



INFORME TECNICO FINAL

Nombre del proyecto	Desarrollo de un biopesticida en base a hongos entomopatógenos para biocontrol y/o manejo integrado de <i>Lobesia botrana</i> en vides como una alternativa sustentable en el cambio climático
Código del proyecto	PYT-2017-0182
Informe final	
Período informado (considerar todo el período de ejecución)	desde el 02/05/2017 hasta el 30/04/2020
Fecha de entrega	13/05/2020

Nombre coordinador	Eduardo Andrés Tapia Rodríguez
Firma	

INSTRUCCIONES PARA CONTESTAR Y PRESENTAR EL INFORME

- Todas las secciones del informe deben ser contestadas, utilizando caracteres tipo Arial, tamaño 11.
- Sobre la información presentada en el informe:
 - Debe dar cuenta de todas las actividades realizadas en el marco del proyecto, considerando todo el período de ejecución, incluyendo los resultados finales logrados del proyecto; la metodología utilizada y las modificaciones que se le introdujeron; y el uso y situación presente de los recursos utilizados, especialmente de aquellos provistos por FIA.
 - Debe estar basada en la última versión del Plan Operativo aprobada por FIA.
 - Debe ser resumida y precisa. Si bien no se establecen números de caracteres por sección, no debe incluirse información en exceso, sino solo aquella información que realmente aporte a lo que se solicita informar.
 - Debe ser totalmente consistente en las distintas secciones y se deben evitar repeticiones entre ellas.
 - Debe estar directamente vinculada a la información presentada en el informe financiero final y ser totalmente consistente con ella.
- Sobre los anexos del informe:
 - Deben incluir toda la información que complemente y/o respalde la información presentada en el informe, especialmente a nivel de los resultados alcanzados.
 - Se deben incluir materiales de difusión, como diapositivas, publicaciones, manuales, folletos, fichas técnicas, entre otros.
 - También se deben incluir cuadros, gráficos y fotografías, pero presentando una descripción y/o conclusiones de los elementos señalados, lo cual facilite la interpretación de la información.
- Sobre la presentación a FIA del informe:
 - Se deben entregar tres copias iguales, dos en papel y una digital en formato Word (CD o pendrive).
 - La fecha de presentación debe ser la establecida en el Plan Operativo del proyecto, en la sección detalle administrativo. El retraso en la fecha de presentación del informe generará una multa por cada día hábil de atraso equivalente al 0,2% del último aporte cancelado.
 - Debe entregarse en las oficinas de FIA, personalmente o por correo. En este último caso, la fecha válida es la de ingreso a FIA, no la fecha de envío de la correspondencia.

- El FIA se reserva el derecho de publicar una versión del Informe Final editada especialmente para estos efectos.

CONTENIDO

1.	ANTECEDENTES GENERALES	5
2.	EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO	5
3.	RESUMEN EJECUTIVO	6
4.	OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO	8
5.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE).....	8
6.	RESULTADOS ESPERADOS (RE)	9
7.	CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO	18
8.	ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO	22
9.	POTENCIAL IMPACTO	23
10.	CAMBIOS EN EL ENTORNO.....	23
11.	DIFUSIÓN	24
12.	PRODUCTORES PARTICIPANTES	26
13.	CONSIDERACIONES GENERALES	28
14.	CONCLUSIONES	29
15.	RECOMENDACIONES	30
16.	ANEXOS.....	31
17.	BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA	141

1. ANTECEDENTES GENERALES

Nombre Ejecutor:	Instituto de Investigaciones Agropecuarias, CRI La Platina
Nombre(s) Asociado(s):	Servicio Agrícola y Ganadero
Coordinador del Proyecto:	Eduardo Andrés Tapia Rodríguez
Regiones de ejecución:	Región Metropolitana y Región del Libertador Bernardo O'Higgins.
Fecha de inicio iniciativa:	02/mayo/2017
Fecha término Iniciativa:	30/abril/2020

2. EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO

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

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

3. RESUMEN EJECUTIVO

3.1 Resumen del período no informado

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

Desde el 13/diciembre/2019 al 30/abril/2020, periodo final del proyecto PYT-2017-0182 y con el objetivo de dar continuidad al cometido de aportar en el control y/o manejo integrado de *L. botrana* con alternativas sustentables en nuestro país, se han desarrollado las tareas de cierre. Estas comenzarán con las capacitaciones y evaluaciones de adopción de conocimientos por parte de los agricultores. En este punto, los agricultores de nuestros grupos de transferencia tecnológica poseían un promedio de conocimientos de un 37,5% respecto a biología de la plaga, 40% sobre monitoreo y 41,1% en hongos entomopatógenos. Posterior a los trabajos desarrollados en conjunto entre investigadores, extensionistas y agricultores, sus porcentajes en promedio aumentaron a 71,4%, 75,7% 92,9% respectivamente superando el indicador esperado de un 60%. Sumado a lo anterior, se trabajo en la preparación de documentos técnicos y divulgativos. Para esto, publicamos la ficha técnica N° 36 (entomología) titulada “Propuesta de manejo integrado para control de *Lobesia botrana* empleando hongos entomopatógenos y bacterias” que refleja los principales resultados del proyecto. Este tipo de documento es de fácil distribución, ilustrativo y resumido para mostrar de una manera sencilla a los agricultores una propuesta de MIP. Además se había propuesto un seminario de cierre en donde se presentarían estos resultados, pero, la contingencia mundial sanitaria generada por covid-19 generó la suspensión y posterior cancelación de esta actividad. Para suplir la necesidad de difusión de la información relevante generada en el proyecto, se optó por difundir los resultados técnicos junto con los obtenidos de la extensión y transferencia tecnológica del proyecto a través de un boletín INIA N° 419 llamado “Plaguicidas microbianos para el manejo integrado de *Lobesia botrana* en vides” en el cual se muestran los resultados, experiencias y proyecciones del trabajo por INIA, con apoyo del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) junto con la Fundación para la Innovación Agraria (FIA). Finalmente, se publicó un reportaje en la revista MundoAgro en su edición de abril 2020 llamado “Un futuro muy cercano. El desarrollo de un biopesticida en base a hongos entomopatógenos para biocontrol y manejo integrado de *Lobesia botrana*”. En esta publicación se comentaron los principales resultados junto con la descripción del trabajo de extensión y transferencia tecnológica del proyecto. La ficha técnica y el Boletín se encuentran disponibles en la biblioteca digital de INIA y el reportaje del proyecto en el sitio web de la revista MundoAgro.

3.2 Resumen del proyecto

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

Desde el año 2016, hemos desarrollado estrategias amigables con el medio ambiente para el control de la polilla del racimo de la vid *Lobesia botrana* que afecta principalmente a vides, arándanos y ciruelos entre otros hospederos. Además, esta plaga fue catalogada bajo control obligatorio desde el abril/2018 por el SAG debido a que es cuarentenaria (Resolución N° 2.109 Exenta). Para el caso de *L. botrana* en vides, dentro de su ciclo de vida encontramos una diapausa invernal de aproximadamente de 5 meses en donde no hay manejo químico ni biológico para control de esta siendo una brecha no cubierta. Además, los principales focos de reinfestación de esta plaga se encuentran en sectores urbanos cercanos de los predios de pequeños, medianos y grandes productores de uva, alcanzando una superficie de aproximadamente de 155.000 ha. Por lo tanto, el Laboratorio de Entomología/Biotecnología del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) La Platina en conjunto con el Programa Nacional de *Lobesia botrana* (PNLb) del SAG decidieron realizar pruebas de laboratorio y campo para explorar la posibilidad de utilizar el hongo entomopatógeno (HEP) *Beauveria pseudobassiana* RGM 1747 para el control de las pupas de *L. botrana* en diapausa invernal. Una vez aprobadas las evaluaciones *in vitro* y de campo con infestación controlada en invierno, se desarrollo una prueba de concepto en sectores urbanos con infestación natural de la plaga en invierno en donde se alcanzo con una formulación básica un 51% de eficacia de la Región Metropolitana (Altamira et al., 2019). Con los resultados obtenidos de este estudio, se postuló a un fondo concursable de FIA en donde, una vez adjudicado el proyecto de duración de 36 meses a partir de mayo del 2017 hasta marzo del 2020 (PYT-2017-0182) se realizaron los estudios para mejorar la producción, formulación y evaluación en campo junto la extensión y transferencia tecnológica requerida para implementar el uso de los biopesticidas en base a HEP.

En una primera etapa se evaluaron 10 HEP de los géneros *Beauveria sp* y *Metarhizium sp* a través de su patogenicidad sobre pupas de *L. botrana* y se escalaron a 5 L en biorreactores según su capacidad de crecer en medios líquidos alcanzando, por ejemplo, concentraciones de 200 g/L de biomasa húmeda para *Beauveria*. Posteriormente, fueron formulados como emulsiones inversas y/o polvos mojables manteniendo su patogenicidad sobre las pupas. La inclusión de las herramientas de biotecnología permitió disminuir los tiempos de producción de 4 meses en estado solido a un mes en líquido (considerando su formulación). En la segunda etapa, los resultados relevantes de esta iniciativa en el control invernal en sector urbano, temporada 2018 y 2019, fue un promedio un 63.4% de eficacia con *Metarhizium* en la Provincia de Chacabuco, Lampa. Además, se realizó un ensayo en Olmué, Región de Valparaíso, en donde se alcanzó con la técnica de confusión sexual y *Beauveria* un 80% de disminución de las capturas de machos en las trampas pegajosas con feromona de *L. botrana*. En paralelo, en la misma temporada, en sector rural de la Provincia de Santiago, La Pintana (INIA La Platina) *Metarhizium* alcanzó en promedio un 82.1% de eficacia seguido por *Beauveria* que alcanzó un 73.3% de eficacia. Adicionalmente, en el sector de Placilla, Región de O'Higgins, *Beauveria* alcanzó un 53.49% de eficacia y *Metarhizium* un 80.39%. Por otra parte, para establecer una base de conocimientos de la plaga y su manejo, se realizaron capacitaciones en terreno a los grupos de transferencia tecnológica de las provincias de Chacabuco e Isla de Maipo sobre la identificación y manejo de la plaga. Estas capacitaciones establecieron una línea base que identifico las brechas del reconocimiento de la plaga en y sus distintos estadios junto con su control amigable con el medio ambiente y las personas a través de biopesticidas en base a hongos entomopatógenos. En la extensión, sobre las adopciones de conocimientos referentes a la biología de la plaga, los agricultores comenzaron con un promedio de 37,5% aumentando a 71,4%, en conocimientos de hongos entomopatógenos comenzaron con un 41,1%

alcanzando un 92,9% y en monitoreo iniciaron con un 40% terminando con un 75,7% superando las expectativas de un 60%. Los resultados mencionados aportaron a difusión científica a través de presentaciones en congresos nacionales e internacionales junto con la publicación de un artículo científico además de reportajes en revistas de divulgación del sector agropecuario. Finalmente, Los resultados del proyecto FIA han derivado en una solicitud de patente nacional (INAPI 201802396) en donde se protege la formulación de los HEP seleccionados y sus aplicaciones sobre pupas de *L. botrana* en vides.

4. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Controlar biológicamente *Lobesia botrana* a través de biopesticidas formulados en base de hongos entomopatógenos nativos para el desarrollo de una agricultura sustentable respondiendo al desafío del cambio climático.

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE)

5.1 Porcentaje de Avance

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

Nº OE	Descripción del OE	% de avance al término del proyecto ¹
1	Evaluar <i>in vitro</i> de aislados de hongos entomopatógenos de <i>Beauveria sp.</i> y <i>Metarhizium sp.</i> contra <i>Lobesia botrana</i> .	100%
2	Realizar el escalado productivo en fermentación líquida de aislados de <i>Beauveria sp.</i> y <i>Metarhizium sp.</i>	100%
3	Desarrollar formulaciones de biopesticida eco-amigable con el medio ambiente y su evaluación <i>in vitro</i> .	100%
4	Evaluar el efecto del biopesticida en campo, para cuantificar su respuesta a las condiciones climáticas y uso sustentable para el medio ambiente.	100%
5	Capacitar y realizar la transferencia tecnológica del uso del o los biopesticidas a residentes urbanos, pequeños y grandes productores en un contexto de cambio climático	100%

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

6. RESULTADOS ESPERADOS (RE)

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

6.1 Cuantificación del avance de los RE al término del proyecto

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

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

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado ² (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta real ⁸	% de cumplimiento
			Nombre del indicador ³	Fórmula de cálculo ⁴	Línea base ⁵	Meta del indicador ⁶ (situación final)	Fecha alcance meta programada ⁷		
1	1	Obtención de aislados candidatos dentro de la colección de B. bassiana M. anisopliae	Hifas de HEP sobre pupas de L. botrana a los 21 días post aplicación	%pupas infectadas = (nºpupas infectadas/total pupas) • 100	0%	100%	Mayo/2017	Mayo/2017	100%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
Para el comienzo de las actividades del proyecto, se obtuvieron 10 aislados de HEP, 5 <i>Metarhizium</i> y 5 <i>Beauveria</i> , del Banco de Recursos Genéticos de INIA Quilamapu, y se realizaron infecciones, sin formular, sobre pupas de <i>L. botrana</i> para determinar su capacidad de infectividad. Todos los hongos utilizados tuvieron la capacidad de infectar en distintos porcentajes las pupas en donde los tres mejores HEP de cada género fueron seleccionados por su capacidad de infectar sobre el 40% de las pupas en un periodo de 7 días. Los aislados de <i>Metarhizium</i> fueron M8, M4 y M2. Para <i>Beauveria</i> , los aislados fueron B4, B6 y B1. Todos los HEP sin formular alcanzaron un 100% de infección a los 21 días.									

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

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

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

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

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

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

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

Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)
Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

Anexo 16.1

N° OE	N° RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
2	1	Protocolo de escalado de producción a cultivos líquidos en biorreactor de 5L.	Número de protocolos por HEP seleccionados	Sin formula	No hay protocolo	1/cada HEP seleccionado	Noviembre/ 2017	Noviembre/2017	100%

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

Los resultados de cinética de *Beauveria* y *Metarhizium* obtenidas de acuerdo a los medios utilizados, presentan distintas velocidades específicas de crecimiento, productividades volumétricas y concentraciones finales. Según la caracterización obtenida en estos experimentos, se ajustaron los parámetros de crecimiento para biorreactores con un control dinámico de 200-800 revoluciones por minuto (rpm) en dependencia de la oxígeno disuelto (OD) ajustada a 50% hasta consumo total de OD, con 1 vvm, con control automático de pH= 5.5 y antiespumante en una escala de operación de 4L a 25°C.

Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)
Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

Anexo 16.1

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
3	1	Alta productividad y concentración en medios líquidos.	$\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$ g/L	$Y_{(\text{g/L})}=m$ $X_{(\text{h})}$ $Y_{(\text{g/L})}=m$ $X_{(\text{fermentación})}$	No existe línea base para aislados nativos	2.8 g/(L·h) 100 g/L	Enero/2018	Enero/2018	100%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
Con las cinéticas de crecimiento, concentraciones y eficacias de las etapas anteriores, se seleccionaron para pruebas en el biorreactor las cepas de B4 y M8 determinándose sus velocidades específicas de crecimiento, productividad volumétrica y concentración final en biorreactor. <i>Beauveria</i> alcanzo una $X=200$ g/L con una $Q_x=51,2$ g/(L·d) en las condiciones propuestas de escalado de: 1 vvm con una OD fijada en 50% en dependencia de las rpm desde 200 a 800, con pH: 5.5, temperatura de 25°C. La cepa de <i>Metarhizium</i> , que obtuvo 41,9 g/L con una $Q_x=7,9$ g/(L·d) necesitará optimización adicional para mejorar sus valores de X y Q_x . Finalmente, por los resultados obtenidos, se cuenta con un hongo entomopatógeno candidato (B4) para producción masiva. Es importante no descartar todos los aislados candidatos debido a que en las siguientes etapas pueden ocurrir disminuciones de actividad controladora al ser formulados.									
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra) Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.									
Anexo 16.1									

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
4	1	Formulaciones de biopesticidas con buen nivel de infección <i>in vitro</i> .	% de infección.	%pupas infectadas = (n°pupas infectadas / total pupas) • 100	50%	100%	Abril/2018	Abril/2018	100%

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

Con los HEP seleccionados de las etapas anteriores, se realizaron formulados tipo emulsión inversa (EI) y polvos mojables (WP) que fueron evaluados sobre pupas de *L. botrana* con seda en pulverizadora estática. Como control fue utilizado un producto comercial que contiene HEP y un testigo con solo agua. Los productos formulados como emulsiones inversas alcanzaron porcentajes de eficacia (método de Abbott) de un 100% con *Metarhizium* y 85% con *Beauveria* a los 6 días después de aplicación en la pulverizadora. Los productos formulados como polvos mojables alcanzaron porcentajes de eficacia (Abbott) de un 93% con *Metarhizium* y 100% con *Beauveria* a los 6 días después de aplicación en la pulverizadora. Las formulaciones presentan distintas cualidades, por ejemplo, la estabilidad de los polvos mojables lo hacen un candidato para una etapa comercial, pero la adición de la emulsión inversa en ambientes lluviosos también otorga a esta formulación un potencial importante hacia el su de nuestro país. Por lo tanto, no se descartó una formulación y se consideró evaluar ambas en condiciones de campo y sectores urbanos.

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

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

Anexo 16.1

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
4	2	Control biológico en campo de <i>L. botrana</i> en vides por biopesticidas en base a HEP	% de infección y severidad en huertos urbanos	Hender son-Tilton= $(1-(n \text{ en } C0 \text{ después de tratamiento} \bullet n \text{ en } T \text{ antes de tratamiento})/(n \text{ en control antes de tratamiento} \bullet n \text{ en } T \text{ antes de tratamiento})) \bullet 100$	50%	63.4%	Diciembre/2019	Diciembre/2019	100%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
En promedio de la temporada invernal 2018 y 2019 se alcanza un 63.4% de eficacia en predio urbano, Provincia de Chacabuco, Lampa. Por lo tanto, se cumple el 100% del avance comprometido. <i>L. botrana</i> fue monitoreada desde abril/2018 y los ensayos desarrollados durante el periodo de septiembre-octubre, en donde se aplicaron los plaguicidas microbianos formulados en base a <i>Beauveria</i> y <i>Metarhizium</i> como WP fueron revisados a los 7 días después de aplicados (dda) e incubados placas Petri con humedad para observar la epizootia. En la temporada 2019, la evaluación de los 14 dda no se realizó debido a la crisis social en octubre. En este ensayo <i>Metarhizium</i> alcanzo una eficacia de un 60% post tomada la muestra a los 21 dda. Por otra parte, destaca la eficacia de <i>Metarhizium</i> en comparación a <i>Beauveria</i>, posiblemente debido a las condiciones climáticas en donde <i>Metarhizium</i> presenta mayor actividad al superar los 15°C. Por lo tanto, el indicador fue superado en donde la meta propuesta fue de 50%. Un desafío que surgió en esta etapa fue mejorar las concentraciones de los formulados con el objetivo de reducir su volumen y optimizar el mojamiento. Adicionalmente, se realizó un ensayo en Olmué, Región de Valparaíso, en donde se alcanzo con la técnica de confusión sexual y <i>Beauveria</i> WP un 80% de disminución de las capturas de machos en las trampas de <i>L. botrana</i>.									

Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)
Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

Anexo 16.1

N° OE	N° RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
5	1	Control biológico en campo de <i>L. botrana</i> en vides por biopesticidas en base a <i>HEP B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i>	% de infección y severidad en huertos rurales	$\text{Hender son-Tilton} = \frac{1 - (n \text{ en } C0 \text{ después de tratamiento} \bullet n \text{ en } T \text{ antes de tratamiento}) / (n \text{ en control antes de tratamiento} \bullet n \text{ en } T \text{ antes de tratamiento})}{\bullet 100}$	40%	82.1%	Diciembre/2019	Diciembre/2019	100%

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

En promedio de la temporada invernal 2018 y 2019 se alcanza un 82.1% (*Metarhizium* EI) de eficacia en sector rural, La Pintana (INIA La Platina). En La Pintana, se realizó un ensayo de infestación controlada con pupas en el periodo de abril-junio, donde se aplicaron los plaguicidas microbianos formulados como WP y fueron revisados a los 7, 14 y 21 dda e incubados en placas Petri con humedad para observar la epizootia provocada por los HEP formulados. En este ensayo, los porcentajes de eficacia más altos fueron encontrados a los 21 dda. *Beauveria* emulsión alcanzó una eficacia de 73.3%, *Metarhizium* emulsión alcanzó una eficacia de un 86.7% y el control comercial alcanzó un 26.7%. En paralelo, los resultados de infestación controlada mantuvieron proporción con los resultados de la Región de O'Higgins, sector Placilla, en donde fueron ubicados en un sector de alta infestación en un predio rural, previamente determinado por el SAG durante el periodo de abril-junio, donde se aplicaron los plaguicidas microbianos de *Beauveria* y *Metarhizium* formulados como WP y EI, igual que en La Pintana. Los tratamientos fueron revisados a los 7, 14 y 21 dda e incubados en placas Petri con humedad para observar la epizootia. En este ensayo, *Beauveria* WP alcanzó un 53.49% de eficacia y *Metarhizium* emulsión alcanzó un 80.39%.

Por lo tanto, se cumplió con avance comprometido y el indicador fue superado en donde la meta propuesta fue de 40%.

Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra) Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.
Anexo 16.1

N° OE	N° RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
5	2	Transferir y capacitar en el uso de biopesticidas	Aprendizaje técnico y cultural (porcentaje de contenidos)	Sin evaluaciones de conocimientos	30%	60%	Diciembre/2019	Enero/2020	100%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
Para establecer una base de conocimientos de la plaga y su manejo, se realizaron capacitaciones en terreno con los GTT de las provincias de Chacabuco e Isla de Maipo sobre la identificación y manejo de la plaga. Estas capacitaciones establecieron una línea base que identificó las brechas del reconocimiento de la plaga y sus distintos estadios junto con su control amigable con el medio ambiente y las personas. Estos importantes temas fueron reforzados y evaluados durante el periodo enero/febrero del 2020. Esto debido a que no hubo disponibilidad de los GTT para asistir a INIA o de recibir al equipo del proyecto debido a los riesgos de desplazamiento en la RM producidos por los acontecimientos en octubre/2019, fecha en donde estaba programada inicialmente la actividad final de capacitación. Finalmente, en conocimientos de la biología de la plaga, los agricultores comenzaron con un promedio de 37,5% aumentando a 71,4%, en conocimientos de hongos entomopatógenos comenzaron con un 41,1% alcanzando un 92,9% y en monitoreo partieron con un 40% terminando con un 75,7% superando el indicador considerando un 100% de cumplimiento.									

Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra) Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.
Anexo 16.1

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
5	3	Transferir y capacitar en el uso de biopesticidas	Número de actividades de capacitación y/o difusión	n° actividades del total programada (5)	0	5	Marzo/2020	Abril/2020	100%

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

Durante el periodo de ejecución de esta iniciativa se realizaron dos seminarios abiertos, uno de inicio y un segundo de avance de resultados junto a dos capacitaciones de agricultores. La segunda capacitación programada originalmente para octubre de 2019 fue reprogramada por la crisis social para febrero de 2020 logrando altos porcentajes de adopción de conocimientos por parte de los agricultores. El tercer seminario abierto, de cierre, no pudo realizarse por la pandemia ocasionada por el covid-19. Por esta razón, se solicitó el cambio de esta actividad a FIA por un boletín y difusión a través de un reportaje en donde, en ambos casos, se presentaron los resultados relevantes del proyecto. Debido a que el cambio fue autorizado, se considera que se cumplió con las actividades comprometidas en un 100%.

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

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

Anexo 16.2

6.2 Análisis de brecha.

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

No hay discrepancias entre los resultados programados y obtenidos. Solo se presentó una reprogramación de actividad de capacitación a los GTT producto de la crisis social de octubre/2019 la cual fue realizada en febrero/2020 obteniendo el resultado esperado. Por otra parte, producto de la pandemia del covid-19, se cancelo el seminario de cierre programado para marzo/2020 cuyo objetivo era entregar los principales resultados del proyecto. Previa autorización de FIA, se cambio esta entrega por un boletín INIA N° 419 llamado “Plaguicidas microbianos para el manejo integrado de *Lobesia botrana* en vides”, ficha técnica N° 36 (entomología) titulada “Propuesta de manejo integrado para control de *Lobesia botrana* empleando hongos entomopatógenos y bacterias” y un reportaje del proyecto llamado “Un futuro muy cercano. El desarrollo de un biopesticida en base a hongos entomopatógenos para biocontrol y manejo integrado de *Lobesia botrana*” en la revista MundoAgro cumpliendo con la entrega de la información a la comunidad.

7. CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO

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

Describir cambios y/o problemas	Consecuencias (positivas o negativas), para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos	Ajustes realizados al proyecto para abordar los cambios y/o problemas
Cambio de seminario de cierre debido a pandemia de covid-19 por boletín INIA y artículo/reportaje que entreguen los resultados principales del proyecto.	No tuvo consecuencias positivas o negativas para el objetivo general y/o específico, solo cambio la manera de entregar la información.	Se entregó toda la información del proyecto en un Boletín INIA N° 419 llamado "Plaguicidas microbianos para el manejo integrado de <i>Lobesia botrana</i> en vides", ficha técnica N° 36 (entomología) titulada "Propuesta de manejo integrado para control de <i>Lobesia botrana</i> empleando hongos entomopatógenos y bacterias" y un reportaje del proyecto llamado "Un futuro muy cercano. El desarrollo de un biopesticida en base a hongos entomopatógenos para biocontrol y manejo integrado de <i>Lobesia botrana</i> " en la revista MundoAgro cumpliendo con la entrega de la información a la comunidad. UPP-A-N°605.
Reprogramación de muestreos de ensayos de eficacia debido a crisis social, octubre/2019.	No tuvo consecuencias positivas o negativas para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos, solo retraso en las mediciones.	Se debieron muestrear los puntos con desfases de 7 días aproximadamente en la zona de Lampa, RM y Placilla, R. O'Higgins. Esto no afectó el global de los ensayos.
Reprogramación de actividad de transferencia y capacitación de uso de biopesticidas debido a crisis social, octubre/2019.	No tuvo consecuencias positivas o negativas para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos, solo retraso en la última capacitación y evaluación final de esta para .	Se reprogramaron las actividades de capacitación para enero/febrero 2020.
En la primera evaluación de la temporada invernal se cuantificó la actividad biocontroladora mediante la revisión de esporas de HEP en las	El cambio fue considerado positivo. El criterio de la determinación de la actividad biocontroladora de <i>L. botrana</i> permitió mejorar la sensibilidad del método de evaluación y responder de forma asertiva el objetivo número 4.2 y 5.1 planteados en el proyecto.	El ajuste que se realizó en el proyecto para abordar este cambio fue en el área técnica debido a que se debió implementar coberturas plásticas, mallas antiáfidos en donde se confinaron parras de predios previamente monitoreados por el SAG junto con trampas delta con feromona (E7, Z9-dodecadienil acetato). Estos ajustes permitieron monitorear las

pupas provenientes del tratamiento experimental v/s el control. Considerando que (i) la esporulación de los HEP en la superficie de las pupas forma parte de la última etapa del ciclo del crecimiento del hongo en el insecto, (ii) ocurre posteriormente a la muerte del insecto y (iii) requiere de condiciones de humedad y temperatura idóneas para que se genere la epizootia, Por lo tanto decidimos incorporar la evaluación de captura por trampas de feromonas en los actuales y próximos ensayos para evitar subestimar la eficacia de los biopesticidas. La incorporación consistió en cuantificar de las capturas de polillas de <i>L. botrana</i> en trampas delta con feromona (E7, Z9-dodecadienil acetato) en el tratamiento experimental v/s testigo.		capturas de <i>L. botrana</i> de forma controlada.
Debido a la baja presión de la plaga en las provincias de Maipo y Lampa se decidió realizar ensayos de control de <i>L. botrana</i> con	El cambio fue considerado positivo. El ajuste realizado, permitió extender las evaluaciones a Placilla, región de O'Higgins, contribuyendo este cambio a cumplir con las condiciones (alta presión de la	El ajuste que se realizó en el proyecto para abordar este cambio fue en el área técnica para establecer unidades experimentales en Placilla, Región O'Higgins. UPP-A-N° 2221

los bioplaguicidas de HEP en el sector de Placilla, región de O'Higgins.	plaga) y con el número de ensayo necesarios para desarrollar los objetivos 4.2 y 5.1.	
Con el objetivo de mejorar la validación de los resultados, se solicitó el cambio de extender una temporada invernal más para entregar mayor respaldo a la investigación.	El cambio fue considerado positivo. El aumento de ensayos en el tiempo y ubicaciones geográficas, permitieron robustecer los análisis de este proyecto entregando un mejor producto junto a capacitación a los agricultores.	Los ajustes realizados nos permitieron funcionar técnicamente durante el invierno 2019. UPP-A-N° 2271
Solicitud de cambio. Se solicitó por medio de la carta N° 0211 Dirigida a el Sr. Rodrigo Gallardo, con fecha 22 de Febrero/2017 la reitemización de los dineros inicialmente destinados a la Investigadora Nancy Vitta para la extensión del proyecto para realizar una temporada más de evaluación y difusión en terreno.	El cambio fue considerado positivo. La aceptación de esta reitemización permitió mejorar los alcances del objetivo general del proyecto.	Los ajustes realizados nos permitieron mejorar los alcances del proyecto. UPP-A-N° XXXX
Cambio de RRHH. la investigadora Paulina Sapúlveda por retiro mandatorio deja el proyecto y se incorpora la investigadora Sylvana Soto.	No tuvo consecuencias positivas o negativas para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos. Ambas profesionales del área de fitopatología poseen la misma calidad técnica que permite el normal desarrollo de las actividades comprometidas.	La aceptación de FIA a este cambio esta consignado en la comunicación UPP-A-N° 1484.
Cambio presupuestario por RRHH. La incorporación a INIA de la investigadora Nancy Vitta deja sin efecto el cobro al	Genera un remanente en la planilla de costos de RRHH del proyecto que retrasa la solicitud de las siguientes cuotas.	La notificación del FIA fue confirmada en la UPP-A-N° 2064.

