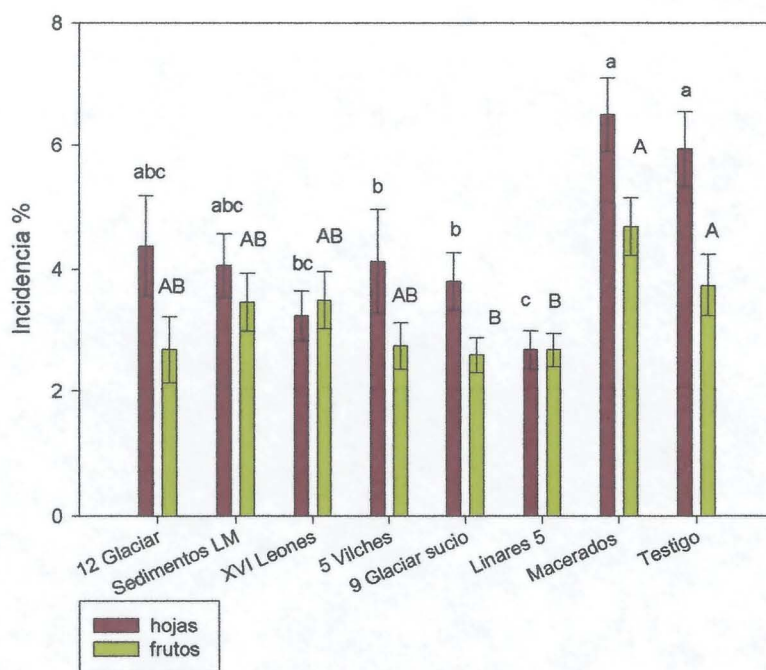


Gráfico 6: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

Respecto a la incidencia en hojas los mejores biocontroladores son XVI Leones, 5 Vilches, 9 Glaciador sucio, especialmente la cepa Linares 5, presentando diferencias estadísticas significativas respecto del testigo.

En frutos los mejores biocontroladores evaluados fueron 9 Glaciador sucio y Linares, ya que presentan una menor incidencia de *Venturia inaequalis*.

6.1.3 Evaluación en campo de Biocontroladores en la prevención y control de *Venturia inaequalis* en manzanos variedad Granny Smith

Se realizaron cinco aplicaciones durante la temporada. La primera se realizó después de caída de hojas, la segunda en invierno (dormancia), la tercera en puntas verdes, la cuarta en fruto cuajado y la quinta en fruto formado. Las dos últimas aplicaciones se hicieron posterior a precipitaciones, con nebulizador, con todas las boquillas abiertas y con un volumen de 1500 L./ha.

La evaluación de incidencia de hojas y frutos por *Venturia inaequalis*, se realizó previo a la cosecha, medición que consistió en evaluar 100 hojas y de 30 frutos por árbol, 15 árboles por hilera, 3 hileras por tratamiento (repetición) .

Los datos fueron sometidos al análisis estadístico correspondiente, información que entrega el siguiente gráfico.

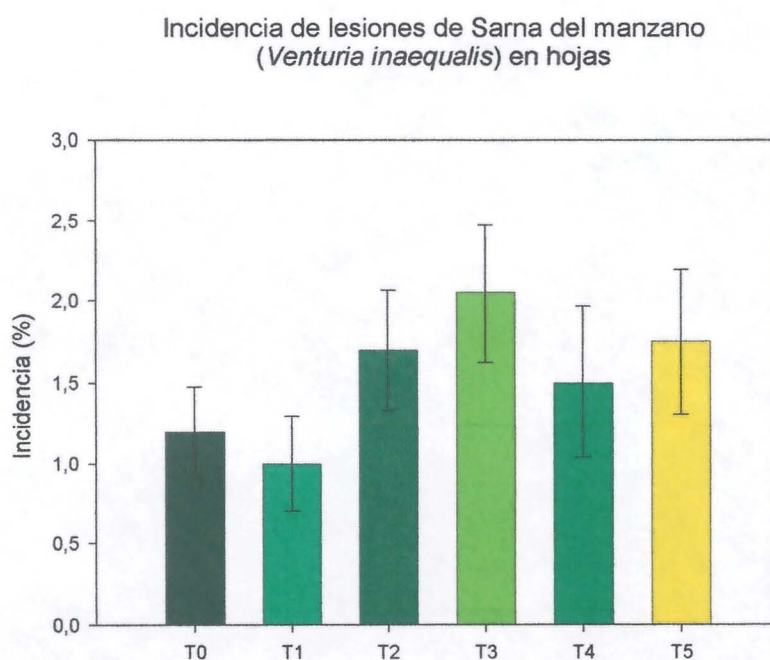


Gráfico 7: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p > 0,05$).

Incidencia de frutos dañados por *Venturia inaequalis* a cosecha

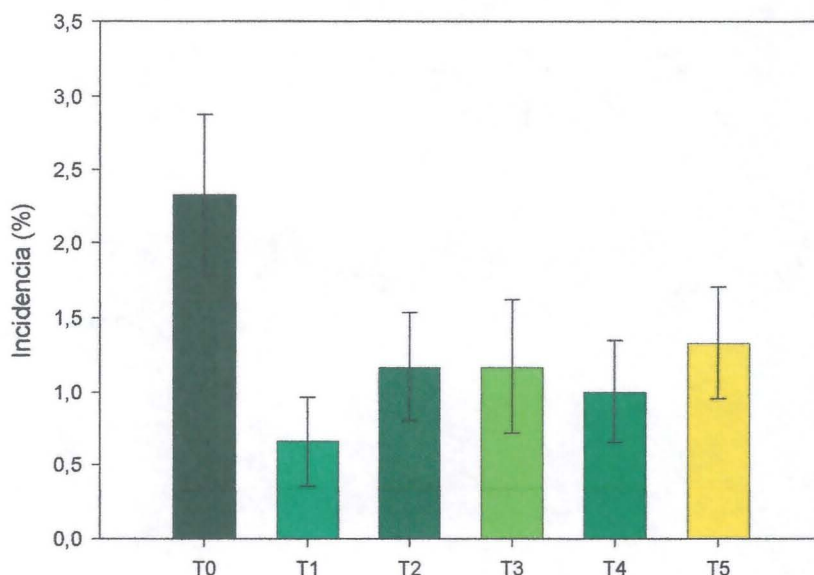


Gráfico 8: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p > 0,05$).

En ambos gráficos no se aprecian diferencias estadísticas significativas, sin embargo, existe una tendencia tanto en hojas como en frutos, para el biocontrolador compuesto por *Trichoderma* spp. + *Bacillus* spp. y Quitosano (T1), en disminuir el desarrollo de *Venturia inaequalis*.

6.2 Pudriciones en hortalizas (*Botrytis cinerea*, *Verticillium dahliae*, *Fusarium* spp.)

6.2.1. Evaluación de tres cepas nativas de *Trichoderma* spp. como control biológico de aislados de *Verticillium* sp. obtenidos de tomate.

6.2.1.1 Evaluación *in vitro*.

Este ensayo se comenzó a desarrollar en Octubre del 2008, en conjunto con la Universidad de Talca. Se realizaron dos ensayos en paralelo, uno *in vitro* y otro *in vivo* en plantas de tomate en macetas.

El desarrollo de *V. dahliae* frente a las cepas nativas de *Trichoderma* spp. fue estudiado por un periodo de 6 días, tiempo luego del cual no se presentó un aumento en

el radio de crecimiento de la placa testigo (por lo que no fue necesario continuar con las mediciones). Estas se realizaron a diario, procurando que siempre fueran a la misma hora.

Se pintaron marcas con plumón en las placas Petri, que calzaban con el punto medio de los trozos de agar incorporados en éstas, con ambos microorganismos, realizando mediciones desde un mismo punto cada día. Con lo anterior, fue posible disminuir el error y obtener valores más confiables (como se observa en la figura 4.1.). Con una regla se midió el radio de crecimiento expresado en centímetros (a partir de cada punto en dirección al centro de la placa) en las diferentes evaluaciones.

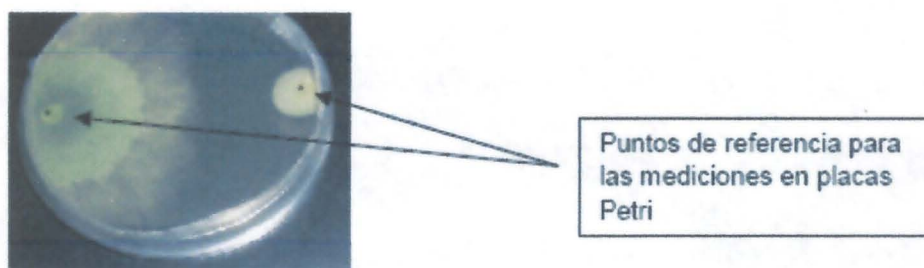


Figura 1. Puntos bases de medición del radio de crecimiento de ambos microorganismos.

Cuadro 1. Inhibición *in vitro* del crecimiento de *V. dahliae* por distintas cepas de *Trichoderma* spp. luego de 6 días de incubación a 25°C.

Tratamientos	Inhibición (%) ¹
1: Cepa nativa Queule (<i>Trichoderma harzianum</i>)	64,9
2: Cepa nativa Trailes (<i>Trichoderma parcenamosum</i>)	60,6
3: Cepa nativa Sherwood (<i>Trichoderma virens</i>)	66,2
Significancia	n.s.

¹ Porcentaje de inhibición con respecto al testigo de *V. dahliae*, el que se desarrollo en las mismas condiciones (en estufa a 25°C y por un período de 6 días), pero sin la presencia de *Trichoderma* spp.

n.s. El experimento no fue capaz de detectar estadísticamente diferencias significativas entre los tratamientos.

A pesar de que las tres cepas presentan una alta inhibición del crecimiento del patógeno, no hay diferencias estadísticas respecto un tratamiento de otro.

En este cuadro también se puede apreciar que ninguno de los aislados evaluados fue capaz de evitar el desarrollo de *V. dahliae* en su totalidad o de inhibir en un 100% su crecimiento. Lo anterior se explicaría por el hecho de que *Trichoderma* es un biocontrolador que actúa principalmente por competencia, colonizando de manera prematura el medio en el cual se desarrolla (en comparación con *V. dahliae*, cuyo crecimiento es más lento en el tiempo). Así, el antagonista, deja sin sustrato o área libre para colonizar al agente fitopatógeno, que cesa su crecimiento rápidamente al no encontrar un medio en el cual desarrollarse y alimentarse.

Adicionalmente, a lo largo de este ensayo, fue posible observar el segundo tipo de control ejercido por el antagonista sobre *Verticillium dahliae*, que corresponde a antibiosis. El biocontrolador, mediante la secreción de sustancias que inhiben el crecimiento del fitopatógeno, detiene su normal desarrollo. Este tipo de control pudo ser observado en las placas a través de la presencia de un halo producido en la periferia del micelio de *Trichoderma*, dentro del cual no se desarrolló *Verticillium*, producto de la presencia de estos compuestos (Fig.2).

Una vez que las mediciones se dieron por finalizadas, producto de la detención del crecimiento del fitopatógeno en la placa testigo, se pudo observar el tercer mecanismo de acción del biocontrolador en las demás placas. Este corresponde a micoparasitismo o depredación del biocontrolador sobre el patógeno. De esta forma, fue posible observar el desarrollo del antagonista alrededor de *Verticillium* para posteriormente desplegar sus estructuras especializadas, similares a ganchos o apresorios (Elad et al, 1993) que le permiten ingresar al interior del fitopatógeno, alimentándose y estableciendo su micelio por sobre el tejido de este.

Los diferentes mecanismos de control se presentan en la siguiente figura, donde es posible observar la misma placa con ambos microorganismos a lo largo de su desarrollo, destacando la última imagen, en donde *Trichoderma* cepa Sherwood depreda completamente a la colonia de *V. dahliae*.



Figura 11. Diferentes modos de acción de *Trichoderma* sobre *Verticillium dahliae* observados en el ensayo in vitro. En este caso, se observa la cepa nativa Sherwood, en distintas etapas de desarrollo (en los días 4, 5 y 6 post-siembra).

A pesar de que las cepas de *Trichoderma* con las cuales se trabajó en este ensayo, poseen distintos orígenes geográficos, el porcentaje de inhibición de cada uno de ellos sobre *V. dahliae*, bajo condiciones in vitro, es igual estadísticamente, por lo que se tomó la decisión de probar el efecto de las 3 cepas en conjunto frente a *V. dahliae* en condiciones *in vivo* en plantas de tomates, para ver si en este medio de cultivo, las cepas de *Trichoderma* muestran algún tipo de diferencia en su comportamiento y en el control de *V. dahliae*.

6.2.1.2 Evaluación *in vivo*

6.2.1.2.1 Incidencia

Los distintos tratamientos utilizados en este ensayo fueron medidos en 3 fechas distintas de desarrollo del cultivo; a los 15 días post- inoculación, que fenológicamente coincidió con el inicio de floración, a los 21 días, que coincidió con caída de pétalos y cuaja y a los 40 días, fecha en la cual la fruta se encuentra en expansión celular. Donde esta última medición que se realizó, no fue incluida en las tablas de análisis de datos que se presentan a continuación, ya que las bolsas que contenían el sustrato de las plantas de tomate, no tenían el volumen suficiente para contener la cantidad de agua necesaria para satisfacer las demandas hídricas de los días de mayor temperatura en el invernadero, por lo que en esta última etapa de desarrollo las plantas presentaron síntomas de marchitamiento, estimulados probablemente, por la deshidratación causada por estas

condiciones, lo que podría haber sido confundido con los síntomas ocasionados por Verticilosis.

Cuadro 3. Efecto biocontrolador de las distintas cepas de Trichoderma (Queule, Trailes y Sherwood), sobre la incidencia de Verticilosis plantas de tomates (cv. María Italia) artificialmente infestadas con *Verticillium dahliae*, expresados como porcentaje de plantas enfermas, en relación al total de ellas, evaluadas en distintas etapas de crecimiento.

Tratamiento	Incidencia 1 (%) 10 – 10 - 2008	Incidencia 2 (%) 17– 10 - 2008
1: Testigo con inoculación de <i>V. dahliae</i>	77,0 b	91,5 b
2: <i>T. harzianum</i> , cepa Queule	68,7 ab	83,3 b
3: <i>T. parcenamosum</i> cepa Trailes	75,0 b	83,3 b
4: <i>T. virens</i> cepa Sherwood	48,0 a	68,7 a
Significancia	**	**

El análisis estadístico de los porcentajes obtenidos de las diferentes incidencias, se realizó en base a datos que fueron transformados mediante la función arcsenU(%). Promedios en columnas seguidos con igual letra, no difieren estadísticamente según Test de Tukey (pT0,05).