proyecto de sus remuneraciones.		
Cambio presupuestario por RRHH. Por la liberación de los fondos de la investigadora Nancy Vitta, se solicitó el aumento de las remuneraciones de Fabiola Altimira y Nathalia de La Barra.	No fue aceptado el cambio presupuestario. No tuvo consecuencias positivas o negativas para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos	El rechazo del FIA fue comunicado en la UPP-A-N° 2064.
Cambio presupuestario por RRHH. Solicitud de financiamiento para un tesista de pregrado para el proyecto.	El cambio fue considerado positivo para el proyecto.	La aceptación del FIA fue comunicada en la UPP-A-N° 2064.
Cambio presupuestario equipamiento. El cambio se basa en la solicitud de aumento de presupuesto para adquirir una Lupa con sistema de captación digital de características técnicas superiores.	El cambio fue considerado positivo para el proyecto. La primera solicitud fue rechazada y después de una segunda argumentación técnica fue aceptada.	La aceptación del FIA fue comunicada en la UPP-A-N° 2451.
Cambio en el control comercial de ensayo de eficacia debido a la ausencia en el mercado nacional del producto que contiene <i>B. bassiana</i> llamado Naturalis L (N° SAG 1650: Troy Biosciences Incorporated) autorizado para el control de otras Lepidopteras. El producto solo	No tuvo consecuencias positivas o negativas para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos. El cambio fue un control comercial que contiene <i>B. bassiana</i> , <i>M. anisopliae</i> y <i>P. lilacinus</i> .	El ajuste realizado fue el uso del producto comercial en base a HEP en reemplazo del producto Naturalis L.

ingreso de manera experimental, no comercial.		
Cambio en RRHH. Se incluyó la participación de practicantes de pregrado. Una estudiante de Ingeniería en biotecnología y un estudiante de ingeniería en agronomía.	El cambio fue considerado positivo. Los estudiantes resultaron un aporte al proyecto y ellos obtuvieron aprendizaje técnico en temas de I+D del proyecto.	No fue necesario hacer ajustes.

8. ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO

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

Todas las actividades programadas a nivel de laboratorio y terreno y difusión fueron realizadas de acuerdo con la carta Gantt del plan operativo del proyecto y sus modificaciones debido a la contingencias sociales y sanitarias. Las actividades de campo programadas comenzaron con los monitoreos de la plaga en los lugares propuestos en el proyecto, confirmación de su presencia y desarrollo de los ensayos invernales. Las actividades de difusión fueron logradas con reprogramaciones y cambios debido a la pandemia del covid-19.

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

En el desarrollo del proyecto solo hubo una actividad programada y no realizada. Esta actividad fue el seminario de cierre del proyecto calendarizada para marzo/2020 que fue cambiada por difusión a través de un Boletín INIA y un reportaje en una revista de divulgación del sector agropecuario. La razón de la cancelación a este seminario fue la pandemia originada por covid-19 que hasta la fecha de este informe ha generado serios problemas de salud a la población, obligándonos a mantener un distanciamiento social para prevenir la enfermedad, por lo que no fue posible reunir a los convocados en un espacio confinado con riesgo de contagio.

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

No existen brechas entre las actividades programadas y realizadas. Solo hubieron reprogramaciones o cambios de actividades de difusión, las primeras por la contingencia social y la segunda por la pandemia del covid-19.

9. POTENCIAL IMPACTO

9.1 Resultados intermedios y finales del proyecto.

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

Los resultados del proyecto FIA han derivado en distintos productos, tanto en el ámbito de las ciencias aplicadas, extensión y transferencia tecnológica junto al área de negocios tecnológicos a través de la propiedad intelectual. En las ciencias aplicadas se generó una publicación titulada "Potential biological control of the pupal stage of the European grapevine moth *Lobesia botrana* by the entomopathogenic fungus *Beauveria pseudobassiana* in the winter season in Chile" en la revista "BMC Research Note" además de presentaciones en congresos de nacionales e internacionales. Adicionalmente se generó una ficha técnica N° 36 (entomología) titulada "Propuesta de manejo integrado para control de *Lobesia botrana* empleando hongos entomopatógenos y bacterias" y el boletín INIA N° 419 llamado "Plaguicidas microbianos para el manejo integrado de *Lobesia botrana* en vides". En la extensión y transferencia tecnológica se capacitó y entregó conocimiento sobre manejo integrado de plagas y bioplaguicidas a los agricultores participantes del proyecto, superando el 60% de adopción de conocimientos en las temáticas. Finalmente se generaron dos HEP formulados como polvos mojables y emulsiones inversas candidatos como biopesticidas para control y/o manejo integrado sobre pupas de *L. botrana* en diapausa invernal en vides. Estos resultados derivaron en una solicitud de patente nacional (INAPI 201802396) en donde se protegió la formulación de los HEP seleccionados y sus aplicaciones sobre pupas de *L. botrana* en vides. Esta propiedad intelectual despertó interés entre las empresas de bioinsumos en donde se están estableciendo las relaciones comerciales para el licenciamiento de los productos (Anexo 16.3). Finalmente, un ejemplo del impacto de este producto en el system approach de vides de uva de mesa es de 7.500 ha ubicadas entre las regiones de Atacama y Metropolitana pudiendo alcanzar las 47.834 ha a nivel nacional en planes de manejo integrado.

10. CAMBIOS EN EL ENTORNO

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

2020

Debido a la pandemia provocada por covid-19, no se realizó el seminario de cierre del proyecto programado para el 19 de marzo/2020, actividad que fue suplida con otras alternativas de difusión como boletín, fichas técnicas y reportajes. El cambio generado por el necesario distanciamiento social y cuarentenas nos plantea la necesidad de generar acceso y capacitar a los agricultores en plataformas virtuales de enseñanza para mejorar la brecha tecnológica y mantener los programas

de apoyo a los pequeños y medianos productores que además, bordean o superan los sesenta años de edad.

2019

El 18 de octubre de 2019 ocurrió el estallido social que generó diversas movilizaciones y protestas en las cuales se cerraron accesos a comunas, regiones y cortes de carreteras. Estas situaciones alteraron los programas de trabajo establecidos previamente al no poder desplazarse normalmente los equipos de trabajo sumado a poner en riesgo la integridad física de los trabajadores del proyecto. Por lo tanto, en la región de Valparaíso no se logró realizar la aplicación de *B. thuringiensis* en los sectores urbanos de Olmué complementando la estrategia de control invernal. En estos sectores se estimó la aplicación para la semana del 21 de octubre base a monitoreo y estado fenológico de las vides en el sector urbano. Esta estimación fue concordante con el anuncio de alerta del SAG que dio inicio a las aplicaciones de productos químicos entre el 4 y 14 de octubre en sectores rurales con predios productivos de uva. Además, las actividades de Transferencia Tecnológica se vieron afectadas por el mismo motivo en donde los grupos GTT no presentaron disponibilidad para asistir a INIA o de recibir al equipo del proyecto, tanto por las dificultades de desplazamiento y los riesgos que estos representaban. Finalmente, estas actividades fueron programadas para enero/febrero 2020 según la disponibilidad de los agricultores.

2018

En el ámbito normativo, el miércoles 26 de diciembre/2018 se publicó en el diario oficial la resolución núm. 9.074 exenta que establece condiciones y requisitos para autorizar la comercialización de plaguicidas microbianos. Esta resolución define el término de plaguicida microbiano y determina la información requerida del microorganismo y de su formulación para su registro, tales como (i) identificación taxonómica, (ii) métodos de producción y (iii) control de calidad, (iv) contenido del microorganismo, (v) propiedades biológicas y empleo, (vi) información respecto a la seguridad, (vii) efectos sobre la salud humana, (viii) destino y comportamiento en el medio ambiente junto con información técnica de la formulación (características físicoquímicas). Los ítems i, ii, iii y iv, forman parte de las actividades del proyecto por lo que no afectarían el desarrollo de este y con respecto a los ítems v, vi, vii y viii se tiene la información requerida a través de artículos científicos indexados, que son un sustento aprobado por la resolución. En relación al mercado global, este está en continuo crecimiento, se pronostica que para el año 2024 el mercado alcanzará los USD 720.88 millones, lo que demuestra la importancia de los plaguicidas microbianos en la actualidad¹.

¹ <https://www.prnewswire.com/news-releases/global-microbial-pesticides-market---growth-trends-and-forecasts-2017-2022-300521054.html>

11. DIFUSIÓN

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

	Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes	Documentación Generada
1	11-08-17	Prodesal Isla de Maipo	Socialización proyecto agricultores en Prodesal Isla de Maipo	17	Lista de Asistencia

2	08-09-17	Salón Parroquial, Isla de Maipo	Seminario Lanzamiento Proyecto	37	Lista de Asistencia
3	13-10-17	Viña Tarapacá, Isla de Maipo	Socialización proyecto Viña Tarapacá	5	Acta Reunión
4	13-10-17	Viña Santa Ema, Isla de Maipo	Socialización proyecto Viña Santa Ema, Isla de Maipo	6	Acta Reunión
5	13-10-17	viña Las Mercedes, Isla de Maipo	Socialización proyecto Viña Las Mercedes, Isla de Maipo	4	Acta Reunión
6	18-10-17	Viña Chateau Potrero Seco, Talagante	Socialización proyecto Viña Chateau Potrero Seco, Talagante	3	Acta Reunión
7	08-11-17	Exportadora Quintay, Vitacura	Socialización proyecto Exportadora Quintay	3	Acta Reunión
8	24-01-18	GTT Lampa	Socialización Proyecto Grupo Agricultores Lampa	10	Lista de Asistencia
9	11-12-18	INIA, La Platina	Taller “resultados obtenidos hasta la fecha en control invernal de la plaga Lobesia botrana”	11	Lista Asistencia
10	13-12-18	Manuel Rodríguez 329, Lampa	Taller “resultados obtenidos hasta la fecha en control invernal de la plaga Lobesia botrana”	12	Lista Asistencia
11	23-04-19	Hotel Diego de Velázquez	II Seminario de avances en investigación.	104	Lista de asistencia
12	28-01-20	INIA La Platina	Taller “Biocontrol de <i>Lobesia botrana</i> : Uso de herramientas amigables con el medio ambiente y las personas	16	Lista Asistencia
Total participantes				228	

12. PRODUCTORES PARTICIPANTES

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

12.1 Antecedentes globales de participación de productores

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

Región	Tipo productor	N° de mujeres	N° de hombres	Etnia (Si corresponde, indicar el N° de productores por etnia)	Totales
Metropolitana	Productores pequeños	17	15		32
	Productores medianos-grandes		1		1
O'Higgins	Productores pequeños		1		1
	Productores medianos-grandes				
Totales		17	17		

12.2 Antecedentes específicos de participación de productores

Nombre	Ubicación Predio			Superficie Há.	Fecha ingreso al proyecto
	Región	Comuna	Dirección Postal		
Jorge Guerra	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Juan Gallardo	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Mario Calderón	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Mariana Espinoza	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Beatriz Espinoza	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Margarita Fernández	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Rafael Cifuentes	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Adolfo Morales	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Elba Farias	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
María Ramírez	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17

Soledad Salas	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Norma Navarro	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Julio Romero	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Humberto Adrián	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Luigi Rampoldi	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Bernarda Bravo	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Sebastián Vega	RM	Isla de Maipo		-	11-08-17
Marcelo Castro	RM	Lampa		6	24-01-18
Josefina Guzmán	RM	Lampa		0.25	24-01-18
Cecilia Urra	RM	Lampa		5	24-01-18
Oscar Guiffen	RM	Lampa		5	24-01-18
Ricardo Solari	RM	Lampa		0.5	24-01-18
Claudia Espinoza	RM	Lampa		0.4	24-01-18
Washington Rubio	RM	Lampa		0.2	24-01-18
Miguel Quiñones	RM	Lampa		1	24-01-18
Beatriz Negrete	RM	Lampa		0.5	24-01-18
Juan González	RM	Lampa		0.5	24-01-18
Fresia Faune	RM	Lampa		0.2	24-01-18
Francisco Gálvez	RM	Lampa		0.2	24-01-18
Cecilia Ramírez	RM	Lampa		0.1	24-01-18
Angelina Álvarez	RM	Lampa		0.2	24-01-18
Elena Ibarra	RM	Lampa		0.2	24-01-18
Andrea Rubio	RM	Lampa		0.25	24-01-18

13. CONSIDERACIONES GENERALES

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

Si, los resultados cumplen a cabalidad con los objetivos específicos y general.

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

El funcionamiento del equipo técnico fue cohesionado y participativo, por lo tanto, contribuyo al desafío y desarrollo de este proyecto.

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

La innovación más importante fue el control invernal de la plaga utilizando biopesticidas en base a HEP nativos. En este período de tiempo invernal la plaga en estado de pupa se encuentra en diapausa, no presenta actividad y además, no hay aplicaciones de productos químicos para control de *L. botrana* en este espacio temporal, generando la oportunidad de innovar desarrollando mecanismos de control eco-amigables donde no hay empresas o investigaciones haciendolo.

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

No hay otros aspectos para informar.

14. CONCLUSIONES

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

Desde un punto de vista desde el control de *Lobesia botrana*, podemos presentar las siguientes conclusiones:

Los HEP formulados presentaron mayor eficacia que los sin formular. Por lo tanto, podemos concluir que la formulación cumple un rol clave en la eficacia del HEP, potenciando el uso de ellos en campo, expuestos a las condiciones naturales tales como las temporadas invernales.

De acuerdo con las observaciones de campo en los monitoreos de la plaga en distintos periodos del año y distintas localidades de las regiones en donde fueron evaluados estos productos, se concluyó que para mejorar la eficacia de los plaguicidas microbianos se debía realizar las aplicaciones de estos productos entre abril-mayo, debido a que el capullo de *L. botrana* es menos denso y las temperaturas no son extremadamente bajas, favoreciendo la actividad de los HEP para el control de la plaga. Esto se refleja en que las eficacias tuvieron aumentos cercanos a un 20% en comparación a aplicaciones posteriores a julio.

Las capturas de polillas a través de trampas con feromonas es una técnica que permite una fácil evaluación indirecta del efecto de los plaguicidas microbianos en base a HEP, complementando los resultados obtenidos en las evaluaciones de eficacia. Por lo tanto, esta técnica es recomendable para monitorear a futuro este tipo de trabajos.

La capacitación de los agricultores en monitoreo, biología y manejo integrado de la plaga es clave para el éxito del uso de bioplaguicidas debido a que comprenden el momento en donde pueden utilizar esta y otras herramientas complementarias.

La fuerte presencia de esta plaga en sectores urbanos de nuestro país por la tradición cultural de mantener parras en nuestros jardines propicia el albergue de la plaga en los hogares. Esto plantea la importancia de realizar control urbano de la plaga para que este no sea foco de reinfestación a los predios productivos colindantes. Por lo tanto, el control urbano es clave para el control predial y necesita ser acompañado de medidas culturales y de manejo integrado de plagas.

El manejo integrado de plagas es una alternativa tanto para sectores urbanos como predios productivos que alcanza porcentajes de control considerables como los mostrados en este proyecto. Nuestra propuesta, se puede adaptar a sectores urbanos utilizando sólo plaguicidas microbianos y enemigos naturales, evitando el uso de productos químicos en sectores donde no existe el conocimiento del manejo de estos o que simplemente no es una opción su uso, por los tiempos de reingreso, carencias o toxicidades entre otros.

Todo este trabajo fue desarrollado en sectores bajo confusión sexual y/o monitoreo del PNLb del SAG. Además, los resultados de las tres regiones en donde se evaluó en una o dos temporadas las aplicaciones de los plaguicidas microbianos en base a HEP, nos llevan a plantearnos preguntas sobre cómo mejorar los plaguicidas y su interacción con las feromonas. Por lo tanto, es una línea de investigación que se debe seguir desarrollando en el país, especialmente con el desplazamiento de los cultivos hacia al sur, producto del cambio climático y que puede ser una oportunidad de agricultura sustentable.

Por los antecedentes mencionados, el desarrollo e implementación de este proyecto se basa en la colaboración integrativa de distintas disciplinas presentes en INIA, como Biotecnología, Entomología y Transferencia Tecnológica que, junto con al apoyo y experiencia del PNLb de SAG y soporte constante de FIA, generaron un factor determinante para el éxito en el biocontrol de *Lobesia botrana* en este proyecto. Ese factor fue la cooperación.

15. RECOMENDACIONES

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

En las reuniones con pequeños, medianos y grandes agricultores de uva de mesa y para vinificación junto a investigadores del área, se mantiene la necesidad de un estudio de interacción en campo de vid, plaga y HEP para mejorar la comprensión del modo de acción y sus efectos en las bayas y sus finales consumidores. Otro tema recurrente es la necesidad de la incorporación de estas tecnologías al System Approach de vides y arándanos para las producciones de exportación. Finalmente, es importante incorporar estos productos y estrategias de control en el control urbano de la plaga, debido a que en estos sectores se encuentran los principales focos de reinfestación de los predios productivos.

16. ANEXOS

16.1 ANEXO RESULTADOS.

OE1. Evaluar *in vitro* de aislados de hongos entomopatógenos de *Beauveria sp.* y *Metarhizium sp.* contra *Lobesia botrana*.

Para determinar la capacidad de infectividad de los aislados, sin formular, se realizaron infecciones sobre pupas de *L. botrana* de cada HEP. Todos los hongos utilizados tuvieron la capacidad de infectar en distintos porcentajes las pupas e incluso las severidades fueron equivalentes a la infección debido a que son pruebas de laboratorio, además, todos los hongos se mantuvieron viables durante la experimentación. A través de la metodología presentada en la Figura 1, se seleccionaron los tres mejores HEP para las siguientes etapas.

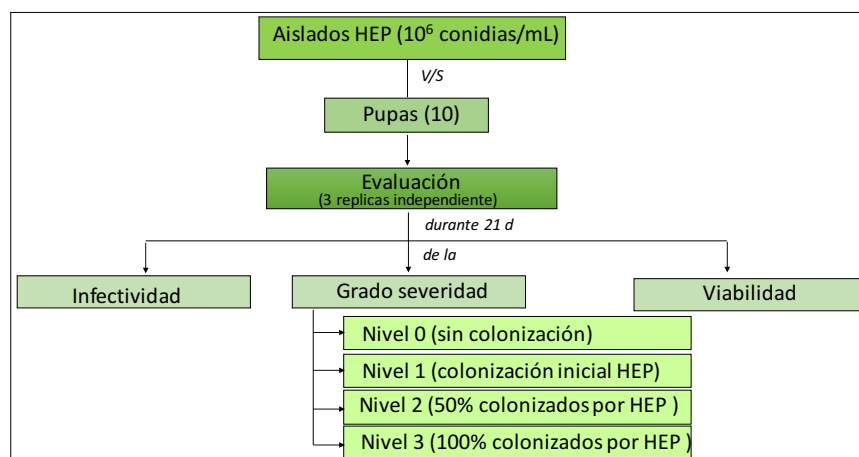


Figura 1. Metodología de evaluación *in vitro* de HEP sobre pupas de *L. botrana*. Todos los aislados de *Beauveria* y *Metarhizium* fueron evaluados según el diagrama de flujo presentado en la figura.

La Figura 2 presenta los resultados de infección de los distintos aislados de *Metarhizium* a los 7 dpi (días post aplicación), 14 dpi y 21 dpi. Al observar por períodos, se aprecia una homogeneidad en cada segmento de tiempo sin diferencia estadística significativa entre períodos y aislados, en donde solo se pueden observar tendencias de porcentajes superiores de infección. Por lo tanto, dentro del primer período de tiempo, se seleccionaron los tres aislados que superaron el 40% de infección en 7 dpi siendo los aislados M8, M4 y M2 los que pasaron a las siguientes etapas. Para el caso de *Beauveria*, la Figura 3 también presentó homogeneidad entre los aislados en cada período sin presentar diferencias estadísticas significativas por lo que se seleccionó los que superaron el 40% de infección en un período de 7 dpi siendo los aislados B4, B6 y B1 los seleccionados para las siguientes etapas.

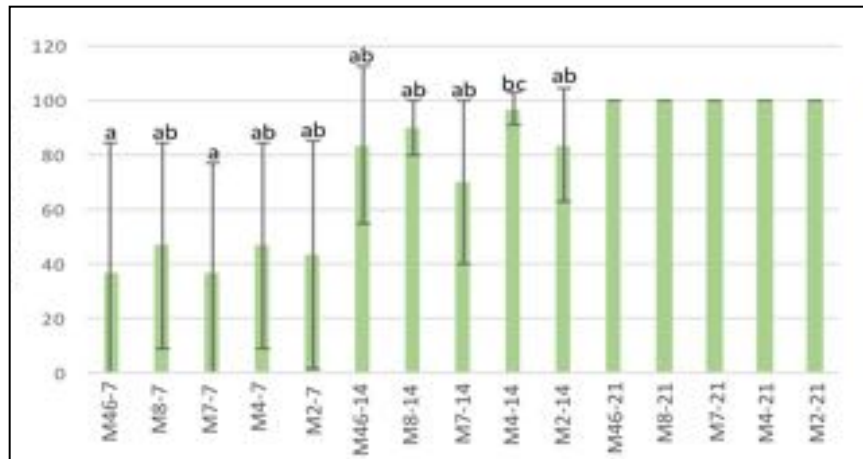


Figura 2. Porcentaje de infección de los aislados de *Metarhizium* sin formular sobre pupas de *L. botrana*. Las barras representan el valor promedio, los bigotes las desviaciones estándar y las letras el test LSD ($\alpha=0,05$).

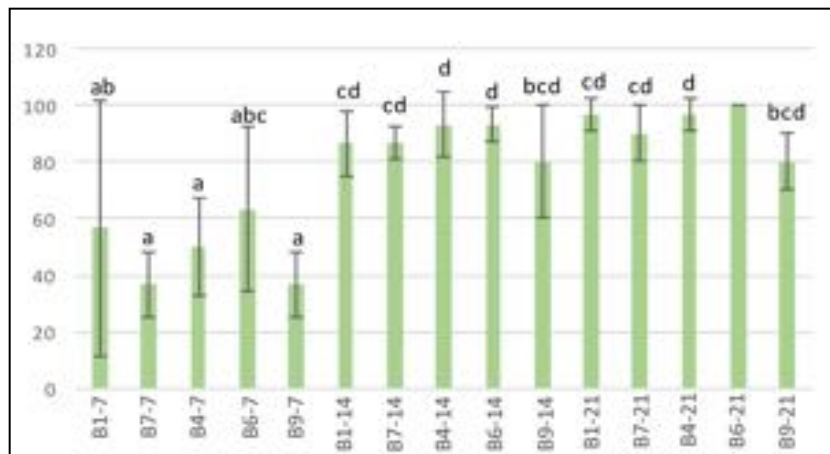


Figura 3. Porcentaje de infección de los aislados de *Beauveria* sin formular sobre pupas de *L. botrana*. Las barras representan el valor promedio, los bigotes las desviaciones estándar y las letras el test LSD ($\alpha=0,05$).

OE2. Realizar el escalado productivo en fermentación líquida de aislados de *Beauveria sp.* y *Metarhizium sp.*

Con los tres HEP de *Metarhizium* y *Beauveria* seleccionados de la etapa anterior se realizaron cinéticas de crecimiento determinando su velocidad específica de crecimiento (μ [d^{-1}]) en matraces de acuerdo con cada medio de cultivo diseñado, obteniendo el mejor medio, productividad volumétrica (Q_x [$g/(mL \cdot d)$]) y concentración final de biomasa (X [g/mL]) de acuerdo con el esquema metodológico de la Figura 4.

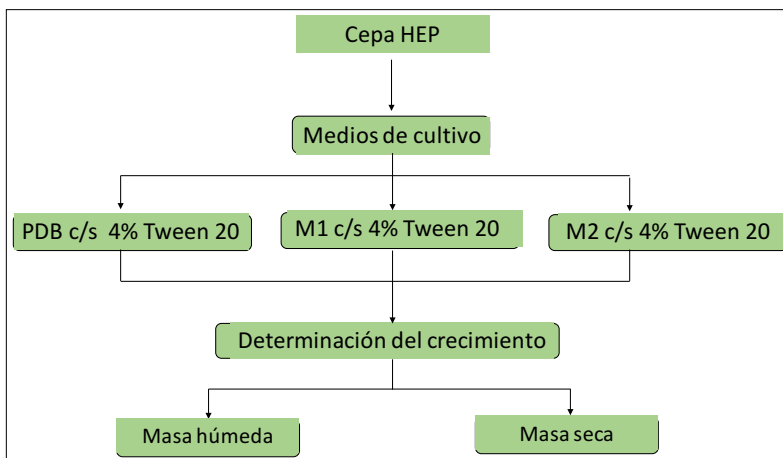


Figura 4. Metodología de evaluación de medios de cultivo y cinéticas de crecimiento. El diagrama metodológico describe los distintos medios de cultivo PDB (200 g/L de Papa; 20 g/L de Glucosa), M1 (Bajo protección intelectual) y M2 (bajo protección intelectual). c/s (con y sin) 4% de Tween 20 (Sigma®).

Las cepas de *Metarhizium sp.* M2, M4 y M8 concluyeron su evaluación de productividad en los medios PDB, M1 y M2 con sus variantes con y sin Tween 20. Para los efectos de cálculo de cinéticas se utilizó la biomasa húmeda y la seca como medida de control. Además, la determinación de la velocidad específica de crecimiento se realizó con la regresión lineal del logaritmo de la fase exponencial de la cinética de biomasa húmeda.

La Figura 5 presenta la cinética de crecimiento de la cepa M2 en donde el medio que generó la mayor productividad volumétrica fue M2T con 0.024 g/(mL•d) y una concentración de 0.17 g/mL con una concentración de 3.0×10^6 UFC/mL (Figura 6).

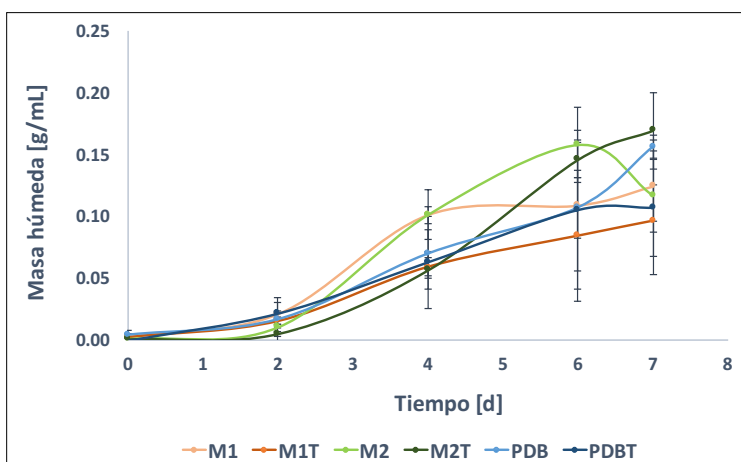


Figura 5. Cinética de crecimiento de cepa M2. Las curvas de crecimiento representan el comportamiento del aislado con respecto a los distintos medios descritos en la Figura 4 de la metodología. T: Tween 20. Los bigotes corresponden a la desviación estándar.

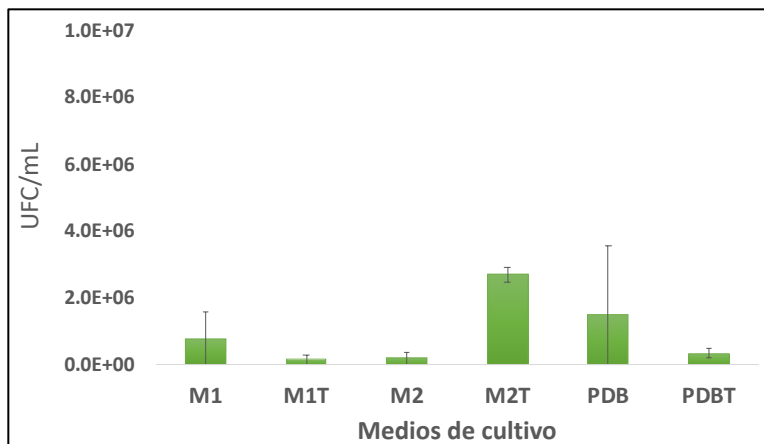


Figura 6. Recuento de UFC/mL de la cepa M2. La gráfica presenta los conteos de UFC/mL obtenidos de cada medio de cultivo. Los bigotes corresponden a la desviación estándar.

La Figura 7 presenta la cinética de crecimiento de la cepa M4 en donde el medio que generó la mayor productividad volumétrica fue PDBT con 0.024 g/(mL*d) y una concentración de 0.17 g/mL con una concentración de 1.0×10^6 UFC/mL (Figura 8), pero los recuentos con mayor concentración fueron en el medio M2 con 5.8×10^6 UFC/mL.