Como se observa existieron diferencias altamente significativas ($p=0,01$) en las distintas fechas de medición correspondientes a la incidencia de Verticilosis en las plantas de tomates. En cada una de estas fechas, la cepa nativa Sherwood fue superior al resto de los tratamientos, presentando un porcentaje significativamente menor de plantas enfermas en relación al total de las plantas evaluadas. Esto se aprecia mediante los porcentajes de incidencia, que en el caso del tratamiento testigo supera el 77% en la primera medición y más de 91% en la segunda, porcentajes muy superiores al 48% obtenido en el primer caso de Trichoderma Cepa Sherwood y al 68,7% en el segundo caso de esta misma cepa. Además, se observa que los Trichodermas Trailes y Queule arrojan resultados similares, ambos muy superiores, en la incidencia de Verticilosis a lo largo de las mediciones, ya que sus valores corresponden a 83,3% (para ambos casos) en la segunda medición, que se asemejan más a los resultados obtenidos en el caso del tratamiento testigo.

Si comparamos estos resultados con los obtenidos en el ensayo *in vitro*, donde las cepas de *Trichoderma* no diferían estadísticamente en el porcentaje de inhibición del radio de crecimiento del patógeno, resultando todas ellas muy similares, podemos observar que sí encontramos diferencias a la hora de enfrentarlas a *Verticillium dahliae* en los ensayos *in vivo*, donde una de las cepas (Sherwood) fue la que arrojó los menores porcentajes de incidencia de plantas enfermas en relación al total de ellas con presencia de síntomas de Verticilosis y que las otras 2 cepas: Queule (tratamiento 2) y Trailes (tratamiento 3) muestran mayores porcentajes de incidencia de Verticilosis en las plantas, los que se asemejan bastante a los resultados obtenidos por el tratamiento testigo, que sólo cuenta con inoculación de *V. dahliae*, sin la presencia de un biocontrolador.

6.2.1.2.2 Severidad

La severidad de Verticilosis se midió de modo muy similar al de incidencia, midiendo en las mismas fechas y eliminando la última de ellas (por el motivo ya explicado). Los síntomas de Verticilosis comenzaron a ser visibles a los pocos días post-inoculación con *V. dahliae*, pudiendo ser observado un amarillamiento o clorosis en las hojas basales además de signos notables de marchitamiento en ellas. A medida que avanzaban los días, este síntoma pudo ser observado en la parte superior de la planta, exhibiendo un marchitamiento generalizado y un debilitamiento claro de las plantas, que se acentuó con el paso de los días y el aumento de la temperatura al interior del invernadero.

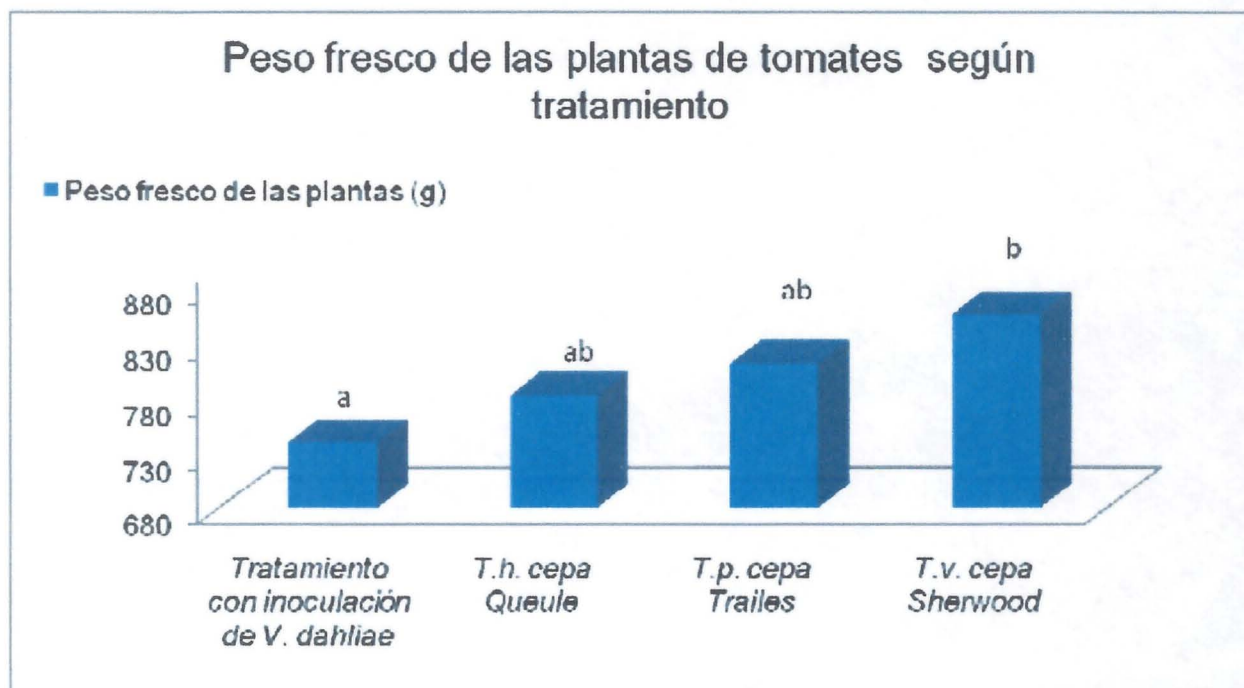
En la evaluación final, se observó un marchitamiento muy avanzado en las plantas correspondientes al tratamiento testigo que sólo se inoculó con el fitopatógeno, el cual concluyó con la muerte de algunas plantas, no siendo tan severo el daño en aquellas correspondientes a los tratamientos que poseían inoculación de *Trichoderma*.

Cuadro 4. Efecto biocontrolador de las distintas cepas de *Trichoderma* (Queule, Trailes y Sherwood), sobre la severidad de Verticilosis en plantas de tomates (cv. María Italia) artificialmente infestadas con *V. dahliae*, expresados como escala de daños de 1 a 5, donde 1 = planta sana y 5 = planta muerta. Datos tomados 21 días post-inoculación. Promedios en columnas seguidos con igual letra, no difieren estadísticamente según Test de Tukey (pT 0,05).

Tratamiento	Severidad 1 (%)	Severidad 2 (%)	Severidad 3 (%)	Severidad 4 (%)	Severidad 5 (%)
1: Testigo con inoculación de <i>V. dahliae</i>	8,3 a	22,9 a	31,2	33,3 b	4,2 b
2: <i>T. harzianum</i> , cepa Queule	16,6 ab	33,3 b	33,3	16,7 ab	0 a
3: <i>T. parzenamosum</i> cepa Trailes	16,6 ab	33,3 b	29,2	20,8 ab	0 a
4: <i>T. virens</i> cepa Sherwood	31,2 b	43,7 c	16,7	8,3 a	0 a
Significancia	*	**	n.s.	*	*

Existieron diferencias significativas en casi todos los niveles de severidad estudiados a la hora de comparar los tratamientos que poseen Trichoderma con el testigo, ya que este último, es el único de los tratamientos totales que presentó plantas muertas a lo largo del ensayo, demostrando que Trichoderma es capaz de reducir los niveles de daños producidos por *V. dahliae*. Además, los tratamientos 2, 3 y 4 concentran la mayoría de las plantas en los niveles menos avanzados de la enfermedad, siendo un bajo porcentaje de ellas encontradas en los niveles de daños 4 y 5, que corresponden a plantas con síntomas avanzados de Verticilosis y a plantas muertas respectivamente. De las cepas en estudio, la que mejor se comportó, en relación a la severidad, fue la cepa Sherwood, que concentró cerca del 75% del total de sus plantas en los niveles más bajos de daños, (valor dentro del cual se encontró un 31,2% de plantas sanas, siendo el tratamiento con el mayor porcentaje de control de la enfermedad), correspondientes a plantas sanas y a plantas con síntomas leves de Verticilosis. Las cepas Queule y Trailes obtuvieron resultados muy similares, que estadísticamente no presentan diferencias, distribuyendo casi de la misma manera la severidad de la enfermedad en las plantas, concentrando el 66,6% de las plantas en los niveles 2 y 3 de daños (plantas con síntomas leves y moderados de Verticilosis respectivamente), presentando sólo un 16,6% de plantas sanas. El tratamiento testigo (sin Trichoderma), presenta un porcentaje muy bajo de plantas sanas, correspondiente a un 8,3% y un 22,9% con plantas que presentan síntomas leves de Verticilosis y el resto de las plantas (casi un 70% de ellas) se encuentran en los niveles más avanzados de la enfermedad, produciendo la pérdida de plantas en algunos casos.

Gráfico 9. Efecto de los distintos tratamientos aplicados sobre la producción de materia fresca en las plantas inoculadas con *V. dahliae*.



Peso promedio de plantas de tomate (cv. María Italia) según los distintos tratamientos.

Barras con igual letra, no difieren estadísticamente según Test de Tukey (pT 0,05).

Significancia: significativo $p < 0,05$.

En el gráfico 9, se observa que la producción de materia fresca mostró diferencias significativas entre los distintos tratamientos ($p < 0,05$). La mayor producción de materia fresca fue conseguida por el tratamiento correspondiente a la cepa Sherwood que obtuvo un promedio de 855 gramos (dato que considera el peso de las doce plantas por repetición), valor que no presenta grandes diferencias estadísticas con los tratamientos Queule y Trailes, cuyos promedios fueron de 783 y 811 gramos respectivamente. Donde si se encontraron diferencias, es en el tratamiento testigo, quien obtuvo los valores más bajos en promedio de materia fresca, que correspondió a 740 gramos.

6.3 Pudrición de cuello y raíz (*Phytophthora* spp.)

6.3.1 Evaluación *in vivo* de tres cepas de *Trichoderma* y cinco de *Bacillus* en el control de Tizón Tardío (*Phytophthora infestans*) en tomate.

La evaluación de incidencia en las plantas de tomate, se realizó en los meses de septiembre a octubre 2008.

La infección de *Phytophthora infestans* es atenuada en parte por *Bacillus* spp. y por la mezcla de este con las dos cepas de *Trichoderma* spp., en comparación al tratamiento testigo y al que se le aplicó solamente la mezcla de las dos cepas de *Trichoderma* spp.. Así en los tratamientos testigo y *Trichoderma* spp. se presentaron los porcentajes de incidencia de 83,75 y 100% respectivamente, siendo estos valores mas altos con respecto al resto de los tratamientos.

Los porcentajes de incidencia de los diferentes tratamientos evaluados, se resumen en el siguiente gráfico. En ésta se aprecian las diferencias en cuanto a la incidencia de la enfermedad asociada a *Phytophthora infestans*. En general, los valores mas altos de incidencia se reflejaron en T0 y en T1, siendo estos a los que no se les aplicó *Bacillus* spp.. Es importante señalar, que las condiciones bajo las cuales se evaluaron estos no son probablemente las que se darían en condiciones reales, ya que las plantas fueron sometidas a una alta presión de inóculo, la que normalmente no se da en campo.

Por otro lado, se muestra sólo el resultado de la incidencia de la primera medición puesto que en las siguientes, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas, ya que el valor de este parámetro para todos los tratamientos fue del orden del 100%.

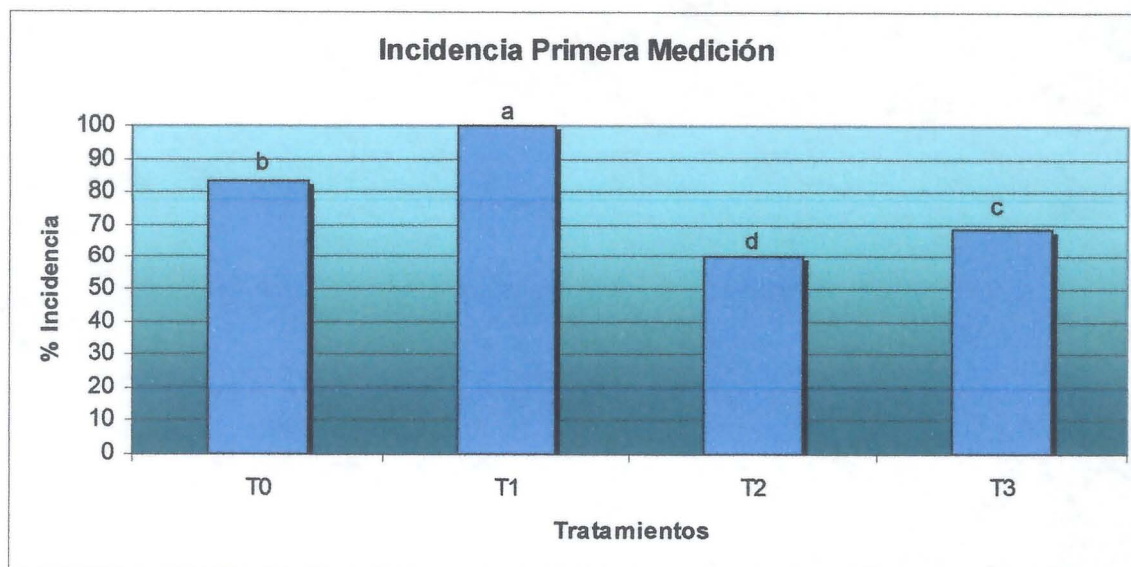


Gráfico 10: Valores Incidencia (%) de Tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en plantas de tomate, tratadas con *Bacillus* spp., *Trichoderma* spp. (mezcla de dos cepas), la mezcla de ambos y un testigo, Talca, VII Región.

T0: testigo, T1: *Trichoderma* spp, T2: *Bacillus* spp., T3 : *Bacillus* spp. más *Trichoderma* spp.

Los porcentajes de severidad para los cuatro tratamientos evaluados en este ensayo, nos indican la alta agresividad con la que se presentó la enfermedad. Las plantas enfermas presentan diferencias estadísticamente significativas solo hasta la segunda medición, puesto que de ahí en adelante, la incidencia y severidad en las plantas de tomates es tal que afecta a todos los tratamientos por igual.