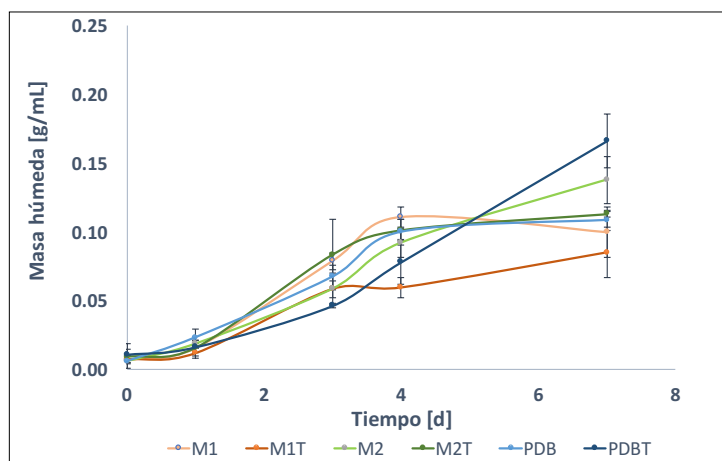


Figura 7. Cinética de crecimiento de la cepa M4. Las curvas de crecimiento representan el comportamiento del aislado con respecto a los distintos medios descritos en la Figura 4 de la metodología. T: Tween 20. Los bigotes corresponden a la desviación estándar.

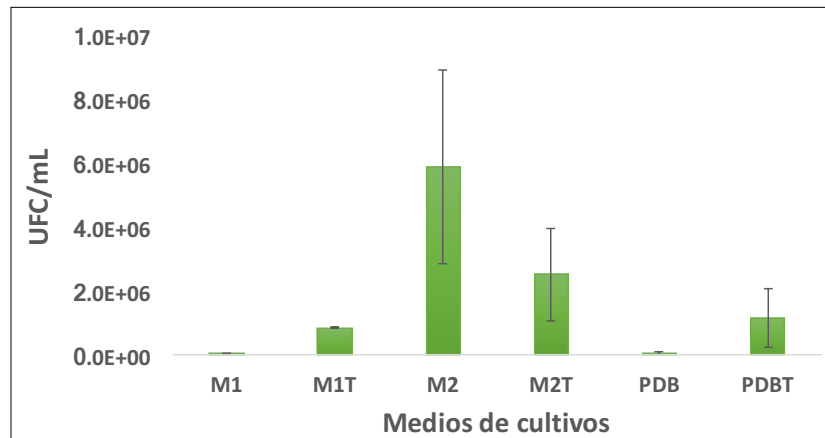


Figura 8. Recuento de UFC/mL de la cepa M4. La gráfica presenta los conteos de UFC/mL obtenidos de cada medio de cultivo. Los bigotes corresponden a la desviación estándar.

La Figura 9 presenta la cinética de crecimiento de la cepa M8 en donde el medio que generó la mayor productividad volumétrica fue M2T con 0.028 g/(mL•d) y una concentración de 0.2 g/mL con una concentración de 5.0×10^6 UFC/mL (Figura 10).

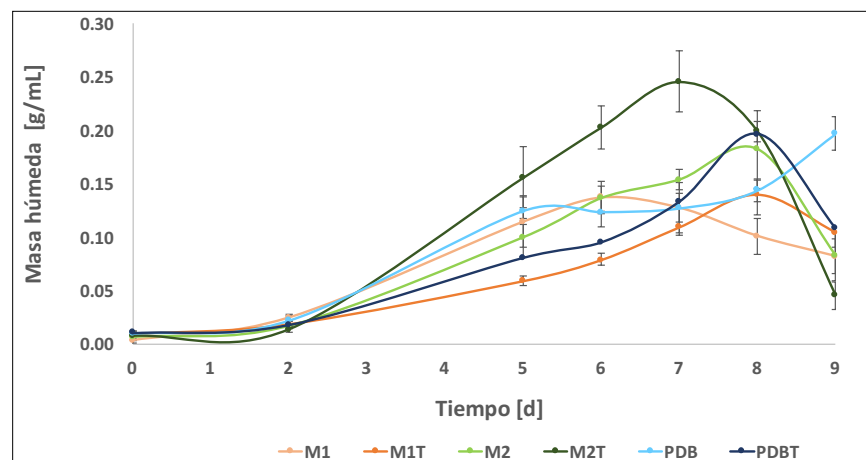


Figura 9. Cinética de crecimiento de la cepa M8. Las curvas de crecimiento representan el comportamiento del aislado con respecto a los distintos medios descritos en la Figura 4 de la metodología. T: Tween 20. Los bigotes corresponden a la desviación estándar.

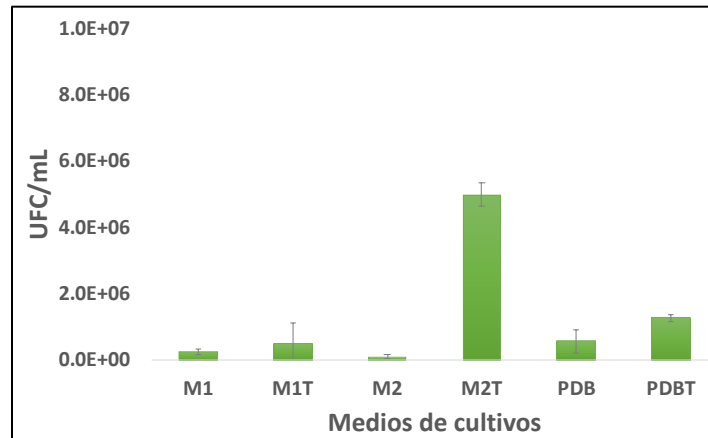


Figura 10. Recuento de UFC/MI de la cepa M8. La gráfica presenta los conteos de UFC/mL obtenidos de cada medio de cultivo. Los bigotes corresponden a la desviación estándar.

Los medios de base M2 fueron los que obtuvieron mayor formación de UFC/mL en los tres aislados. Por otra parte, el caso de la cepa M4 fue el único que obtuvo mayor producción en el medio PDBT, pero no coincidió con las UFC/mL que fueron en el medio M2. Por otra parte, el medio M2T, con adición de 4% de Tween 20, fue el que obtuvo mayor concentración de biomasa tanto en productividad volumétrica con concentración y coincidió con las UFC/mL en el caso de las cepas M2 y M8, por lo tanto, es el medio de cultivo candidato para el escalado en biorreactor.

Finalmente, la Tabla 1 muestra las velocidades específicas de crecimiento de acuerdo con los aislados y medios de cultivos utilizados en la experimentación. Los medios en base M2 muestran el mayor μ , por lo tanto, a través de esta determinación, se confirma que es el medio candidato para el escalado en biorreactor.

Velocidad de crecimiento (μ [d ⁻¹])						
Cepa	M1	M1T	M2	M2T	PDB	PDBT
672	0,381	0,164	0,697	0,700	0,448	0,329
674	0,380	0,357	0,408	0,386	0,165	0,384
678	0,538	0,342	0,515	0,547	0,436	0,376

Tabla 1. Velocidades de crecimiento. Tabla de velocidades específicas de crecimiento con respecto a los aislados y medios de cultivo.

Las cepas de *Beauveria* B1, B4, B6 concluyeron su evaluación de productividad en los medios PDB, M1 y M2 con sus variantes con o sin Tween 20. Para los efectos de cálculo de cinéticas se utilizó la biomasa húmeda y la seca como medida de control. Además, la determinación de la velocidad específica de crecimiento se realizó con la regresión lineal del logaritmo de la fase exponencial de la cinética de biomasa húmeda.

La Figura 11 presenta la cinética de crecimiento de la cepa B1 en donde el medio que generó la mayor productividad volumétrica fue M2 con 0.032 g/(mL•d), una concentración de 0.1 g/mL y 2.1×10^6 UFC/mL pero los recuentos con mayor concentración fueron en el medio PDB con 4.5×10^7 UFC/mL (Figura 12).

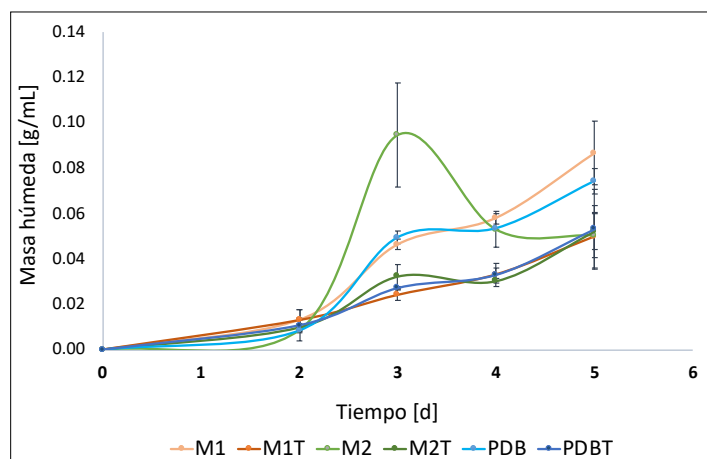


Figura 11. Curva de crecimiento de la cepa B1. Las curvas de crecimiento representan el comportamiento del aislado con respecto a los distintos medios descritos en la Figura 4 de la metodología. T: Tween 20. Los bigotes corresponden a la desviación estándar.

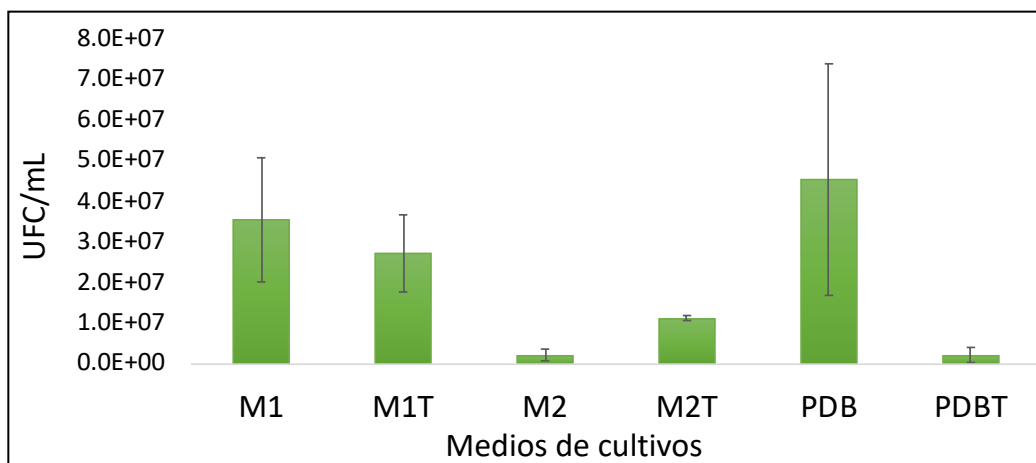


Figura 12. Recuento de UFC/mL de la cepa B1. La gráfica presenta los conteos de UFC/mL obtenidos de cada medio de cultivo. Los bigotes corresponden a la desviación estándar.

La Figura 13 presenta la cinética de crecimiento de la cepa B4 en donde el medio que generó la mayor productividad volumétrica fue M2 con 0.032 g/(mL•d), una concentración de 0.19 g/mL y 1.6×10^6 UFC/mL, pero los recuentos con mayor concentración fueron en el medio M1T con 1.2×10^7 UFC/mL (Figura 14).

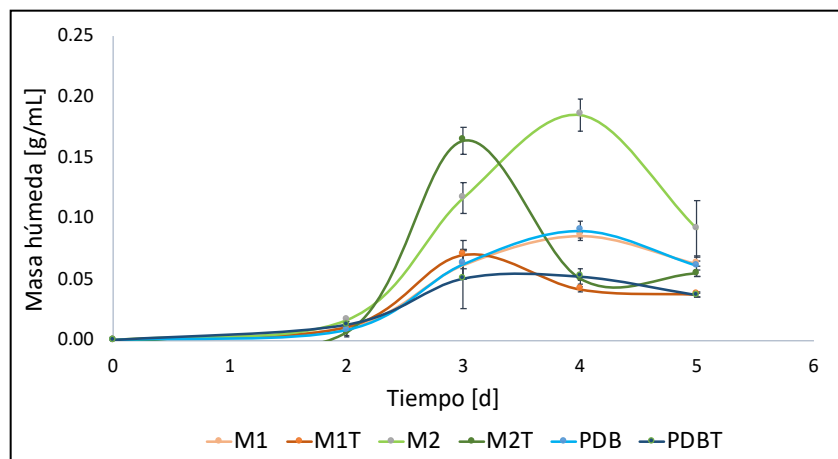


Figura 13. Curva de crecimiento de la cepa B4. Las curvas de crecimiento representan el comportamiento del aislado con respecto a los distintos medios descritos en la Figura 4 de la metodología. T: Tween 20. Los bigotes corresponden a la desviación estándar.

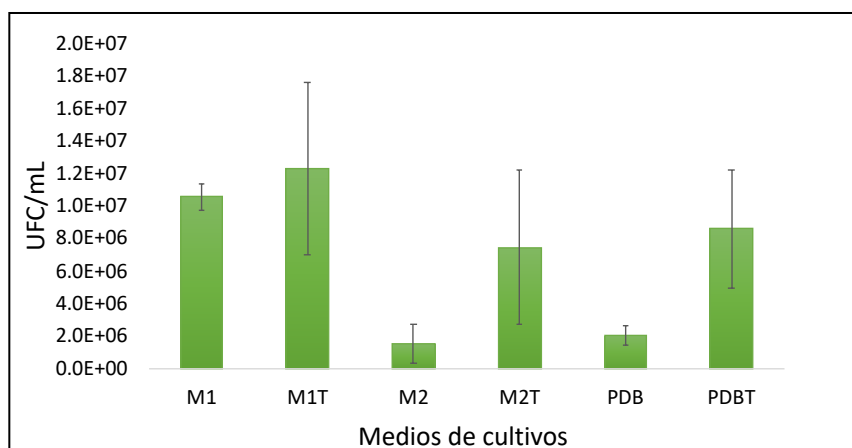


Figura 14. Recuento de UFC/mL de la cepa B4. La gráfica presenta los conteos de UFC/mL obtenidos de cada medio de cultivo. Los bigotes corresponden a la desviación estándar.

La Figura 15 presenta la cinética de crecimiento de la cepa B6 en donde el medio que generó la mayor productividad volumétrica fue M2 con 0.044 g/(mL•d), una concentración de 0.13 g/mL y 6.1×10^6 UFC/mL, pero los recuentos con mayor concentración fueron en el medio PDB con 1.8×10^7 UFC/mL (Figura 16).

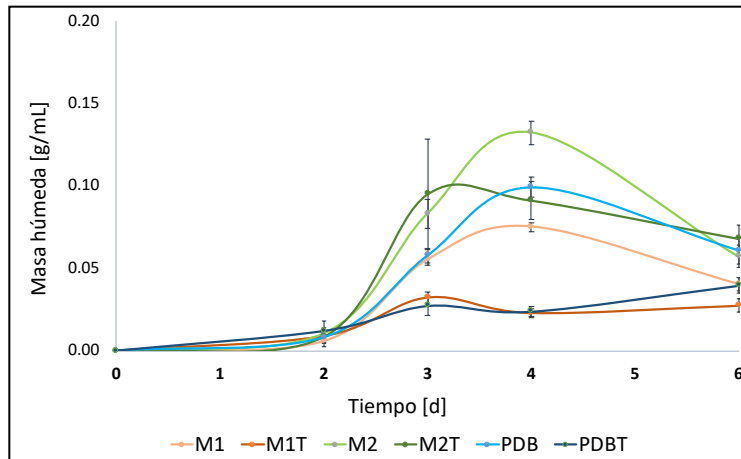


Figura 15. Curva de crecimiento de la cepa B6. Las curvas de crecimiento representan el comportamiento del aislado con respecto a los distintos medios descritos en la Figura 4 de la metodología. T: Tween 20. Los bigotes corresponden a la desviación estándar.

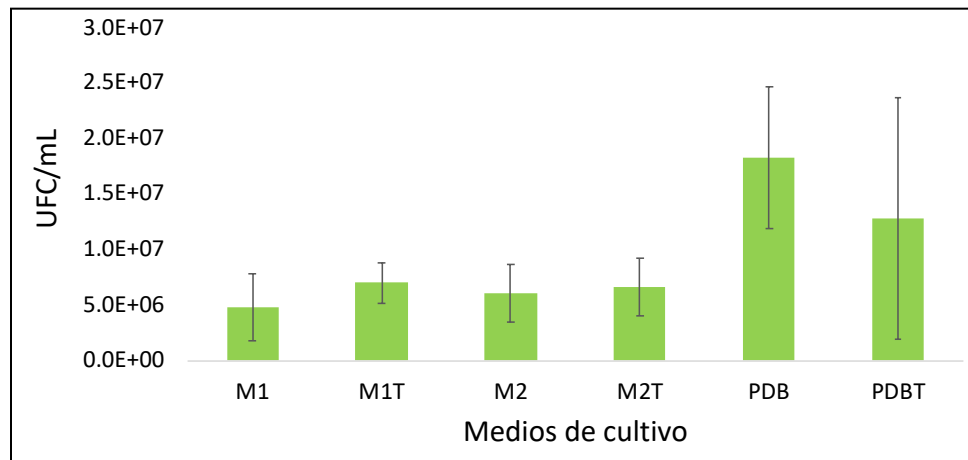


Figura 16. Recuento de UFC/mL de la cepa B6. La gráfica presenta los conteos de UFC/mL obtenidos de cada medio de cultivo. Los bigotes corresponden a la desviación estándar.

Finalmente, la Tabla 2 muestra las velocidades específicas de crecimiento de acuerdo con los aislados y medios de cultivos utilizados en la experimentación. Los medios en base M2 mostraron el mayor μ .

Velocidad de crecimiento (μ [d ⁻¹])						
Cepa	M1	M1T	M2	M2T	PDB	PDBT
B1	0,48 ± 0,02	0,40 ± 0,10	2,30 ± 0,30	1,00 ± 0,30	1,90 ± 0,50	0,53 ± 0,02
B4	1,20 ± 0,50	1,80 ± 0,30	2,00 ± 0,10	3,40 ± 0,60	2,20 ± 0,70	0,71 ± 0,10
B6	2,27 ± 0,06	1,29 ± 0,07	2,07 ± 0,07	2,50 ± 0,60	2,00 ± 1,00	0,90 ± 0,20

Tabla 2. Velocidades de crecimiento. Tabla de velocidades específicas de crecimiento con respecto a los aislados y medios de cultivo. Promedio ± desviación estándar.

Los medios en base M2 fueron los que obtuvieron mayor producción de biomasa y velocidades específicas de crecimiento, pero las mayores concentraciones de UFC estuvieron en los medios en base M1 y PDB por sobre un orden de magnitud. Por lo tanto, al poseer el medio M2 dos condiciones de tres, se seleccionó éste para candidato de escalado en biorreactor para las cepas de *Beauveria*.

Para alcanzar una alta productividad y concentración en los medios líquidos se fermentó en el medio M2, seleccionado de las etapas anteriores, las cepas con mayor velocidad específica de crecimiento, concentración y Q_x productividad volumétrica. Estas fueron las cepas M8 y B4.

La Figura 17 muestra la cinética de crecimiento de las cepas candidatas M8 y B4 en donde *Beauveria* alcanzó los $X = 200$ g/L con una $Q_x = 51,2$ g/(L*d) en las condiciones propuestas de escalado de: 1 vvm con una DO fijada en 50% en dependencia de las rpm desde 200 a 800, con pH: 5.5, temperatura de 25°C. La cepa de *Metarhizium*, que obtuvo 41,9 g/L con una $Q_x = 7,9$ g/(L*d) necesitará optimización adicional para mejorar sus valores de X y Q_x . De todas maneras, se encontró un hongo entomopatógeno candidato para producción masiva (cepa B4). La Tabla 3 muestra las viabilidades al punto de cosecha de ambas cepas con un valor de $1,9E+06$ UFC/mL equivalente a $1,9E+09$ UFC/L, considerado adecuado para formular.

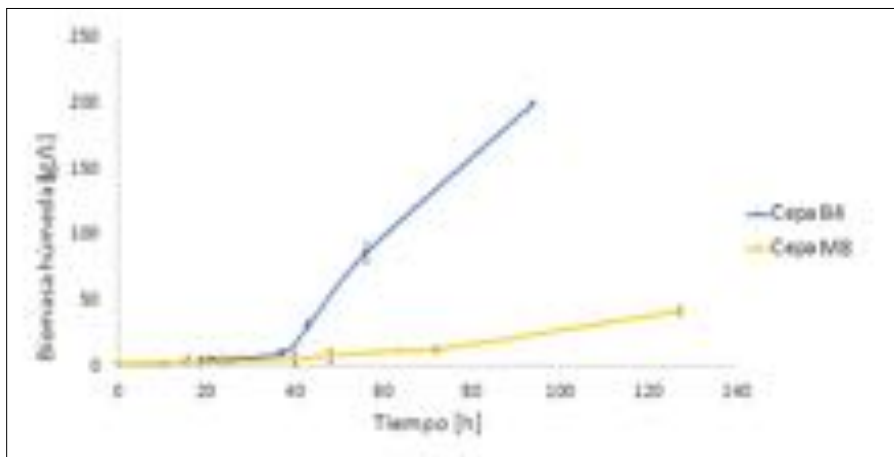


Figura 17. Cinética de crecimiento de las cepas M8 y B4. La cinética de cada HEP está en base al medio M2 y cada punto está con su desviación estándar.

Viabilidad (UFC/mL)	
Cepa B4	Cepa M8
1,9E+06 ± 4,4E+05	9,27E+05 ± 6,29E+05

Tabla 3. Viabilidad al punto de cosecha en UFC/mL. La tabla muestra los puntos de viabilidad al momento de cosecha de las dos cepas candidatas en el biorreactor. Los valores son los promedios ± las desviaciones estándar.

OE3. Desarrollar formulaciones de biopesticida eco-amigable con el medio ambiente y su evaluación *in vitro*.

Resultados de laboratorio, pulverizadora estática:

Los resultados de la eficacia *in vitro* sobre pupa de los tratamientos con cepas del género *Metarhizium* se presenta en la Figura 18. Luego de los 6 días después de aplicado (dda), los tratamientos M8F2 y M4F2 (ambos con fuente de energía adicional) alcanzaron el 100% de eficacia sobre pupas. De las etapas anteriores, M8, componente activo de M8F2, fue el que logro las más altas velocidades específicas de crecimiento, X y Q_x, por lo tanto, fue el aislado candidato de *Metarhizium* para producción del biopesticida en ensayos de campo.

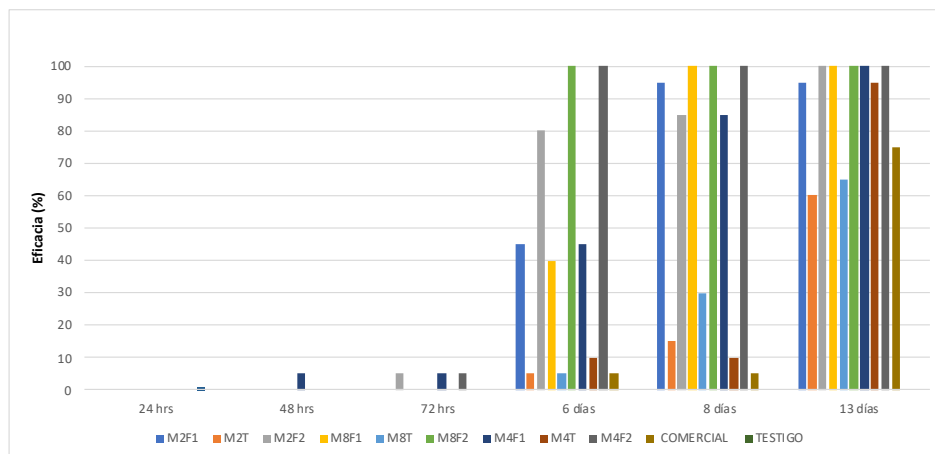


Figura 18. Eficacia de emulsiones inversas de *Metarhizium* sobre pupas de *L. botrana* determinada por el método de Abbott. Cepa M2 tampón (M2T), cepa M2 formulado sin fuente de energía adicional (M2F1), cepa M2 formulado con fuente de energía adicional (MF2), cepa M4 tampón (M4T), cepa M4 formulado sin fuente de energía adicional (M4F1), cepa M4 formulado con fuente de energía adicional (M4F2), cepa M8 tampón (M8T), cepa M8 formulado sin fuente de energía adicional (M8F1), cepa M8 formulado con fuente de energía adicional (M8F2), control comercial en base a HEP (comercial) y agua (testigo).

En la Figura 19 se presenta la eficacia *in vitro* de los tratamientos emulsiones inversas de *Beauveria*. A los 6dda los tratamientos B4F1 y B1F2, sin y con fuente de energía adicional respectivamente, alcanzaron el 85% de eficacia sobre pupas. De las etapas anteriores, B4, componente activo de B4F1, fue el que logro las más altas velocidades específicas de crecimiento, X y Q_x, por lo tanto, fue el aislado candidato de *Beauveria* para producción del biopesticida en ensayos de campo.

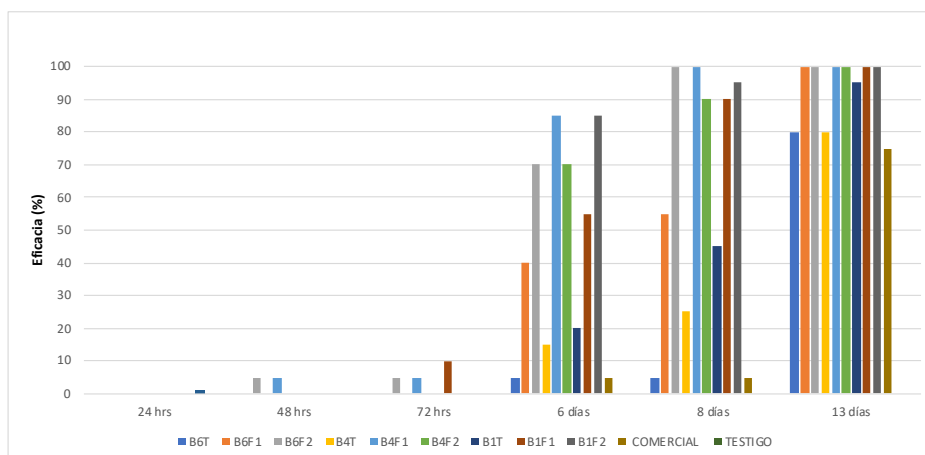


Figura 19. Eficacia de emulsiones inversas de *Beauveria* sobre pupas de *L. botrana* determinada por el método de Abbott. cepa B1 Tampón (B1T), cepa B1 Formulado sin fuente de energía adicional (B1F1), cepa B1 formulado con fuente de energía adicional (B1F2), cepa B4 tampón (B4T), cepa B4 formulado sin fuente de energía adicional (B4F1), cepa B4 formulado con fuente de energía adicional (B4F2), cepa B6 tampón (B6T), cepa B6 formulado sin fuente de energía adicional (B6F1), cepa B6 formulado con fuente de energía adicional (B6F2), control comercial en base a HEP (comercial) y agua (testigo).

La formulación de polvos mojables de las cepas B4 y M8 mostraron una eficacia de 100% y 93% respectivamente a los 7 dda, funcionando en rangos similares de tiempo a las emulsiones inversas con una estabilidad superior. Los resultados de colonización de los HEP formulados como polvos mojables a los 14 dda se muestran en la **Figura 20** y como ejemplo de su infección se muestran en la **Figura 21**. Estas formulaciones tipo polvos mojables y emulsiones inversas fueron evaluadas durante la temporada invernal 2018 en las regiones Metropolitana y de O'Higgins.

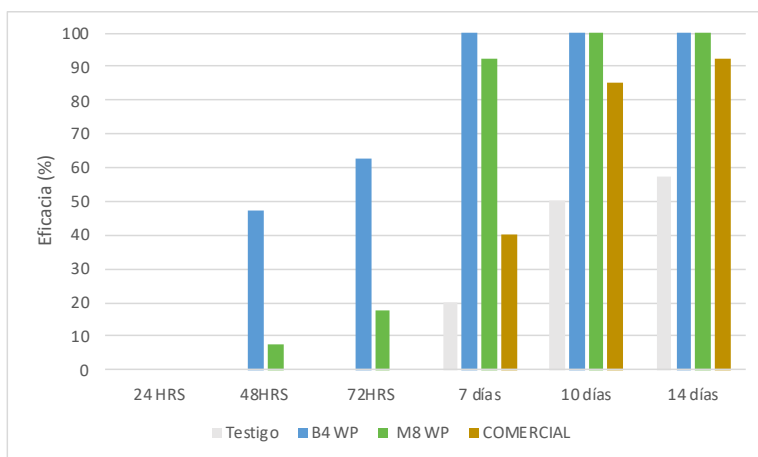


Figura 20. Eficacia de polvos mojables de *Beauveria* y *Metarhizium* determinada por Abbott. Los tratamientos son: *Beauveria* (B4 WP) y *Metarhizium* (M8 WP), Micosplag WP (comercial) y agua (testigo).