La forma de medir la severidad de la enfermedad en las hojas, fue mediante un conteo objetivo del porcentaje de estas afectadas con respecto al total de hojas de la planta. Es claro el efecto atenuante que provoca en esta patología la aplicación preventiva de Nacillus® (*Bacillus subtilis*) en los dos tratamientos en que este está presente. Esto queda de manifiesto en las dos primeras mediciones realizadas. Así en el tratamiento con aplicación de Nacillus® y el de Nacillus® mas las mezcla de *Trichoderma* spp., los porcentajes de severidad en hojas fueron de 7 y 16,25% en la primera medición, y de 31,5 y 39,25% en la segunda, siendo en la primera solo el tratamiento con Nacillus® estadísticamente diferente del resto. En la segunda medición se hace notar el efecto atenuante de Nacillus® también en la mezcla de este con *Trichoderma* spp.

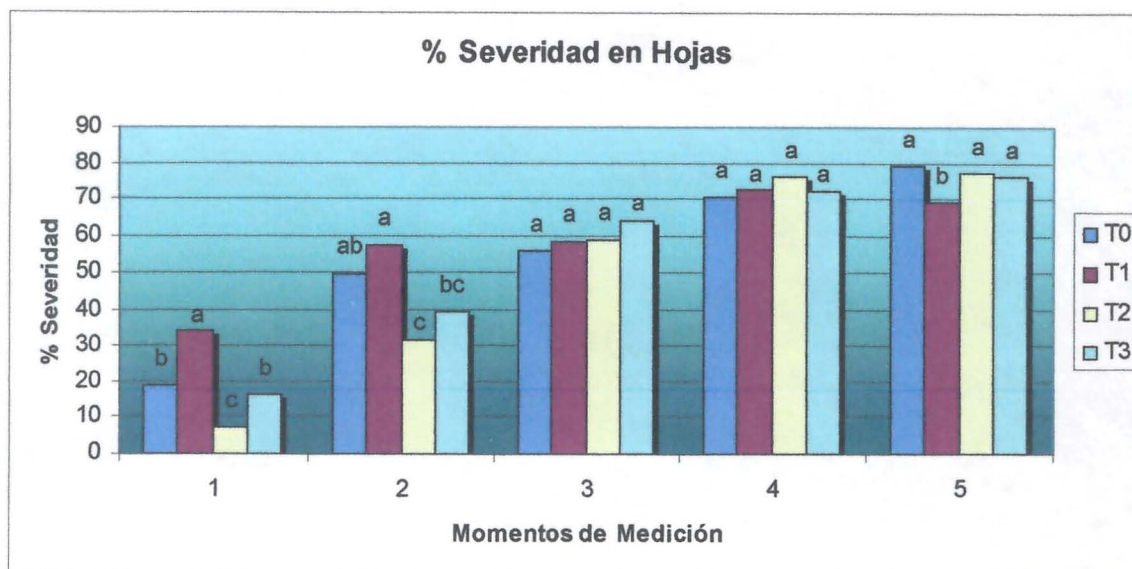


Gráfico 11: Efecto de la aplicación de *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* spp. (mezcla de dos cepas) y la mezcla de ambos en plantas de tomate sobre la severidad de Tizón tardío (*Phytophthora infestans*). Talca, Séptima Región T0: Testigo, T1: *Trichoderma* spp. (mezcla de dos cepas), T2: *Bacillus subtilis*, T3: Mezcla de *Bacillus subtilis* con *Trichoderma* spp. (mezcla de dos cepas).

Los resultados obtenidos indican que ninguno de los biocontroladores tuvo efecto en cuanto a inducir resistencia en la planta frente a la infección del hongo *Phytophthora infestans*, pero si hubo una notoria reducción tanto en la incidencia como en la severidad de la misma en los primeros estadíos de las plantas en los tratamientos en que se usó *B. subtilis*. Estos momentos en que aún las plantas reaccionan a la aplicación del biocontrolador mencionado, corresponden a momentos similares en que se hacían las aplicaciones de él, es decir, podría ser que el biocontrolador sea aun más efectivo haciendo sucesivas aplicaciones al cultivo ante la amenaza o presencia de la enfermedad. Para comprobar lo anteriormente dicho sería recomendable realizar futuros ensayos, aplicando *B. subtilis* con mayor antelación a la inoculación del hongo, en un mayor número de oportunidades, y probando con dosis mas altas.

6.4 Enfermedades bacterianas en cerezo y hortalizas

6.4.1 Determinación del efecto sistémico de *Bacillus* spp. en control de Cáncer Bacterial en cerezos (*Prunus avium*).

Para este ensayo se utilizaron plantas de cerezos en maceta, las cuales fueron hechas en los laboratorio de Bio Insumos Nativa. Luego se transportaron a dependencias de la Universidad Católica del Maule (aire libre), donde se aplicaron los tratamientos y se realizaron las evaluaciones.



La evaluación se realizó entre los meses de Agosto y Diciembre y consistió en la incidencia (número de yemas atizonadas) del patógeno, vigor de la planta (número de hojas), porcentaje de brotación, volumen de raíces. Estas evaluación se hicieron antes de aplicar los tratamientos, floración y desarrollo (foliar). A continuación se presentan los resultados obtenidos, posterior al anaálisis estadíatico.

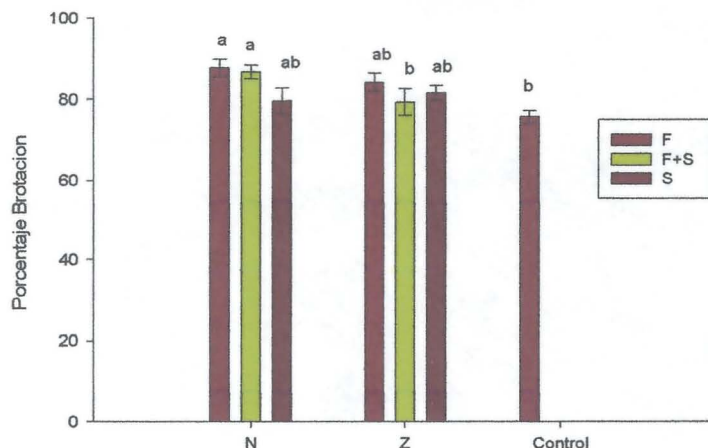


Gráfico 12: Letras distintas indican diferencias estadísticas entre tratamientos, según test LSD ($P \leq 0,05$).

Respecto del gráfico se puede desprender que las aplicaciones de *Nacillus Foliares* permitieron que sobre el 90% de las yemas brotaran. Los árboles del control con aplicaciones sólo de *Pseudomonas* spp. brotaron en un 75%, lo que demuestra que hay diferencias significativas entre estos tratamientos.

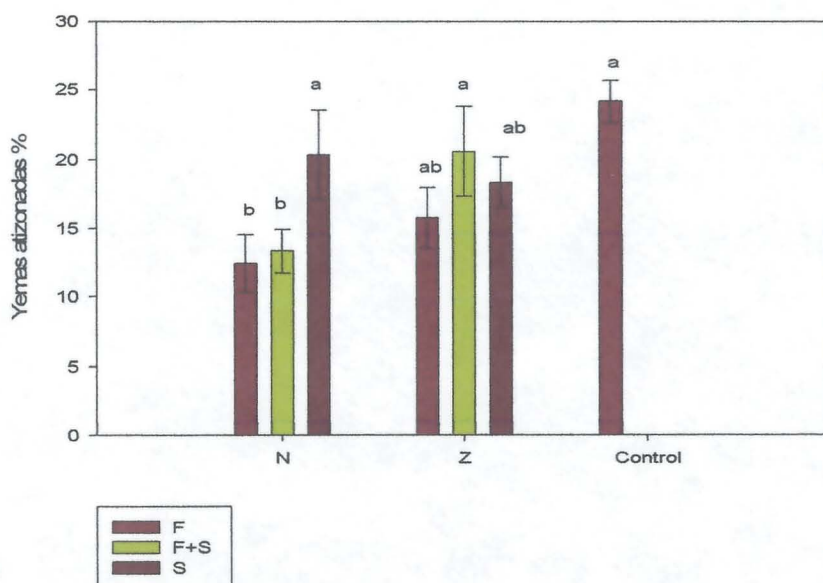


Gráfico 13: Letras distintas indican diferencias estadísticas entre tratamientos, según test LSD ($P \leq 0,05$) .

Nuevamente se pueden apreciar diferencias significativas entre el tratamiento Control (aplicación sólo de *Pseudomonas* spp.) con yemas atizonadas en un 24%, por sobre el 13% de yemas que se atizonaron en el tratamiento con aplicaciones foliares de Nacillus.

Al realizar preventivamente aplicaciones foliares de Nacillus, estamos asegurando una alta brotación de yemas y además, permite que esas yemas se mantengan activas durante la temporada.

Realizar aplicaciones preventivas de Nacillus previene el ataque de *Pseudomonas* spp. en cerezos.

6.4.2 Evaluación de *Bacillus* spp. en la prevención y control de *Xanthomonas corilyna* en Avellano Europeo bajo condiciones de campo.

Las aplicaciones se realizaron todas según protocolo (metodología), las cuales fueron aplicadas con turbo, con un volumen de 1500 L / ha. La primera evaluación se realizó en el mes de Enero del 2010, actividad que permitió evaluar el porcentaje de brotes quebrados, síntoma del ataque de *Xanthomonas corilyna*. Se evaluaron 45 árboles por tratamiento, 3 hileras, de 15 árboles cada una. Previo a la cosecha (Marzo, 2010) se evaluó número y peso de los frutos.

Una vez obtenidos los datos fueron sometidos a análisis estadístico, obteniéndose la siguiente información.

T0	Manejo huerto
T1	Nacillus

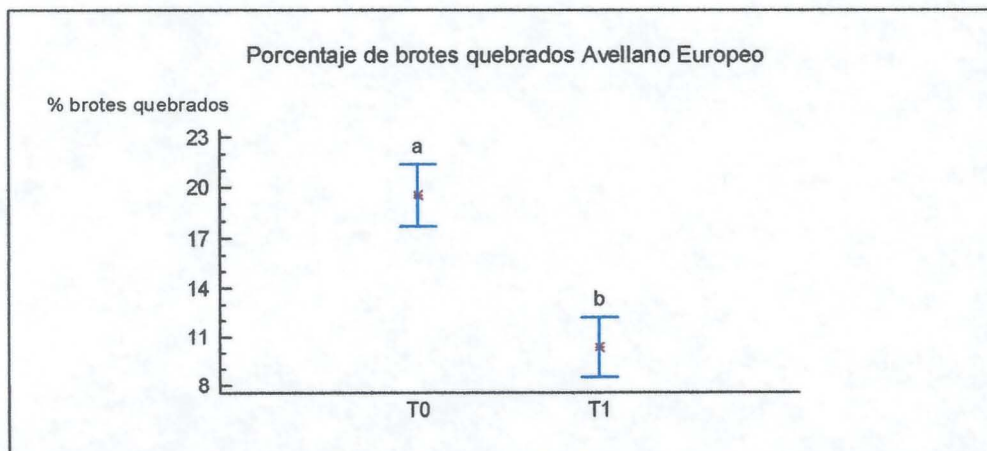


Gráfico 14: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p \leq 0,05$).

Del gráfico se desprende que aplicaciones de Nacillus disminuyen significativamente la incidencia de brotes quebrados en relación al manejo del huerto.

T0	Manejo huerto
T1	Nacillus

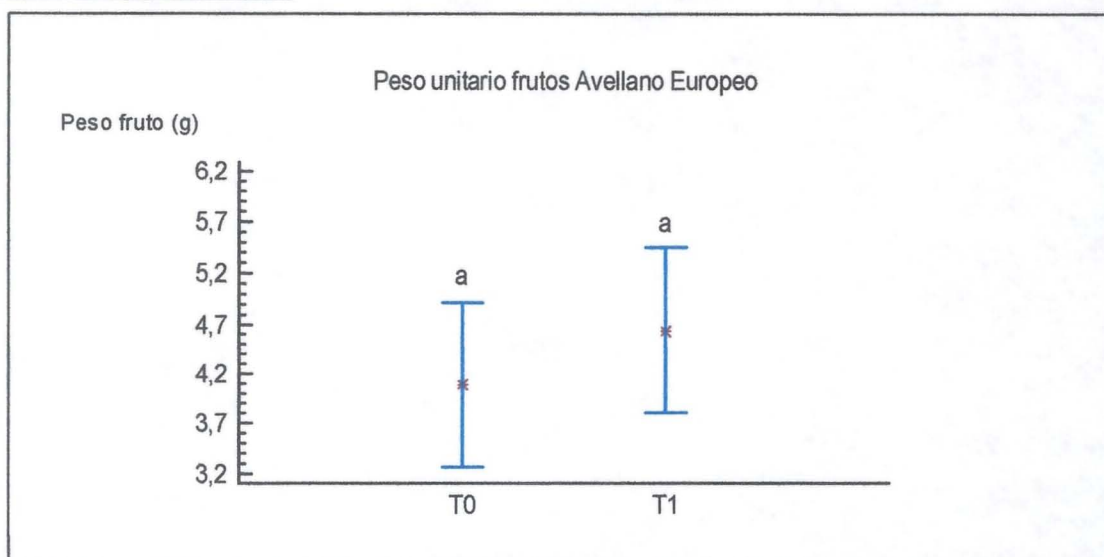


Gráfico 15: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p \leq 0,05$).

T0	Manejo huerto
T1	Nacillus

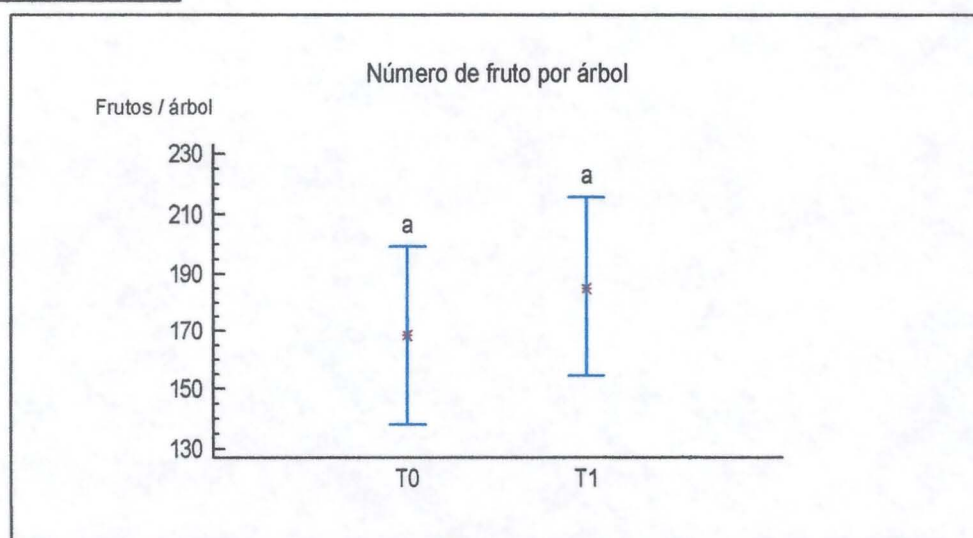


Gráfico 16: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p \leq 0,05$).