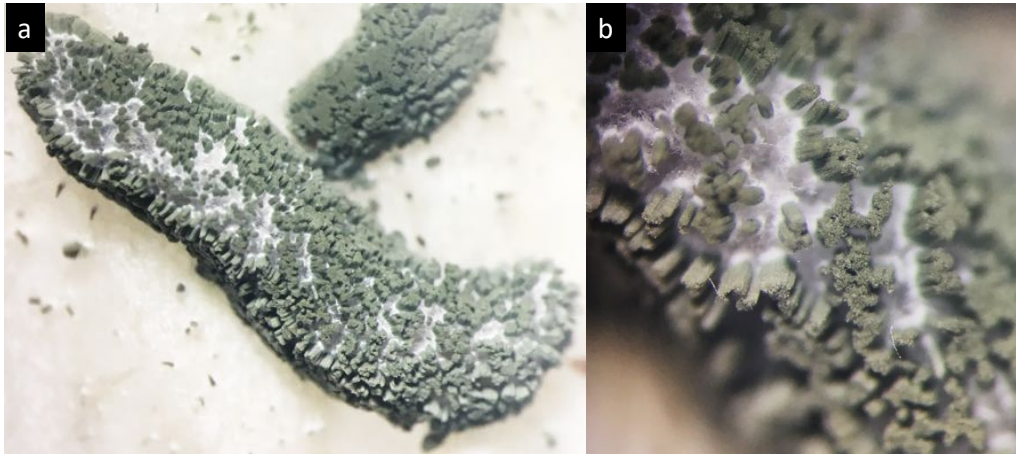


Figura 21. Ejemplo de infección sobre pupa con seda de *Metarhizium* formulado como polvo mojable (a) formando esporodoquios (b).

OE4. Evaluar el efecto del biopesticida en campo, para cuantificar su respuesta a las condiciones climáticas y uso sustentable para el medio ambiente.

Resultado temporada invernal 2018. Regiones Metropolitana y O'Higgins

Después de haber evaluado los aislados candidatos junto a sus distintas formulaciones se procedió a evaluar en temporada invernal, durante junio hasta agosto, los HEP seleccionados en las regiones Metropolitana y O'Higgins. Con el apoyo del PNLb del SAG se seleccionaron los lugares, buscando sectores urbanos o predios que tuvieran presencia de la plaga. Además, por lo general, todos los sectores se encontraban con monitoreo por trampas con feromona (E7, Z9-Dodecadienil acetato) o con confusión sexual en el caso de los predios productivos, tanto de uva de mesa como para vinificación.

Los resultados que se presentan en las figuras son las eficacias de los productos tipo polvos mojables (WP) y emulsiones inversas (EI) de los HEP *Beauveria* sp. y *Metarhizium* sp. Estos datos representan la epizootia generada por la aplicación de los formulados, incluyendo la micosis de los HEP y hongos ambientales, también llamados oportunistas, estimulados por el formulado y que pudieran complementar la actividad de los HEP.

En la Provincia de Chacabuco, Lampa, predio urbano, fue monitoreado desde abril/2018. Los ensayos desarrollados durante el periodo de junio-agosto, en donde se aplicaron los plaguicidas microbianos formulados como WP fueron revisados en terreno, colectando muestras para evaluarlas a los 7, 14 y 21 días después de aplicados (dda) e incubándolos hasta 30d en placas Petri con humedad para observar la epizootia. En este ensayo, *Metarhizium* alcanzo una eficacia de un 66.7% post tomada la muestra 21 dda (**Figura 22**).

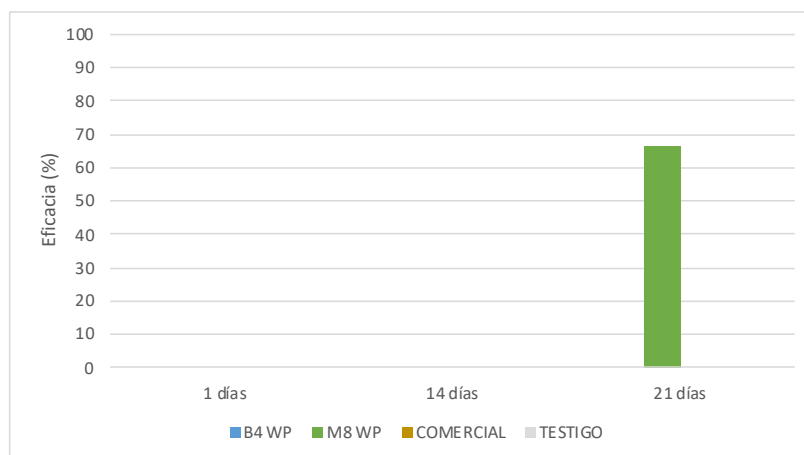


Figura 22. Porcentaje de eficacia de los tratamientos mediante la fórmula de Henderson & Tilton, a los distintos días de revisión de su incubación. Donde M8 WP, *Metarhizium* 8 polvo mojable y B4 WP, *Beauveria* 4 polvo mojable. (región Metropolitana, Lampa, predio urbano) Junio- agosto 2018.

En la Provincia de Santiago, La Pintana, predio rural, se realizó un ensayo de infestación controlada (Ver **Figura 25c**) con pupas en el periodo de junio-julio, donde se aplicaron los plaguicidas microbianos formulados como WP. Estos fueron revisados a los 7, 14 y 21 dda e incubados hasta 20d en placas Petri con humedad para observar la epizootia total de los formulados. En este ensayo, los porcentajes de eficacia más altos fueron encontrados a los 21dda. *Beauveria* 4 (B4WP) alcanzó una eficacia de 77.5%, *Metarhizium* 8 (M8WP) alcanzó una eficacia de un 75% y el control comercial alcanzó un 55% (**Figura 23**).

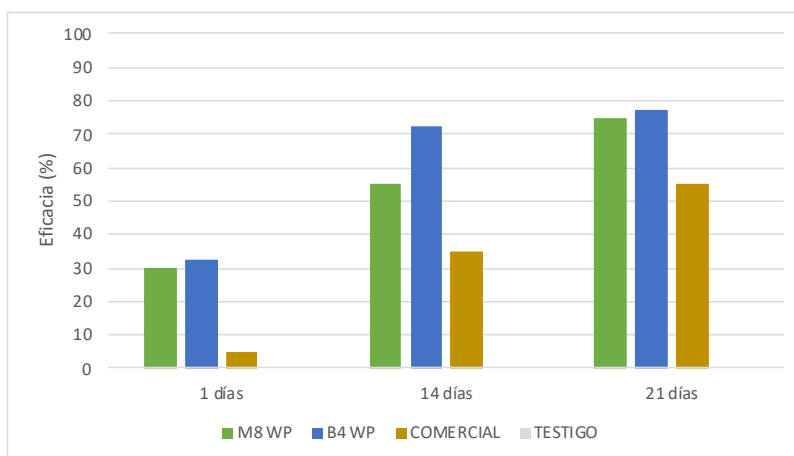


Figura 23. Porcentaje de eficacia de los tratamientos mediante la fórmula de Henderson & Tilton, a los distintos días de revisión. Donde M8 WP; *Metarhizium* 8 polvo mojable y B4 WP; *Beauveria* 4 polvo mojable (región Metropolitana, La Pintana, predio rural) junio-julio 2018.

Debido a la baja presencia de la plaga en la RM en los sectores monitoreados, se realizaron ensayos adicionales en la región del Libertador Bernardo O'Higgins, en Placilla. El ensayo fue ubicado en un sector de alta infestación en un predio rural, previamente determinado por el PNLb del SAG durante el periodo de junio-julio, donde se aplicaron los plaguicidas microbianos formulados como WP y EI. Los tratamientos fueron revisados a los 7, 14 y 21 dda e incubados hasta 21d en cajas Petri con humedad para observar la epizootia. En este ensayo, *Beauveria* 4 en su versión de polvo mojable alcanzó un 66.67% de eficacia seguido por el control con un 60% y *Metarhizium* 8 con un 57.52% (**Figura 24**).

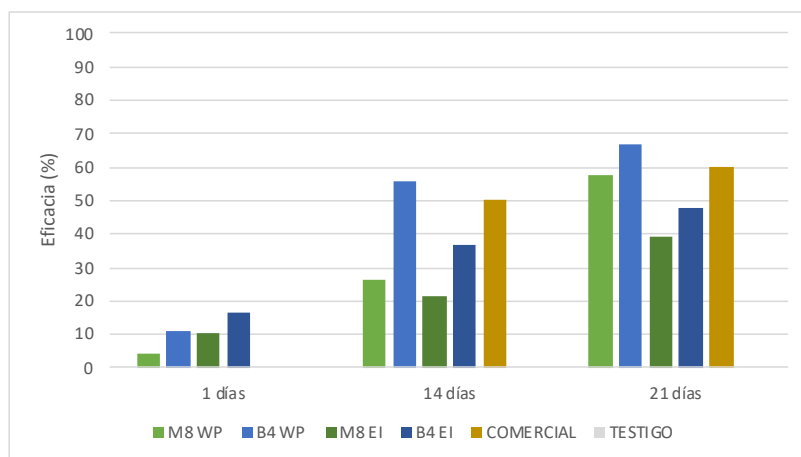


Figura 24. Gráfico de porcentaje de eficacia de los tratamientos mediante la fórmula de Henderson & Tilton, a los distintos días de revisión. Donde M8 WP; *Metarhizium* 8 polvo mojable, B4 WP; *Beauveria* 4 polvo mojable, M8 EI; *Metarhizium* 8 emulsión inversa, B4 EI; *Beauveria* 4 emulsión inversa. (región Libertador B. O'Higgins, Placilla, predio rural) junio-julio 2018.

Para complementar estos resultados y previa autorización del SAG, se utilizó la metodología de captura de machos con trampas delta y feromona sexual (E7, Z9-Dodecadienil acetato) post aplicación invernical de los plaguicidas microbianos. En el caso de la experimentación de INIA La Platina (región Metropolitana), se cerraron las parras en campo con toldos con malla antiáfidos por cada tratamiento y se realizaron las aplicaciones de los formulados en su interior (**Figura 25**). En el caso de Placilla, no se instalaron toldos, aunque se ocuparon las trampas y feromonas.

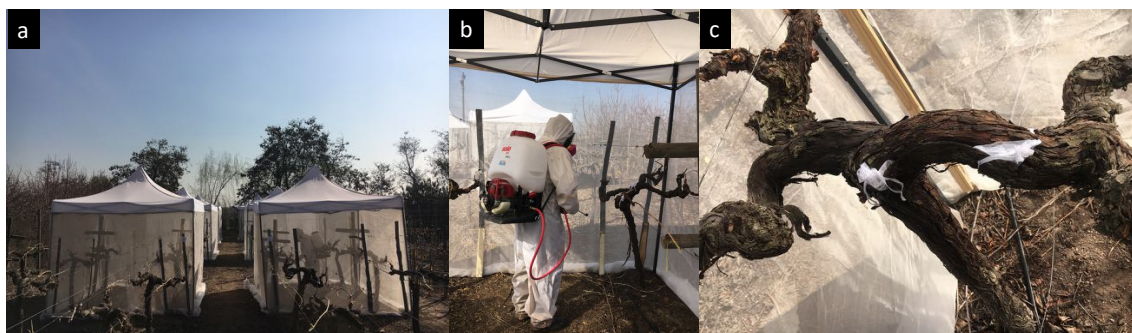


Figura 25. Ensayo de infestación controlada invernical de bioseguridad. a, Repeticiones en campo de toldos con malla antiáfidos completamente cerrados. b, Aplicación de plaguicidas microbianos formulados en base a HEP. c, mallas de tul con pupas con seda insertadas en el ritidomo de las parras. región Metropolitana, La Pintana.

En INIA La Platina, en el campo experimental de fitopatología de uva de mesa Red-Globe, se establecieron las medidas de bioseguridad mencionadas. En este ensayo de infestación controlada contenía 100 pupas con capullo por tratamiento. Los resultados presentados en la **Figura 26**, muestran que el tratamiento que obtuvo menos capturas fue el aplicado con la emulsión de *Metarhizium* 8, seguido por *Beauveria* 4 en sus dos presentaciones, emulsión y polvo mojable. Las capturas post aplicación del producto comercial fueron mayores seguidas por *Metarhizium* 8 polvo mojable y el testigo. En este caso, la alta captura de *Metarhizium* 8 polvo mojable se pueden deber a defectos de instalación de las pupas en el ritidomo, problemas de formulación o aplicación del plaguicida microbiano.

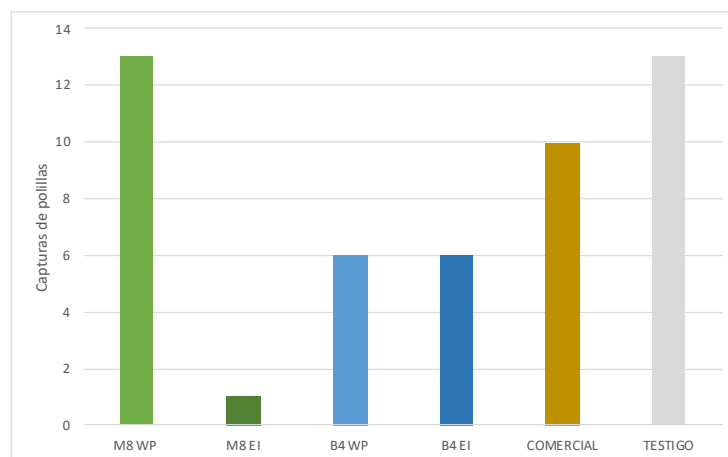


Figura 26. Captura de polillas de *Lobesia botrana* en trampas de feromonas, post aplicación de los tratamientos en INIA La Platina. Donde M8 WP; *Metarhizium* 8 polvo mojable, B4 WP; *Beauveria* 4 polvo mojable, M8 EI; *Metarhizium* 8 emulsión inversa, B4 EI; *Beauveria* 4 emulsión inversa (región Metropolitana, La Pintana) Sept.- Oct 2018.

En el Fundo San Luis de Manantiales, Placilla, en la viña con la variedad País, a campo abierto y como se presenta en la **Figura 27**, el tratamiento que obtuvo menos capturas fue el producto comercial seguido por *Beauveria* y *Metarhizium* emulsión respectivamente con una mayor captura por la trampa del SAG (testigo).

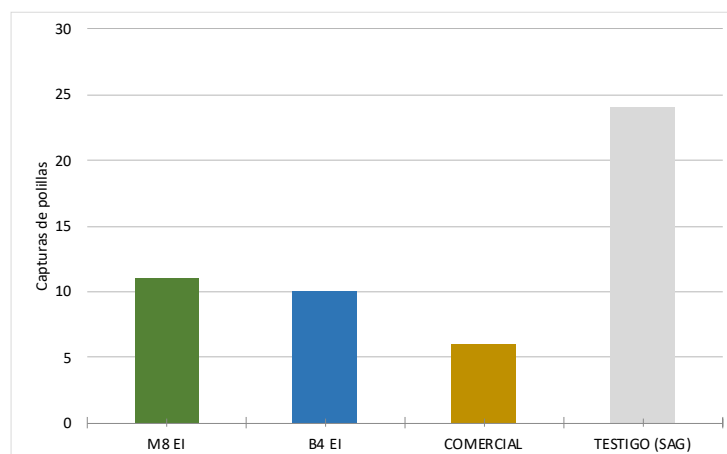


Figura 27. Captura de polillas de *Lobesia botrana* en trampas de feromonas, post aplicación de los tratamientos en Fundo San Luis de Manantiales. M8 EI; *Metarhizium* 8 emulsión inversa, B4 EI; *Beauveria* 4 emulsión inversa (región Libertador B. O'Higgins, Placilla) Sept.- Oct 2018.