Tanto para número, como para peso del fruto no existen diferencias significativas respecto del tratamiento control, sin embargo, hay una tendencia que muestra que Nacillus es superior al manejo del huerto en el promedio.

6.4.3 Evaluación de Nacillus®, en la prevención y control de *Pseudomonas spp.* en kiwis

Luego de evaluadas las plantas y sometidos los datos a análisis estadístico, los resultados son los siguientes

En la siguiente tabla, se muestran los porcentajes de incidencia y promedio de severidad de los tratamientos en las distintas fechas de medición y la variación entre estas.

Efecto de tratamientos sobre porcentajes de incidencia y severidad inicial, final y variación, en plantas de kiwi, afectadas por *Pseudomonas spp.*

Tratamiento	Incidencia inicial	Incidencia final	Variación en incidencia	Promedio de severidad inicial	Promedio de severidad final	Variación promedio de severidad
Control	57%	88%	31% a	1.09	2.42	1.33 a
Nacillus	73%	75%	2% b	1.48	1.78	0.33 b
			P<0.001			P <0.001

Columnas seguidas de letras iguales, denotan ausencia de diferencias significativas LSD.

Al observar la distribución en la siguiente tabla, de plantas por categoría en cada fecha y tratamiento, se puede establecer que la significativa disminución de plantas sanas en el tratamiento testigo, estuvo dada principalmente por el paso a plantas a las que se les cortó un brazo, mientras que en el tratamientos con Nacillus®, las variaciones significativas estuvieron dadas por el paso de plantas con deshoje a plantas con un brazo podad, siendo relevante que, a diferencia del tratamiento control, no hubo disminución significativa en el porcentaje de plantas sanas, sólo existiendo un avance de la enfermedad en las plantas infectadas, previo a la aplicación del biocontrolador.

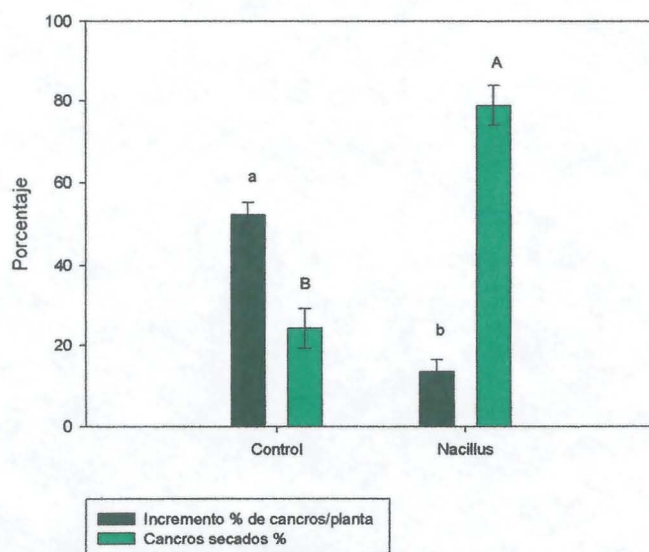
Efecto de tratamientos sobre distribución inicial, final y variación, de categorías de severidad, en plantas de kiwi, afectadas por *Pseudomonas* spp.

Escala	Control			Nacillus		
	Inicial	Final	Variación	Inicial	Final	Variación
Planta sana	43.1%	12.2%	30.9%** ¹	27.6%	26.8%	-0.8%
Deshoje de cargadores	50.4%	51.2%	0.8%	69.1%	48.0%	-21.1%**
Árbol sin brotación	6.5%	0.0%	-6.5%	4.1%	0.0%	-4.1%
1 brazo podado	0.0%	29.3%	29.3%**	0.0%	23.6%	23.6%**
Planta rebajada (tocón)	0.0%	7.3%	7.3%	0.0%	2.4%	2.4%

(¹ * Variación estadísticamente significativa $P < 0.05$, ** altamente significativa $P < 0.01$. T de Student).

Se observó un efecto significativo de las aplicaciones de Nacillus®, logrando un menor incremento de canchros por planta, que el tratamiento control, y logrando un mayor porcentaje de canchros secados (79%), versus el tratamiento control (24%). (Gráfico 17).

Gráfico 17. Efecto de tratamientos sobre incremento de canchros/ planta y porcentaje de canchros secados, en plantas de kiwi afectadas por *Pseudomonas* spp. Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey HSD).



6.5 Bacteriosis en hortalizas

6.5.1 Evaluación de Nacillus y Biocontroladores en la prevención y control de *Pseudomonas* spp. y *Xanthomonas* spp. en tomate industrial en condiciones de campo.

Este ensayo fue establecido la última semana de Noviembre. Se realizaron las tres aplicación de los biocontroladores, más una cuarta por un brote de *Pseudomonas* spp.. Las evaluaciones de longitud y diametro de tallo se realizaron en Febrero y los parámetros de rendimiento se evaluaron previo a la cosecha en el mes de Marzo del 2010.



Fig 11: Fotografía del campo de tomate industrial donde se está desarrollando el ensayos.

Los resultados se presentan a continuación.

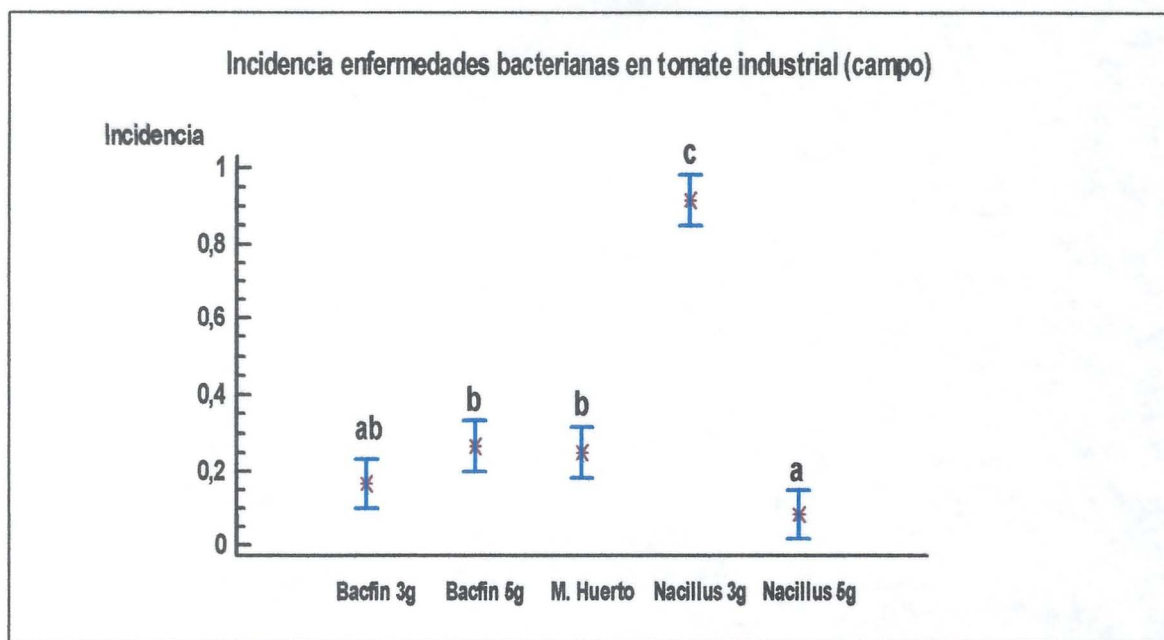


Gráfico 18: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

El tratamiento que presenta diferencia estadística respecto de los otros tratamientos, en la incidencia de ataque bacteriano, es el biocontrolador Nacillus (5g).

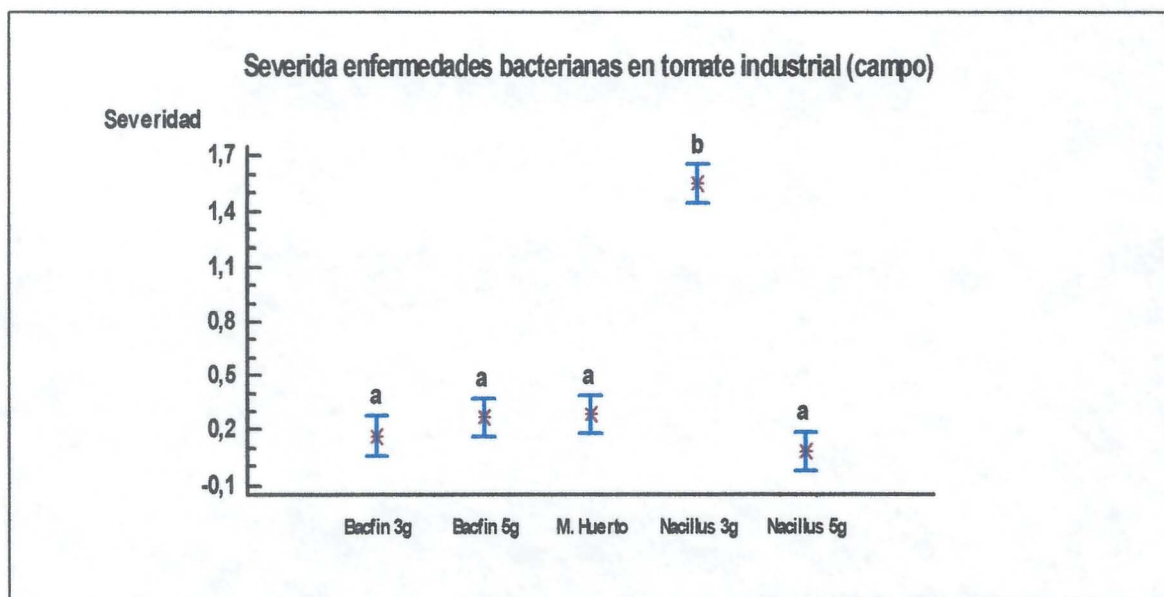


Gráfico 19: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

Nuevamente a pesar de no existir diferencias significativas respecto del manejo del huerto, existe una tendencia en el biocontrolador *Nacillus* 5g, a disminuir la severidad (gráfico 19) del ataque bacteriano en plantas de tomate industrial, bajo condiciones de campo. Lo mismo se observa en el gráfico 20, donde la tendencia nuevamente se inclina a favor del tratamiento *Nacillus* 5g, ya que muestra el mayor promedio de longitud de plantas, a pesar de no existir diferencia significativas, con promedio de longitud de las planta del manejo del huerto.

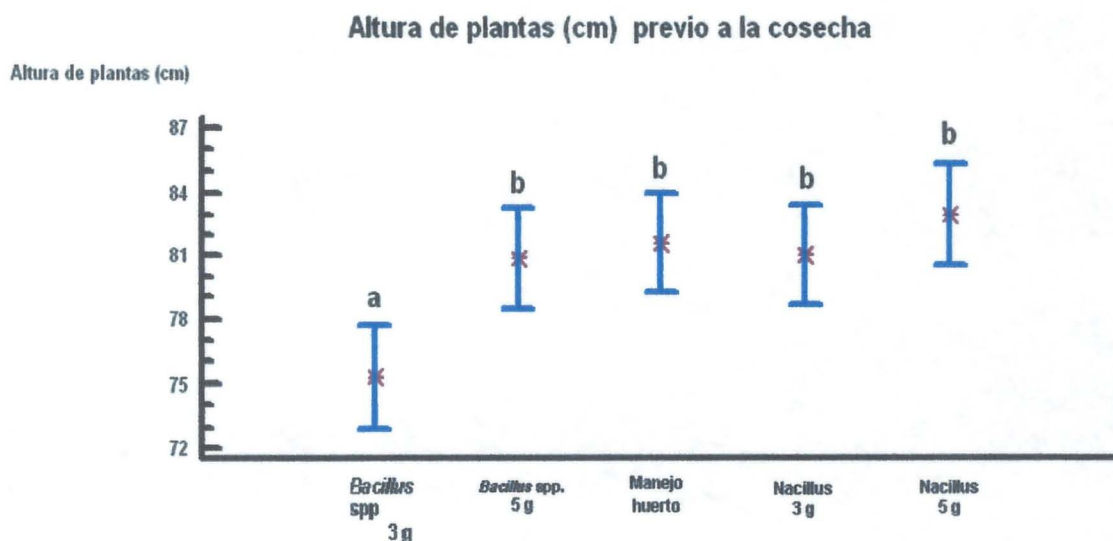


Gráfico 20: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

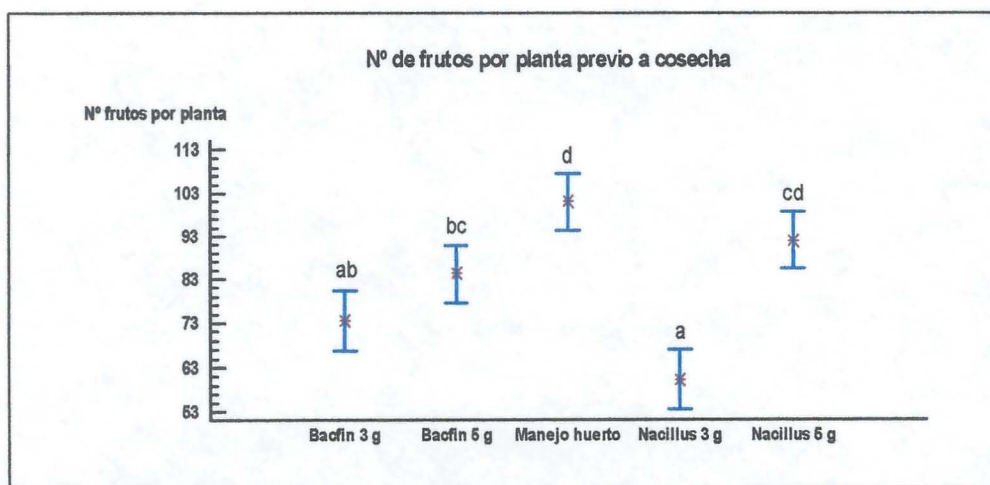


Gráfico 21: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

Estadísticamente el manejo del huerto y Nacillus 5 g presentan diferencias significativas, respecto del número de frutos por planta (gráfico 21). Por otra parte, como se observa en el gráfico 22, los tratamientos manejo del huerto y Nacillus 5 g no muestran diferencias significativas en el rendimiento promedio por planta, sin embargo hay una tendencia superior del biocontrolador.

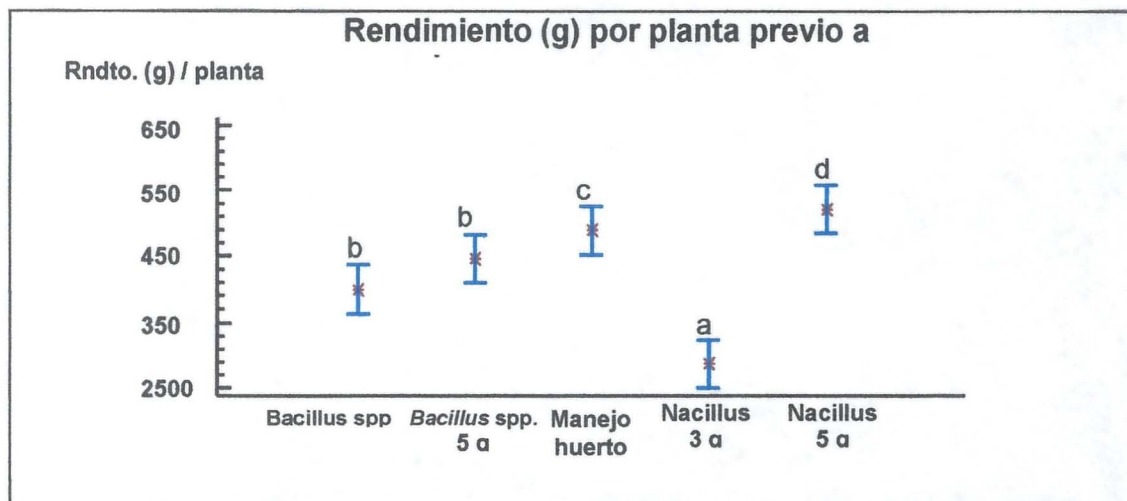


Gráfico 22: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

6.6 Pudriciones en Frutales (*Botrytis cinerea*, *Verticillium dahliae*, *Fusarium spp.*)

6.6.1 Evaluación de dos formulados de Trichonativa para la prevención y control de *Botrytis cinerea* en arándanos bajo condiciones de campo.

El ensayo se desarrolló en la comuna de Curicaví, entre los meses de Agosto a Noviembre del presente año. Los tratamientos fueron aplicados en la etapa fenológica de floración y se describen a continuación.

Tratamientos

T1: Bio traz.

T2: Trichonativa.

Los parámetros a evaluar fueron incidencia (flores y fruto) y peso de frutos. Las evaluaciones consistieron en recolectar, flores y frutos (según período), por tratamiento, en 3 hileras centrales de 150 plantas. Las muestras se depositaron en cámaras húmedas (contenedores plásticos). Las evaluaciones se realizaron 7 días después de depositar las muestras en los contenedores. Los datos obtenidos arrojaron los siguientes resultados.

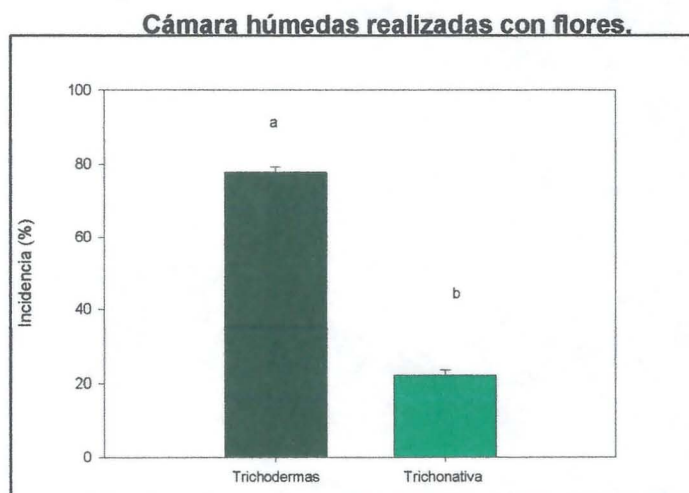


Gráfico 23: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0,05$).

Del gráfico 23 se desprende que al realizar aplicaciones de Trichonativa la incidencia de *Botrytis cinerea* es de un 25% aproximadamente, mientras que el sector con aplicaciones de Bio Traz, la incidencia fue de casi un 80%, lo que demuestra diferencias significativas entre ambos tratamientos. Aplicaciones de Trichonativa disminuye considerablemente el ataque de *Botrytis cinerea* en floración.

Peso de frutos cosechados en el mes de Noviembre.

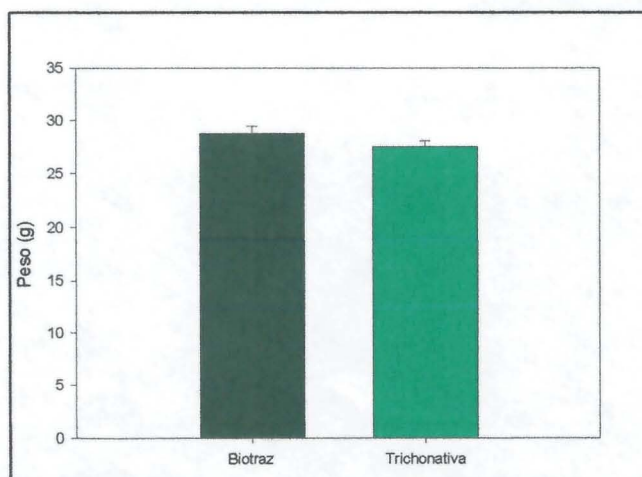


Gráfico 24: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0,05$).

Respecto del tamaño de los frutos no hay diferencia entre los tratamientos, en ambos el peso de la fruta bordeó los 27 grs.

Cámara húmedas realizadas con frutos.

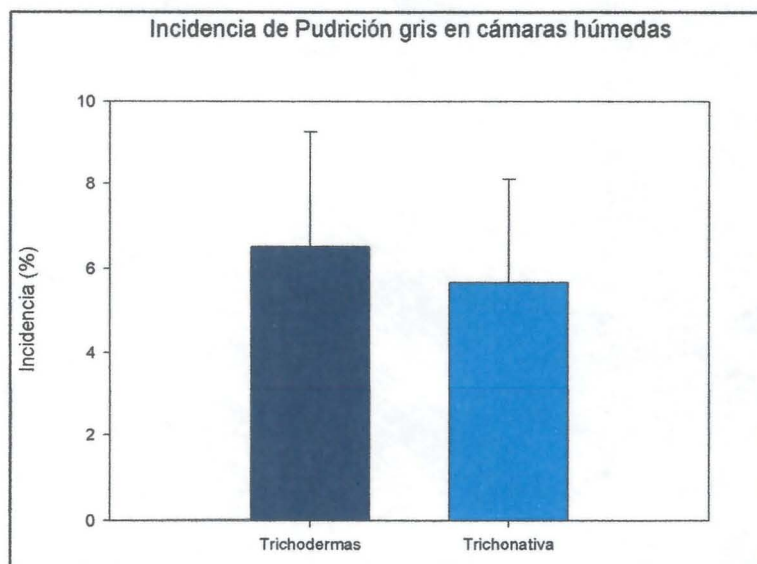


Gráfico 25: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0,05$).

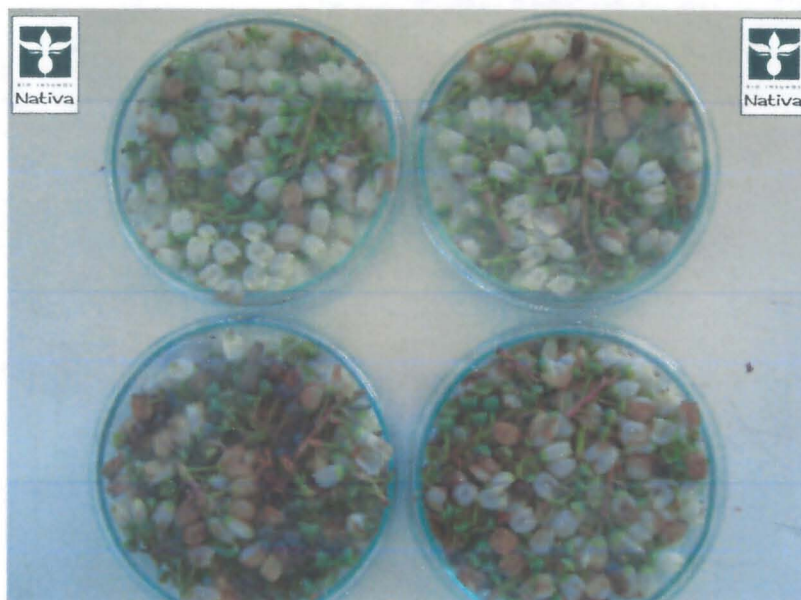
El gráfico 25, fue elaborado con los datos obtenidos de los frutos sometidos a cámara húmeda. No hay diferencia significativas, lo que nos indica para este caso, que la enfermedad no fue determinante después de que el fruto se formó.

Aplicaciones preventivas en floración previenen en forma determinante el ataque *Botrytis* spp. en arándanos.

6.6.2 Evaluación de Trichonativa en la prevención y control de *Botrytis* spp. en arándanos var. Osrack y Legacy en condiciones de campo

Los parámetros evaluados para este ensayo, fueron el desarrollo de *Botrytis* spp. en estructuras según la temporada: flores, restos florales y frutos, las cuales fueron sometidas cámaras húmedas, dejándolas a 25°C, para entregarle todas las condiciones al patógeno para que se desarrollara y así poder determinar incidencia de *Botrytis* spp. A continuación se gráfica en la foto las diferencias entre tratamientos producidos por *Botrytis cinerea* en flores colectadas en el campo.

Flores de arándanos colectados post aplicación de dos *Trichodermas* spp. bajo condiciones de campo.



Luego de realizadas las evaluaciones de las cámaras húmedas y hecho el análisis estadístico correspondientes, los resultados son los siguientes

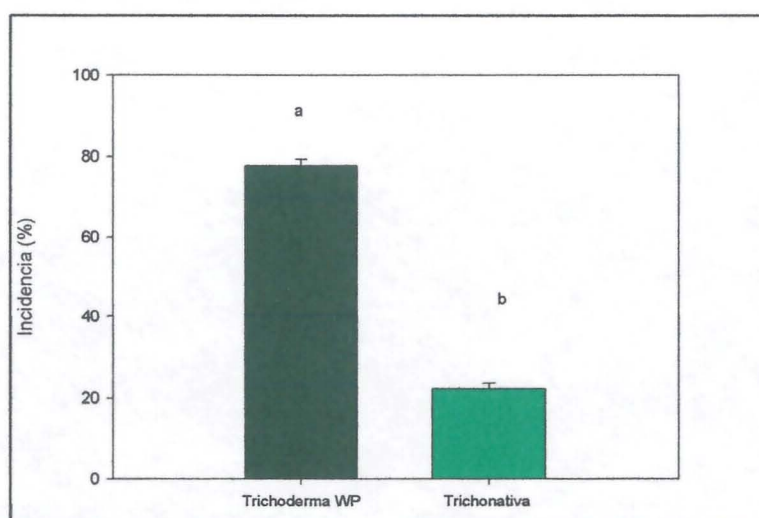


Gráfico 26: Incidencia de *Botrytis cinerea* en flores de cámara húmeda. Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (LSD $p < 0,05$).

Claramente hay diferencias estadística entre tratamiento, lo que indica que aplicaciones de Trichonativa (formulación líquida), es más eficiente que los *Trichodermas* spp. formulados en polvo. Aplicaciones preventivas del biocontrolador, reducen significativamente el ataque de *Botrytis cinerea*, en arándanos con producción orgánica.

6.7 Polilla de la manzana (*Cydia pomonella*)

6.7.1 Evaluación en campo de Biocontroladores en la prevención y control de *Cydia pomonella* en manzanos variedad Gala Premium.

La evaluación de este ensayo se realizó, la primera semana de Febrero previo a la cosecha en Agrícola Ana María. Se evaluó el porcentaje de frutos dañados por larvas de *Cydia pomonella*, en 30 frutos por árbol, en 30 árboles por tratamiento. Los 30 frutos evaluados por árbol fueron escogidos de forma aleatoria.

Al analizar los datos estadísticamente, los tratamientos evaluados no muestran diferencias significativas. Dados los resultados se realizó una reunión con el Administrador del campo, para consultarle por las practicas realizadas durante la temporada, respecto del manejo de *Cydia pomonella*.

Cuando habían un gran número de capturas en las trampas de feromonas de la Polilla de la manzana, un grupo de aproximadamente 4 personas recorría el huerto, específicamente, los sectores donde se habían registrado un mayor número de capturas, raleando los frutos que estaban con ataque de larvas que ya habían penetrado el fruto. Esta práctica se realizó en cuatro oportunidades en el cuartel donde teníamos establecido el ensayo. Por consecuencia, al no estar informado de esta labor, los frutos eliminados de los árboles no fueron contabilizados, dentro de la toma de datos.

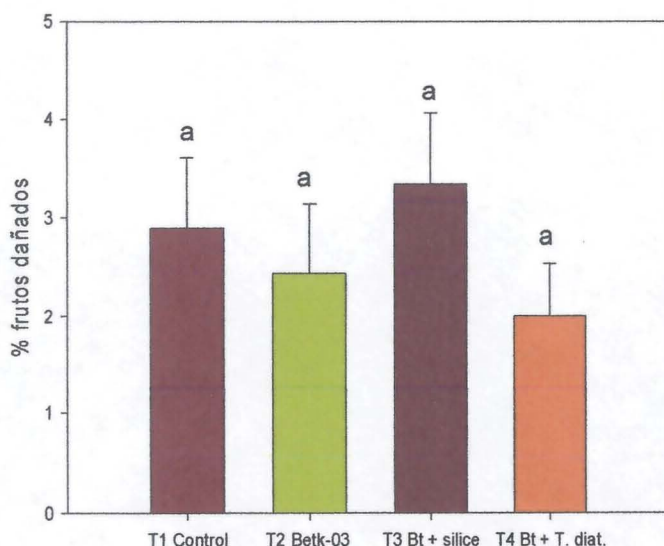


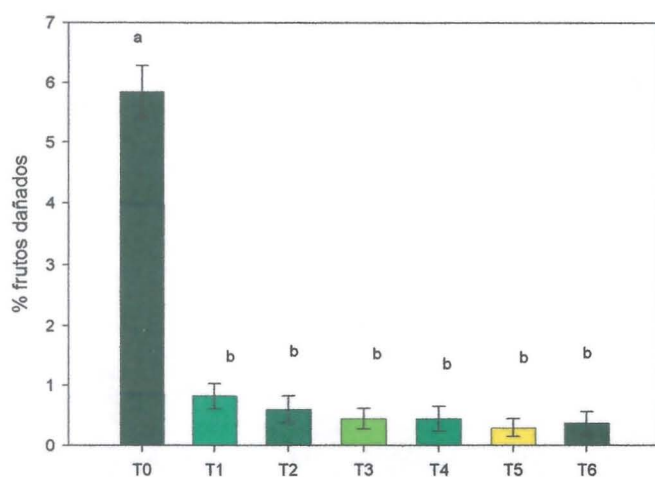
Gráfico 27: Barras corresponden al promedio de cada tratamiento a cosecha. Misma letra indican que no existen diferencias significativas entre tratamientnos según Tukey ($p < 0,05$).

6.7.2 Evaluación en campo de Biocontroladores en la prevención y control de *Cydia pomonella* en manzanos variedad Gala Premium.

El ensayo se realizó en agrícola Ana María (Los Niches , Curicó), finalizado en Febrero del 2010, previo a la cosecha, donde realizaron las evaluaciones correspondiente a incidencia de daño en frutos.

Sometidos los datos al análisis estadístico, los resultados son los siguiente.

Frutos dañados por Polilla de la manzana
Manzanos var. Granny Smith



T1	Virus de la granulosis de la carpocasca
T2	<i>Bacillus thuringiensis</i>
T3	Bacterias de Nemátodos
T4	<i>Bacillus thuringiensis</i> + Bacterias de Nemátodos
T5	Sílíce
T6	Tierra de diatomeas
T7	Zeolita

Gráfico 28: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

Todos los biocontroladores presentan una disminución en la incidencia del daño en fruto, producido por el ataque de la polilla de la manzana. El biocontrolador que mejor actuó fue el sílice, ya que es el que muestra una menor incidencia (tendencia).

6.8 Eulia

6.8.1 Evaluación de *Bacillus Thuringiensis*, para la prevención y control de *Eulia* spp. en *Vid vinífera*, variedad Merlot, en viñedos orgánicos Sta. Emiliana

Las evaluaciones fueron realizadas en Marzo de 2009, donde se evaluaron 4 hileras por cuartel (tratamiento), contabilizando 10 claros por hilera, es decir, 40 claros por tratamiento, equivalente a 160 plantas aproximadamente. Cada claro correspondió a 6 m.

lineales. Luego de haber transcrito los datos y hecho el correspondiente análisis estadístico, los resultados son los siguiente:

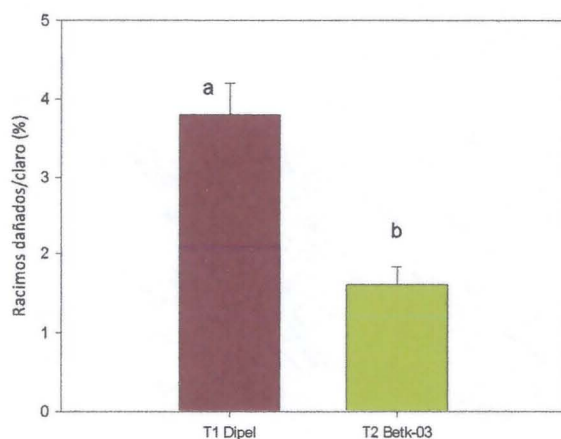


Gráfico 29: Racimos dañados por *Eulia* en manejo del huerto (Dipel) y con Betk-03. Barras indican error estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

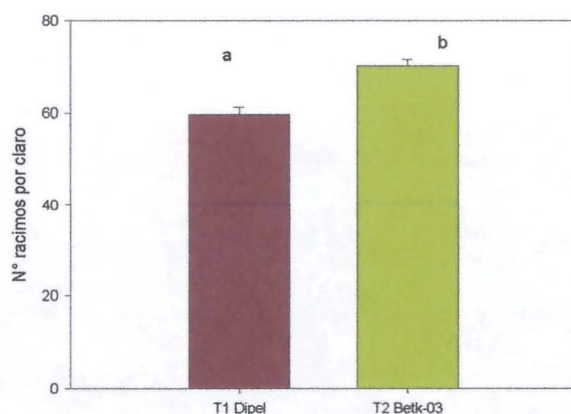


Gráfico 30: Número de racimos totales por claro (40 claros/tratamiento) entre cuarteles con Dipel® y Betk-03®. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$). Barras indican error estándar.

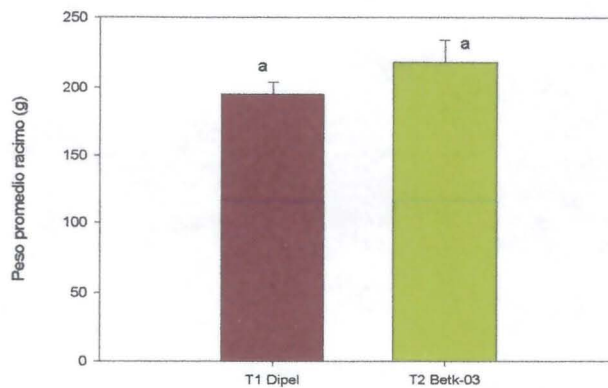


Gráfico 31: Peso promedio por racimo bajo cada tratamiento. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p = 0,21$). Barras indican error estándar.

Como se observa en el gráfico 29, el porcentaje de racimos dañados por *Eulia*, bajo el tratamiento con Betk-03® fue significativamente menor que con aplicaciones de Dipel (T1), siendo menos de la mitad en el tratamiento con Betk-03 ($p < 0.05$)

Cuando se comparó el número de frutos por tratamiento a cosecha (rendimiento), también se observaron diferencias de más de 10 racimos entre el T2 con dos aplicaciones de Betk-03® comparado con Dipel® y el mismo número de aplicaciones ($p < 0.05$).

En relación al peso promedio de los racimos, no se observaron diferencias entre ambos tratamientos ($p = 0,21$).

Estos resultados nos permiten concluir, a pesar de que resta una aplicación pre-invernal, que el insecticida nativo Betk-03® es efectivo en el control de *Eulia*, disminuyendo los daños asociados a esta plaga en uva vinífera, cuando se compara con el manejo del huerto (Dipel®).

De esta forma, Betk-03® resulta una alternativa eficaz para el control de esta plaga en uva vinífera, especialmente para viñedos orgánicos, dados los auspiciosos resultados de este ensayo.

6.8.2 Evaluación de *Bacillus Thuringiensis*, para la prevención y control de *Eulia* spp. en Arándanos con producción orgánica en condiciones de campo.

Se estableció un ensayo en Agrícola Mataquito, ubicada en la comuna de Curepto, en arándanos var. Legacy.

En este huerto se aplicaron los siguientes formulados compuestos por *Bacillus thuringiensis*, BETK-03 ®, cepas nativas y Dipel®, producto importado. Los tratamientos aplicados fueron los siguientes:

Tratamiento	Producto	Dosis
T1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	2 K. / ha.
T2	Dipel	750 g. / ha.

Una vez tomados los datos y haber hecho el analisis estadistico, los resultados fueron los siguientes:

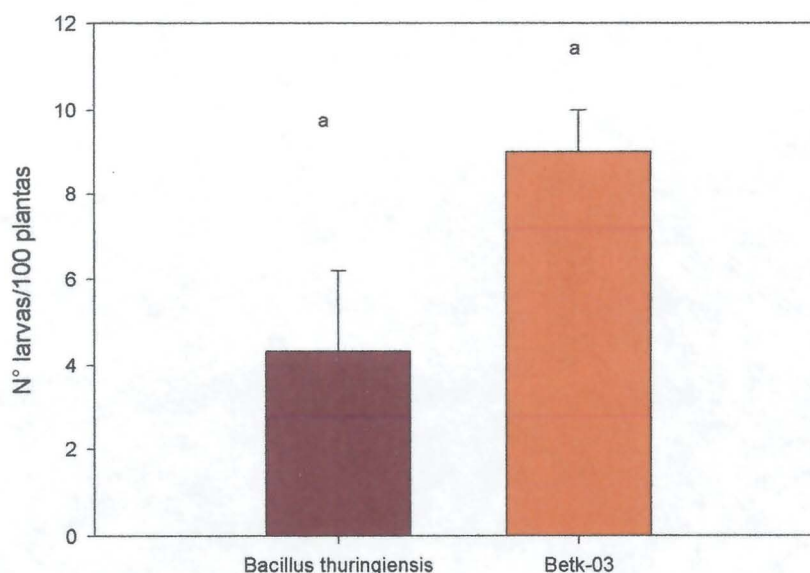


Gráfico 32: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0,05$).

No hay diferencias significativas en ambos tratamientos. Las prospecciones realizadas en el campo, permitieron observar que al aplicar *Bacillus thuringiensis*, las poblaciones de *Eulia* spp. son muy bajas y ambos tratammientos tienen un efecto positivo, para prevenir y controlar la plaga en condiciones de campo, bajo produccion organica.

6.9 Gusanos cortadores

6.9.1 Evaluación de *Bacillus thuringiensis* y *Pasteuria* spp. para la prevención y control de *Agrotis* spp. en plantas de maíz en macetas

Luego de haber aplicado los tratamientos y 48 hrs. después haber depositado una larva por plantas, se evaluó el ensayo cuyos resultados se presentan a continuación:

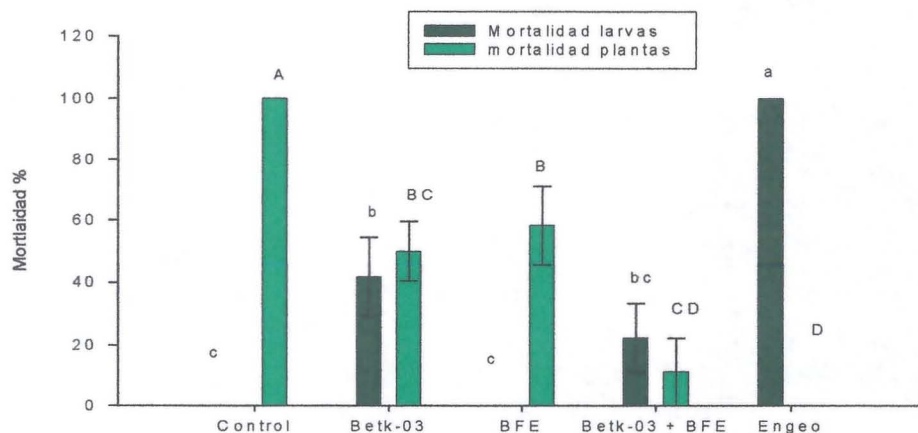


Gráfico 33: Mortalidad de larvas y plantas bajo tratamientos biológicos y químico. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos, según Tukey ($p < 0,05$).

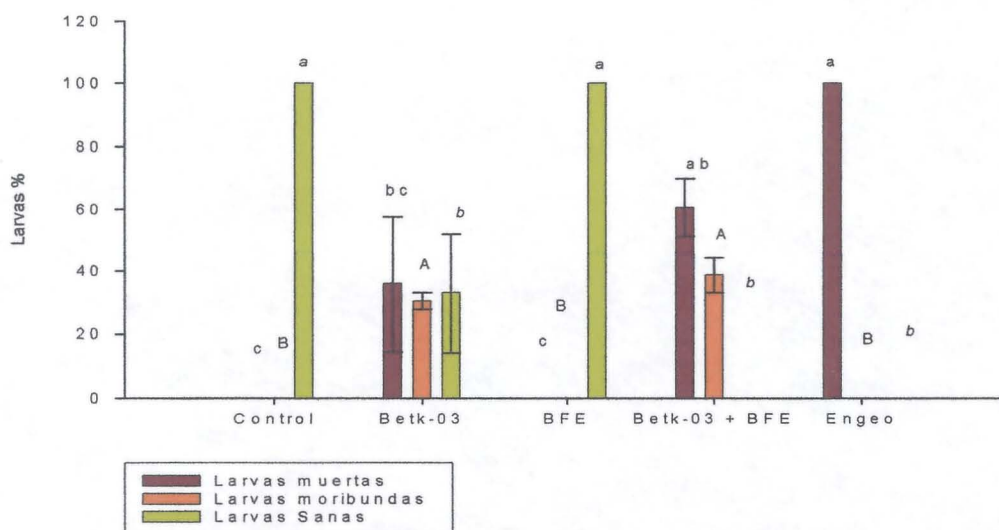


Gráfico 34: Evaluación de larvas según estado después de aplicación de tratamientos biológicos y químico. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos, según Tukey ($p < 0,05$).

Claramente en el gráfico 33, se puede observar una correlación lógica: a medida que hay menos mortalidad de larvas, el ataque a las plantas es más fuerte. Los mejores tratamientos Betk-03 (*Bacillus thuringiensis*), indican que hubo una mortalidad de un 40% de las larvas y murió la mitad de las plantas.

Del gráfico 34, se desprende que *Bacillus thuringiensis* + *Pasteuria penatans*, se potencian y que *Bacillus thuringiensis*, es un biocontrolador que tiene buenas perspectivas de ser un agente de prevención y control de *Agrotis* spp.

6.10 Chanchitos Blancos (*Pseudococcus viburni*)

6.10.1 Evaluación de Biocontroladores de Chanchitos blanco en manzanos, en condiciones de Laboratorio.

Se realizó un ensayo en placas, entre Octubre y Noviembre del 2009, con la finalidad de discriminar controladores.

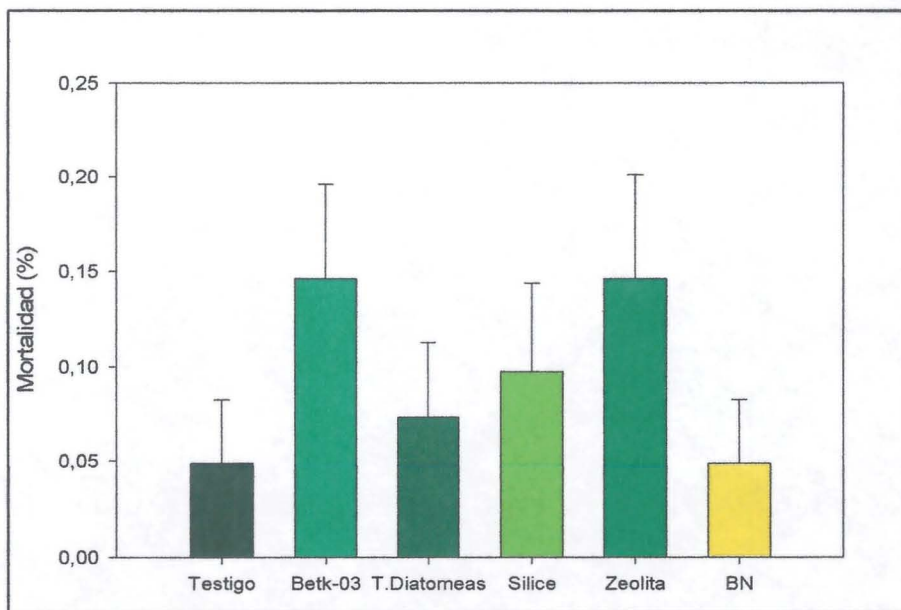


Gráfico 35: Porcentaje de mortalidad de Chanchitos blancos. Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

Analizados los datos, los biocontroladores no presentaron diferencias significativas, por lo cual, se decidió continuar con los mismos tratamientos en el ensayo que comenzó a desarrollarse a partir del mes de Enero del 2010 en manzanos en macetas, en los laboratorios de Bio Insumos Nativa Ltda.

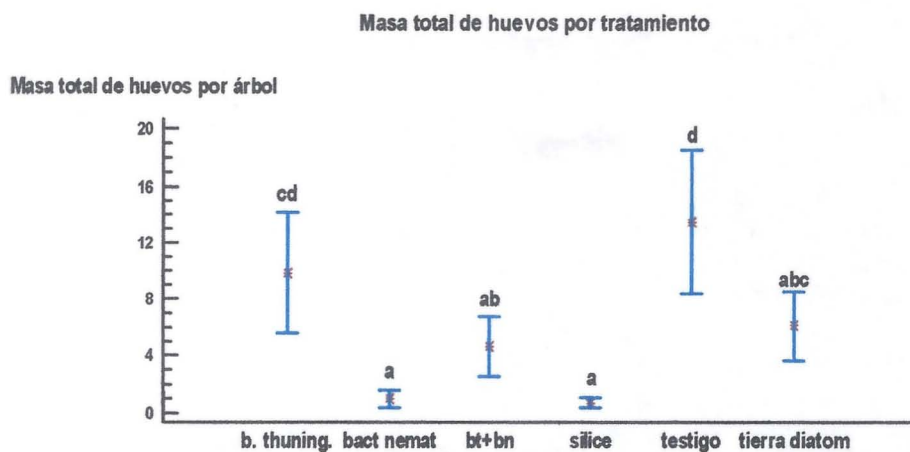


Gráfico 36: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

El gráfico 36 indica que hay diferencias estadísticamente significativa respecto del testigo. Los mejores tratamientos son el sílice y las bacterias formadoras de endosporas (BFE), ambos biocontroladores disminuyen considerablemente las masas de huevo de chanchito blanco.

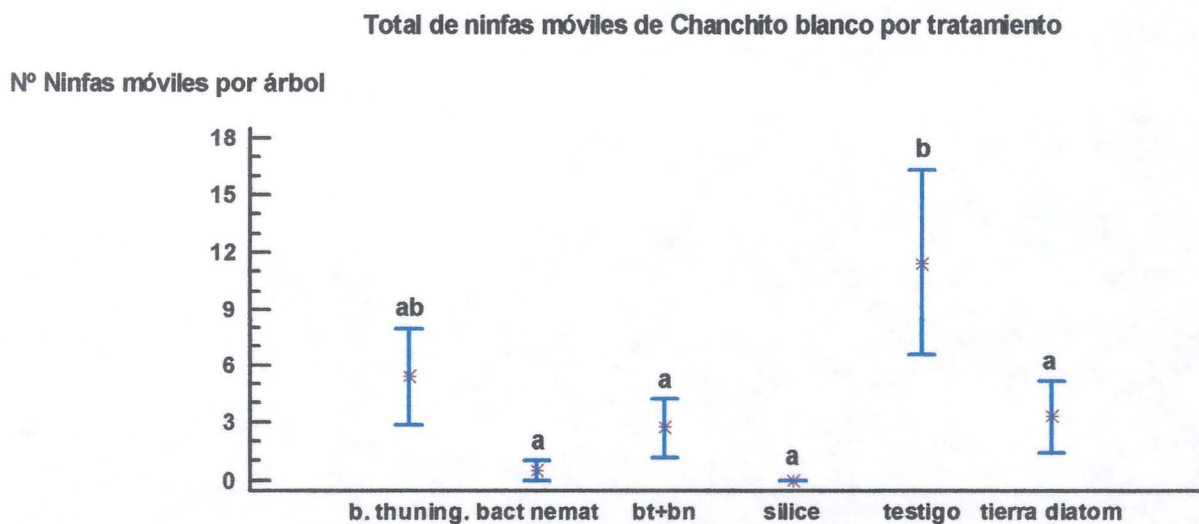


Gráfico 37: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

El gráfico 37 nos muestra que nuevamente todos los biocontroladores muestran diferencias estadísticas, respecto del testigo. Los biocontroladores que disminuyen la población de ninfas de Chanchito Blanco son, nuevamente el sílice y las bacteria formadoras de endosporas (BFE).

6.11 Pulgón Lanígero

6.11.1 Evaluación de Biocontroladores en la prevención y control de Pulgón Lanígero en manzano var. Granny Smith en condiciones de campo.

Se realizaron dos aplicaciones de los biocontroladores durante la temporada. Previo a la primera aplicación se realizó un conteo del número de colonia de Pulgón Lanígero por cm lineal de rama y del tamaño de éstas, las cuales fueron clasificadas dentro de una escala. La evaluación se hizo en 4 ramas por árboles en 3 hileras por tratamiento (30 árboles por tratamiento).

La segunda y tercera evaluación se hizo posterior a la primera y segunda aplicación de los biocontroladores respectivamente.

La escala de evaluación del tamaño de Pulgón Lanígero se describe a continuación

Tamaño de colonia	Nº pulgones/colonia	Tiempo de evaluación	Evaluación
0	Sin pulgones	Tiempo 1	Primera
1	1-10 pulgones	Tiempo 2	Segunda
2	11-30 pulgones	Tiempo 3	Tercera
3	31-70 pulgones		
4	mas de 70 pulgones		

Tamaño de colonias de Pulgón Lanígero por tratamiento

Tamaño de colonias

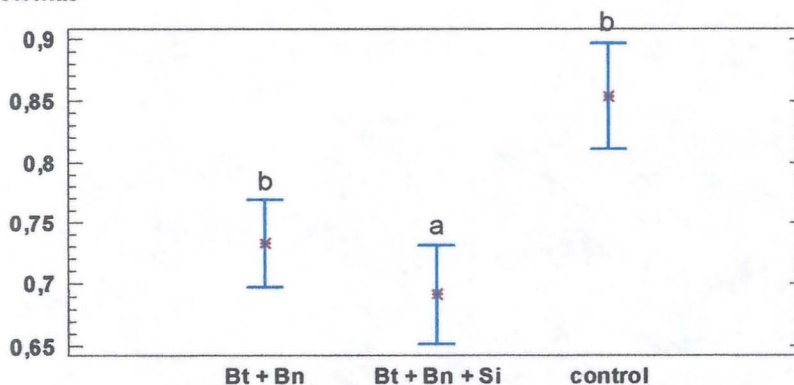


Gráfico 38: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$)

Nº de colonias de Pulgón Lanígero por tratamiento

Nº de colonia por cm lineal

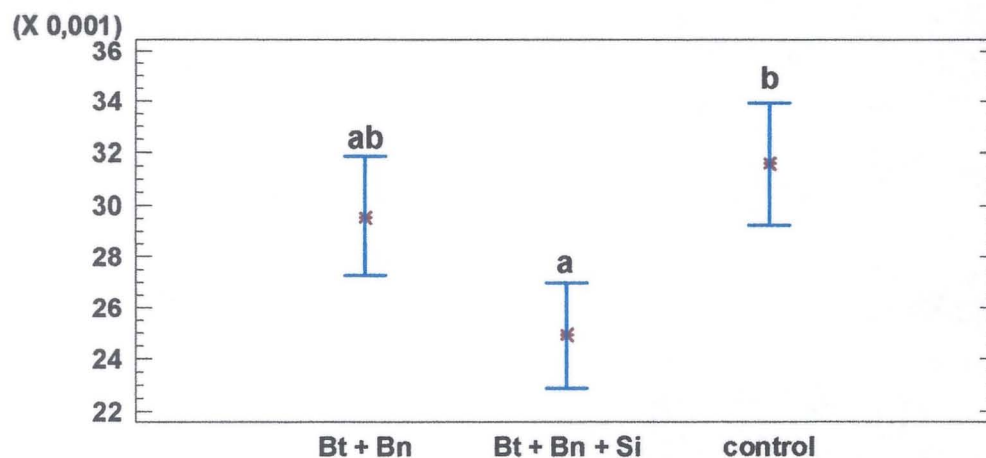


Gráfico 39: Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tukey $p < 0,05$).

La mezcla de biocontroladores de *Bacillus thuringiensis* más bacterias formadoras de endosporas (BFE) y sílice, es el tratamiento que presenta diferencia estadísticas en el número y tamaño de colonias de Pulgón Lanígero, según como lo muestran los gráficos 38 y 39.

7. IMPACTOS Y LOGROS DEL PROYECTO.-

Dentro del período, evaluaron y desarrollaron, distintos agentes de control biológico, en varios niveles de avance.

De este modo, se logró generar una colección de microorganismos con capacidad de control de *Venturia inaequalis*, causante de la Sarna del manzano, principal enfermedad de este cultivo. Esta colección de microorganismos permitió la generación de dos prototipos experimentales, uno para el control de inóculo primario y degradación de hojarasca, el que entrará prontamente a comercialización y otro, para el control directo de la enfermedad en follaje y fruto, en el que se están realizando los estudios necesarios, para la tramitación de registro SAG y patentes, con el fin de comercializarlo una vez finalizado dicho proceso. Estos productos serán de gran utilidad para la agricultura orgánica y también para la convencional, dadas las exigencias de disminución de residuos en fruta de exportación.

Otro impacto de relevancia, es la obtención de microorganismos con efecto sobre plagas de difícil control, como son pulgón lanífero y chanchito blanco, lográndose desarrollar un prototipo con altos niveles de control a nivel de campo, para el primer insecto y en condiciones controladas, lo que tendrán alto impacto tanto en producción orgánica como en convencional, donde no existen productos que puedan ser aplicados cerca de cosecha para estas plagas. Este prototipo será evaluado nuevamente en campo esta temporada y sometido a los estudios toxicológicos, necesarios para la obtención de registro SAG y patentes y su consecuente comercialización.

En cuanto a tecnologías no apropiables, se diseñaron, evaluaron y validaron distintos planes de manejo, para los cultivos en estudio, lográndose cuantificar con método científico los reales niveles de control, de varios insumos biológicos utilizados en agricultura orgánica. Dichos planes de manejo, se plasmaron en fichas de difusión, dirigidas a agricultores, que entregan una visión integral del manejo de plagas y enfermedades con alto sentido práctico.

Dentro de estos planes, es relevante la generación de un plan de manejo biológico, para PSA (*Pseudomonas syringae actinidiae*), de reciente ingreso en el país y que ha causado estragos en los cultivos de Italia y Nueva Zelanda, lo que ha posicionado a personal de nuestra empresa, como parte del comité público privado para el control de este patógeno.

Esta información, no fue incluida en las fichas, ya que todo manejo de esta bacteria debe ser aprobado por dicha comisión y el SAG.

En cuanto a formación, se logró un alto impacto dentro de las dos universidades regionales participantes del PTO, al generar la vinculación con éstas para el desarrollo de diversas tesis, que permitió a los alumnos de estas universidades, participar en el desarrollo de los biocontroladores, como en los planes de manejo.

Se realizaron 16 trabajos con la Universidad Católica del Maule y 4 con la Universidad de Talca, en los 3 años de proyecto.

En difusión, se participó en el 2^{do}. Simposio chileno de Control Biológico 2009; en el 60° Congreso Agronómico de Chile 2009, donde se expuso el trabajo “Efecto de *Bacillus* spp. sobre la mortalidad de larvas de gusanos cortadores (*Agrotis* spp.) sobre plantas de maíz. Así mismo, el año 2010, se difundieron resultados del proyecto en el 3er. Simposio Internacional de Agricultura Orgánica, destacando la investigación “Evaluación de nuevos biocontroladores en la prevención y control de *Venturia inaequalis* var. Granny Smith bajo condiciones de campo”. Posteriormente, en el XIX Congreso de la Sociedad chilena de Fitopatología, realizado en Noviembre de 2010, se expusieron los siguientes trabajos: “Efecto de Nacillus® sobre Tizón bacteriano (*Xanthomonas corylina*) en avellano europeo”; “Efecto de fertilización nitrogenada y la exposición geográfica sobre la incidencia de Cáncer Bacterial en cerezos” y “Efecto de dos formulaciones comerciales del hongo *Trichoderma* spp. sobre el control de Pudrición gris (*Botrytis cinerea*) en arándanos orgánicos”.

Además, se participó en los distintos cursos organizados por el PTO y charlas de difusión de este instrumento, destacando el Seminario organizado por Simfruit con más de 200 asistentes, a lo que se suma, reuniones técnicas con asesores y gerentes técnicos de importantes empresas agrícolas, lo que permitió posicionar los resultados del proyecto, frente a actores relevantes tanto a nivel, productivo, gremial, estatal y empresarial.

7.1 Impactos en formación

Logro	Número a la fecha	Detalle (Título, grado, lugar, institución)
Tesis de pregrado	3 finalizadas	Agronomía, Universidad de Talca, Panguilemo.
Tesis de pregrado	14 en ejecución	Agronomía, Universidad Católica del Maule, Los Niches y San Javier.
Tesis de pregrado	2 finalizadas	Agronomía, Universidad Católica del Maule, Los Niches y San Javier.

7.2 Tesis finalizadas

7.2.1 Universidad de Talca

- Evaluación de tres cepas de *Trichoderma spp.* para la prevención y control de *Verticilosis dahliae* en plantas de tomate. (Tesisista UTALCA, Valeska Gallardo)
- Evaluación de *Bacillus spp.* y *Trichoderma spp.* para la prevención y control de *Phytophthora infestans* en tomate.
- Evaluación de *Trichoderma spp.* para la prevención y control de Caída de plántulas en pimentones en campo. (Tesisista UTALCA, Carlos Rojas)

7.2.2 Universidad Católica del Maule

- Evaluación de relación de contenido amoniacal en cerezos *Prunus avium L.*, var. Bing e incidencia de Cáncer bacterial causado por *Pseudomonas syringae pv. syringae*. (Tesisista UCM, Hugo Hernández)
- Determinación del efecto sistémico de *Bacillus spp.* en control de Cáncer Bacterial en cerezos (*Prunus avium*). (Tesisista UCM, María Lidia Rozas)

7.2.3 Impactos tecnológicos

Durante el desarrollo del proyecto, se subió información relacionada con los avances del PTO a la página web de Bio Insumos Nativa®, una página dedicada exclusivamente a la herramienta de la empresa. Con la entrega del informe final, se actualizará la información para que quede disponible a los agricultores orgánicos.

7.3 Tesis en ejecución

- Evaluación de biocontroladores para la prevención y control de *Venturia inaequalis* en manzanos bajo condiciones de campo
- Evaluación de biocontroladores para la prevención y control de *Venturia inaequalis* en manzanos bajo condiciones de laboratorio
- Evaluación de Biocontroladores en la prevención y control Chanchito de Blanco en manzanos var. Granny Smith en macetas
- Evaluación de Biocontroladores en la prevención y control Pulgón Lanígero en manzanos var. Granny Smith en condiciones de campo
- Evaluación de Biocontroladores en la prevención y control *Cydia pomonella* en manzanos var. Gala premium en condiciones de campo
- Evaluación de Biocontroladores en la prevención y control de *Venturia inaequalis* en manzanos var. Gala premium en condiciones de campo
- Evaluación de *Nacillus* en la prevención y control de *Xanthomona corylina* en Avellano Europeo en condiciones de campo
- Evaluación del efecto del Sílice en el crecimiento y desarrollo de plantas de tomate en condiciones de invernadero
- Evaluación de Biocontroladores en la prevención y control de Nemátodos Fitoparásitos en plantas de tomate en condiciones de laboratorio
- Evaluación del efecto del Sílice en el crecimiento y desarrollo de plantas de tomate en condiciones de laboratorio
- Evaluación de un formulado de *Bacillus* y *Nacillus*® en la prevención y control de enfermedades bacterianas en tomate industrial en condiciones de campo
- Evaluación de nuevos Biocontroladores en la prevención y control de Nemátodos fitoparásitos en uva vinífera var. Viognier, bajo condiciones de campo

8. PROBLEMAS ENFRENTADOS.-

Durante el desarrollo del proyecto no hubo problemas en materias legales, ni de carácter administrativo ni de gestión. Donde sí, se produjeron fue en la parte técnica, en cuanto al desarrollo de algunos ensayos que se tenían montados en el fitotrón de Bio Insumos Nativa. La situación ocurrida fue un amago de incendio dentro de la sala de crecimiento de plantas, donde se encontraban cerca de 1250 plantas de tomate y pimentón, listas para realizar los ensayos con patógenos, como *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, y *Pseudomonas syringae* y *Xanthomonas campestris*. Esta situación nos afectó en la medida, que hubo que arreglar el fitotrón, resembrar las bandejas y perder el tiempo en que crecieron las plántulas.

Esto se solucionó resembrando las bandejas, las cuales se demoraron alrededor de tres meses en estar listas para comenzar el desarrollo del ensayo.

Luego de este inconveniente, se tuvo problemas debido a las condiciones climáticas desfavorables, con lluvias periódicas, heladas nocturnas y días con baja radiación (nublados). Es por este motivo que las plantas de almácigos tuvieron un lento desarrollo, al igual que los árboles frutales, ya que tuvieron atrasos en todos los estados fenológicos y estuvieron expuestos a otros patógenos, inconveniente que retrasó la mayoría de los ensayos que estaban en desarrollo y por desarrollarse. Los trabajos más afectados en esta etapa, son los que estaban programados para realizarse en tomates en maceta en *Pseudomonas* spp., *Xanthomonas* spp., *Botrytis* spp., *Verticillium* spp., *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp. y *Alternaria alternata*.

Otro inconveniente que se observó, fue la incertidumbre que se generó en algunos agricultores, el utilizar nuevos productos que funcionan de modo similar a los microorganismos patógenos, pero que generan un gran beneficio, cuando se utilizan del modo correcto, avalados por la investigación. Debido a esto, fue difícil realizar ensayos de campo, asociados a los altos costos de producción que están involucrados en la agricultura orgánica y a las grandes pérdidas que se generan cuando un producto no es efectivo en el control de una plaga o enfermedad y el desmedro que implica en el equilibrio del campo.

En el último período del proyecto, se solicitó el aplazamiento de la fecha de término de nuestra participación como empresa dentro del PTO, con el fin de concluir dos ensayos

de campo, ya que enfermedades trascendentales, como la Sarna del manzano, era fundamental realizar un seguimiento por al menos dos temporadas.

Lamentablemente, durante la primera temporada, no hubo desarrollo del patógeno debido al manejo del huerto y a las condiciones climáticas de esa temporada. Por este motivo, se solicitó más tiempo para poder terminar el ensayo, el cual permitiría discriminar los mejores microorganismos que previenen el desarrollo de esta enfermedad. El ensayo culminó con resultados positivos, permitiendo establecer un manejo preventivo, a partir de los microorganismos seleccionados. Además de evaluar periódicamente la enfermedad, nos permitió comprender de mejor forma su biología y los momentos que logra infectar el cultivo del manzano, según condiciones ambientales. La evaluación de frutales siempre es más lenta debido a la biología de las enfermedades y plagas (ciclos más largos), lo cual reduce la posibilidad de evaluar bajo estas condiciones, en comparación con hortalizas, que tienen ciclos trimestrales o semestrales y son más fáciles de producir y manejar, para el desarrollo de ensayos.

9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Se obtuvieron tres formulaciones de microorganismos, con altos niveles de control para *Venturia inaequalis*, *Eriosoma lanigerum* y *Pseudococcus viburni* en manzanos.
- El uso de alternativas biológicas de control, pueden lograr niveles similares o mejores de control, que alternativas de síntesis (Químico), pero esto requiere una visión mas sistemática del manejo de las plagas y enfermedades.
- Existe una alta demanda por parte de los productores por el uso de alternativas biológicas, independiente de si están bajo certificación orgánica o no.
- Pese a la disponibilidad de insumos certificados orgánicos, muchos de ellos no presentaban información científica de respaldo, que justifique su uso, como fue el caso de tierra de diatomea.
- Los ensayos realizados, en los que se comparo la eficacia de distintos formulados de microorganismos similares, pero con diferencias de cepas y formulación, indican que los niveles de control esta dados por la combinación cepa y tecnología de formulación, por lo que la decisión de uso de estos productos, debe realizarse en base a datos empíricos de cada formulación o producto comercial en específico.

10. INFORME DE DIFUSIÓN

A modo de resumen, durante la ejecución del proyecto, se presentaron diversos avances de investigaciones asociadas al PTO en el 2^{do}. Simposio chileno de Control Biológico 2009; en el 60° Congreso Agronómico de Chile 2009. Así mismo, el año 2010, se participó en el 3er. Simposio Internacional de Agricultura Orgánica y en el XIX Congreso de la Sociedad chilena de Fitopatología.

Además, se participó en los distintos cursos organizados por el PTO y charlas de difusión de este instrumento, destacando el Seminario organizado por Simfruit con más de 200 asistentes, a lo que se suma, reuniones técnicas con asesores y gerentes técnicos de importantes empresas agrícolas, lo que permitió posicionar los resultados del proyecto, frente a actores relevantes tanto a nivel, productivo, gremial, estatal y empresarial.

Al final del período, se realizó una charla organizada por Bio Insumos Nativa Ltda, en el salón de exposiciones del teatro de San Javier.

Las invitaciones fueron cursadas vía mail a todos los contactos de SURFRUT, y de nuestra empresa, previa confirmación para su asistencia.

En la charla se dieron a conocer todos los resultados más importantes obtenidos durante el período del proyecto. La charla fue dada por Eduardo Donoso Cuevas, Director de Bio Insumos Nativa Ltda. y coordinador del proyecto. Además se presentó la ficha con los planes de manejo y se explicó en la charla el contenido y como los participante pueden utilizarla.

A la charla asistieron 21 personas a las cuales se les pidió registrarse en la entrada y se le hizo entrega de la carpeta con todos los planes de manejos que fueron expuestos en la charla. La lista va anexada al final del informe.

Posterior a la charla, se realizó coctel con todos los asistentes y organizadores.

Bio Insumos Nativa Ltda. seguirá en la búsqueda de nuevos biocontroladores y nuevas alternativa para la Agricultura Orgánica, además seguirá trabajando en conjunto a los productosres organicos y a las Universidades de la VII y VIII Región, en pro de mejorar la prevención y el control de las plagas y las enfermedades que atacan nuestros cultivos.

11. ANEXOS

11.1 FICHA REPRESENTANTE(S) LEGAL(ES)

Tipo de actor en el Proyecto (A)	Representante legal del Agente Ejecutor		
Nombres	Eduardo		
Apellido Paterno	Donoso		
Apellido Materno	Cuevas		
RUT Personal			
Nombre de la Organización o Institución donde trabaja			
RUT de la Organización			
Tipo de Organización	Pública	☐	Privada ☒
Cargo o actividad que desarrolla en la Organización	Representante Legal		
Dirección (laboral)			
País	Chile		
Región	Séptima		
Ciudad o Comuna	San Javier		
Fono			
Fax			
Celular			
Email			
Web			
Género	Masculino	☒	Femenino ☐
Etnia (B)			
Tipo (C)			

11.2 FICHA COORDINADORES Y EQUIPO TÉCNICO

Tipo de actor en el Proyecto (A)	Coordinador General		
Nombres	Eduardo		
Apellido Paterno	Donoso		
Apellido Materno	Cuevas		
RUT Personal			
Nombre de la Organización o Institución donde trabaja	BIO INSUMOS NATIVA LIMITADA		
RUT de la Organización			
Tipo de Organización	Pública	☐	Privada ☒
Cargo o actividad que desarrolla en la Organización	Representante Legal		
Profesión	Ingeniero Agrónomo		
Especialidad			
Dirección (laboral)			
País	Chile		
Región	Séptima		
Ciudad o Comuna	San Javier		
Fono			
Fax			
Celular			
Email			
Web			
Género	Masculino	☒	Femenino ☐
Etnia (B)			
Tipo (C)			

Tipo de actor en el Proyecto (A)	Coordinador Alterno		
Nombres	Pablina		
Apellido Paterno	Pulgar		
Apellido Materno	Zapata		
RUT Personal			
Nombre de la Organización o Institución donde trabaja	BIO INSUMOS NATIVA LIMITADA		
RUT de la Organización			
Tipo de Organización	Pública	☐ Privada	☒
Cargo o actividad que desarrolla en la Organización	Gerente de Administración y Finanzas		
Profesión	Ingeniero Agrónomo		
Especialidad			
Dirección (laboral)			
País	Chile		
Región	Séptima		
Ciudad o Comuna	San Javier		
Fono			
Fax			
Celular			
Email			
Web			
Género	Masculino	☐ Femenino	☒
Etnia (B)			
Tipo (C)			

Tipo de actor en el Proyecto (A)	Encargado de desarrollo del proyecto		
Nombres	César		
Apellido Paterno	Ortiz		
Apellido Materno	Toledo		
RUT Personal			
Nombre de la Organización o Institución donde trabaja	BIO INSUMOS NATIVA LIMITADA		
RUT de la Organización			
Tipo de Organización	Pública	☐	Privada ☒
Cargo o actividad que desarrolla en la Organización	Encargado de Proyecto Fia-Surfrut		
Profesión	Ingeniero Agrónomo		
Especialidad			
Dirección (laboral)			
País	Chile		
Región	Séptima		
Ciudad o Comuna	San Javier		
Fono			
Fax			
Celular			
Email			
Web			
Género	Masculino	☒	Femenino ☐
Etnia (B)			
Tipo (C)			

12. Anexo Fotografico



Fig 1. Placa con *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* aplicadas a cerezos.



Fig. 2 Preparación de biocontroladores para ser aplicados en el ensayo de *Venturia inaequalis*..



Fig. 3 Recolección de hojarasca y aplicación de biocontroladores a ensayo *Venturia inaequalis* .



Fig. 4. Aplicación de campo de Biocontroladores en manzanos var. Fuji sobre Pulgón Lanígero, con bomba carretilla.

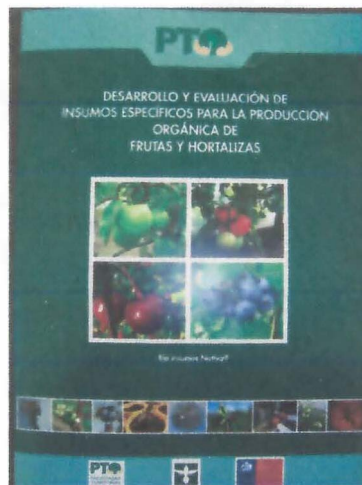


Fig. 5. Colonia de Pulgón Lanígero en la base del tronco de árboles de manzan

Imágenes del laboratorio (amago de incendio) Problemas enfrentados.



Charla de Difusión



Carpeta con planes de manejo, la cual fue entregada a todos los participantes de la Charla de Difusión.



Eduardo Donoso, Director de Bio Insumos Nativa, Coordinador del proyecto PTO-Surfrut, en exposición de resultados de ensayos realizados durante el proyecto.



Felipe Torti: Palabras al cierre de la Charla de Difusión.