Resultados temporada invernal 2019. Regiones Metropolitana y O'Higgins

A continuación, se presentan los resultados de la temporada invernal 2019 de los mismos sectores evaluados en la temporada invernal 2018.

En la Provincia de Chacabuco, Lampa, predio urbano, fue monitoreado desde abril/2019, los ensayos desarrollados durante el periodo de septiembre-octubre, donde se aplicaron los plaguicidas microbianos formulados como WP, las pupas fueron recolectados a los 7 y 21 dda e incubadas hasta 30d en placas Petri con humedad para observar la epizootia. La recolección de los 14 dda no se pudo realizar debido a la crisis social en octubre/2019. Finalmente, el tratamiento *Metarhizium* 8 recolectado a los 21 dda alcanzó una eficacia de un 60% (**Figura 28**).

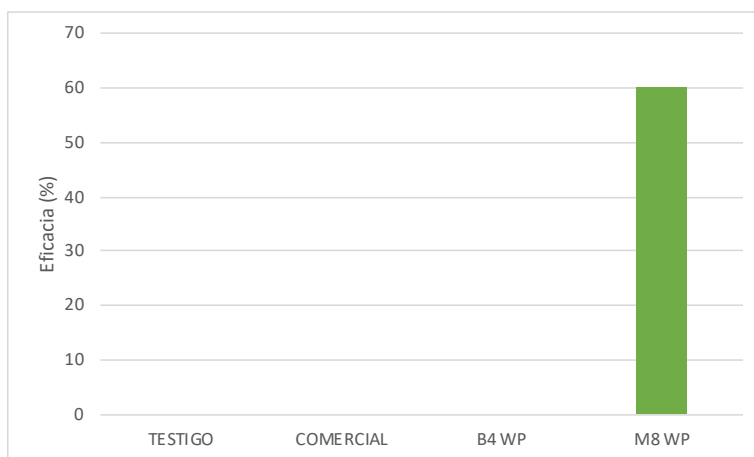


Figura 28. Gráfico de porcentaje de eficacia de los tratamientos mediante la fórmula de Henderson & Tilton, a los distintos días de revisión a los 30d de incubación. Donde M8 WP; *Metarhizium* 8 polvo mojado y B4 WP; *Beauveria* 4 polvo mojado. (región Metropolitana, Lampa, predio urbano) septiembre-octubre 2019.

En la Provincia de Santiago, La Pintana, predio rural, se repitió el ensayo de infestación controlada con pupas en el periodo de abril-junio, donde se aplicaron los plaguicidas microbianos formulados como WP y fueron revisados a los 7, 14 y 21 dda e incubados hasta 30d en cajas Petri con humedad para observar la epizootia de los formulados. En este ensayo, los porcentajes de eficacia más altos fueron encontrados a los 21dda. *Beauveria* 4 emulsión alcanzó una eficacia de 73.3%, *Metarhizium* 8 emulsión alcanzó una eficacia de un 86.7% y el control comercial alcanzó un 26.7% (**Figura 29**).

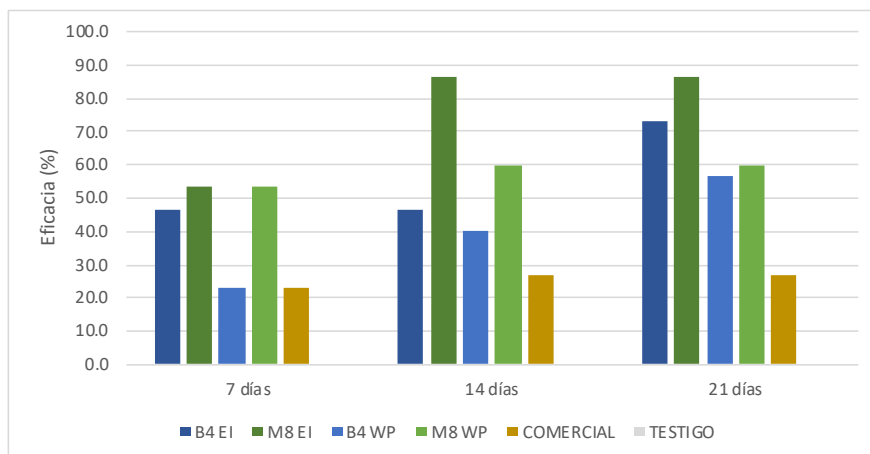


Figura 29. Porcentaje de eficacia de los tratamientos mediante la fórmula de Henderson & Tilton, a los distintos días de revisión. Donde M8 WP; *Metarhizium* 8 polvo mojado y B4 WP; *Beauveria* 4 polvo mojado; M8 EI; *Metarhizium* 8 emulsión inversa, B4 EI; *Beauveria* 4 emulsión inversa (región Metropolitana, La Pintana, predio rural) abril-junio 2019.

En Placilla, región Libertador B. O'Higgins, el ensayo fue ubicado en un sector de alta infestación, durante el periodo de abril-junio donde se aplicaron los plaguicidas microbianos formulados como WP y EI. Los tratamientos fueron revisados a los 7, 14 y 21 dda e incubados hasta 21d en cajas Petri con humedad para observar la epizootia. En este ensayo, *Beauveria* polvo mojado alcanzó un 53.49% de eficacia y *Metarhizium* emulsión alcanzó un 80.39% (**Figura 30 y 31**).

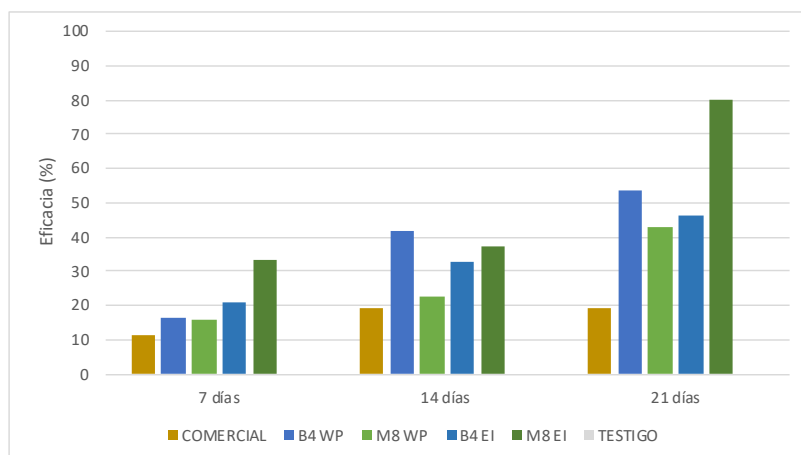


Figura 30. Porcentaje de eficacia de los tratamientos mediante la fórmula de Henderson & Tilton, a los distintos días de revisión. Donde M8 WP; *Metarhizium* 8 polvo mojable y B4 WP; *Beauveria* 4 polvo mojable; M8 EI; *Metarhizium* 8 emulsión inversa, B4 EI; *Beauveria* 4 emulsión inversa (región Libertador B. O'Higgins, Placilla, predio rural) abril-junio 2019.

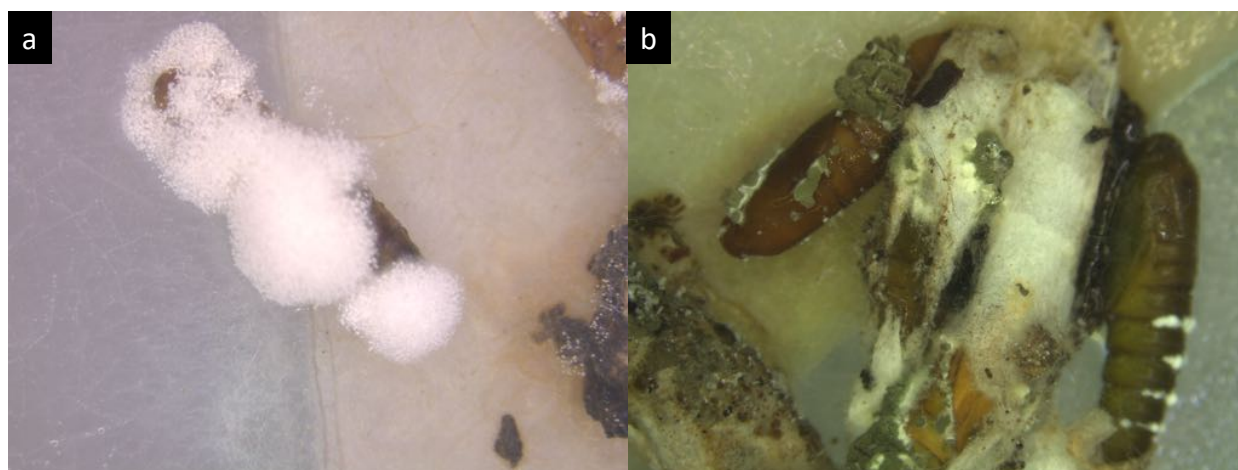


Figura 31. Ejemplo de pupas con seda extraídas de los ensayos de campo de la región de O'Higgins infectadas por plaguicidas microbianos. a, *Beauveria*. b, *Metarhizium*.

Las capturas de polillas en INIA La Platina en la temporada invernal 2019 (**Figura 32**) mejoró debido a que *Metarhizium* 8 formulado como emulsión inversa, al igual que el producto comercial, alcanzaron cero capturas indicando que las polillas no volaron debido a la acción del plaguicida microbiano. Esto se puede deber a que las aplicaciones de los plaguicidas microbianos fueron realizadas tempranamente, abril-junio, en donde la seda de la pupa es mas delgada.

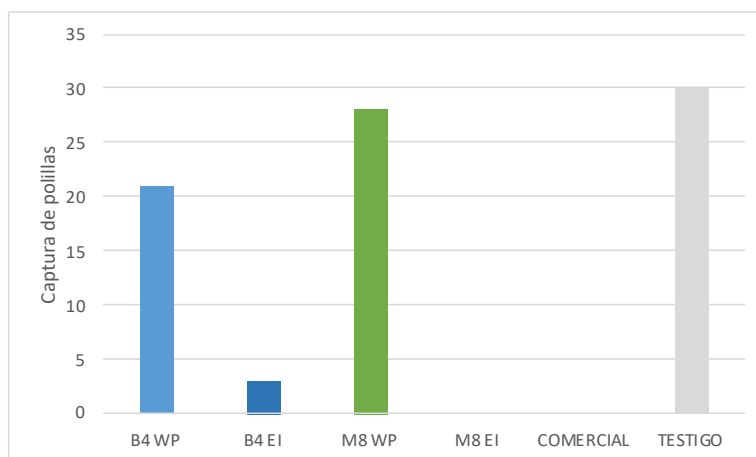


Figura 32. Captura de polillas de *Lobesia botrana* en trampas de feromonas, post aplicación de los tratamientos en INIA La Platina. Donde M8 WP; *Metarhizium* 8 polvo mojable, B4 WP; *Beauveria* 4 polvo mojable, M8 EI; *Metarhizium* 8 emulsión inversa, B4 EI; *Beauveria* 4 emulsión inversa (región Metropolitana, La Pintana) Sept.- Oct 2019.

Las mediciones de capturas de Placilla no pudieron ser monitoreadas adecuadamente debido a la crisis social de octubre 2019, en donde no pudimos acceder a los sectores en donde se encontraban las trampas en los periodos del ensayo, por lo que no fueron consideradas para esta publicación.

Resultados temporada invernal 2019. Región de Valparaíso

Adicionalmente en la temporada 2019, en paralelo a obtener los resultados de la temporada invernal de la RM y O'Higgins y en base a los resultados de la temporada 2018, se evaluó en zonas urbanas de Olmué (región de Valparaíso) la aplicación de *Beauveria* 4 emulsión inversa (EI). En esta ocasión, INIA preparó el plaguicida microbiano y el equipo del PNLb del SAG realizó la mayoría de las aplicaciones invernales en julio/2019. Se evaluó la aplicación de *Beauveria* (B4 EI), *Beauveria* más confusión sexual (B4 EI + CS) y Testigo (Sin aplicación). Para cuantificar el efecto de los tratamientos, se comparó los registros de las capturas de polillas por trampas con feromonas correspondientes a los primeros vuelos de la temporada noviembre 2018 y noviembre 2019. El registro de las capturas en ambas temporadas fue realizado por el PNLb del SAG.

En la temporada de capturas de noviembre 2019, después de los tratamientos invernales con *Beauveria*, se logró reducir en un 34% las capturas de los machos de *L. botrana* solo con B4 EI y un 80% con B4 EI + CS con respecto al testigo en 2019. Al comparar entre temporadas, se destaca el sector aplicado de B4 EI + CS, este valor presenta una disminución de un 89% de la población de *L. botrana*. En el caso de la comparación de temporadas, la aplicada sólo con B4 EI presentó solo un 15% de disminución de la población de polillas. La comparación entre temporadas de los testigos prácticamente no tuvo variación (**Figura 33**).

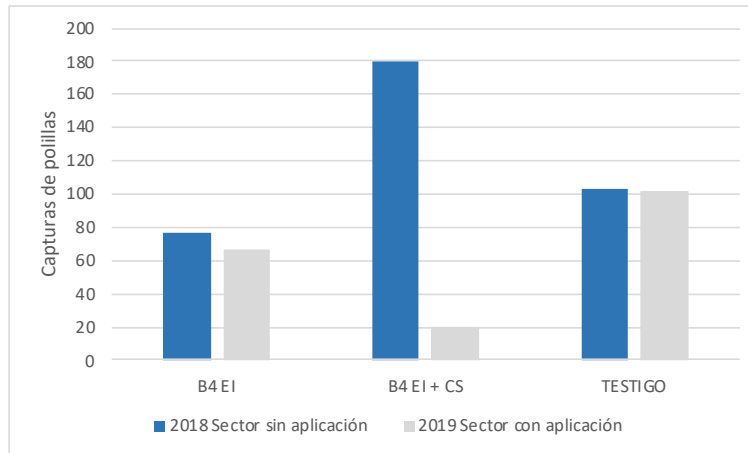


Figura 33. Porcentaje de capturas de machos de *L. botrana* en sector urbano de Olmué. En azul se presentan las capturas 2018. En plomo las capturas 2019. B4 EI, Beauveria 4 Emulsión inversa. CS, Confusión Sexual. TESTIGO, Sector sin aplicación.

Se destaca el efecto sinérgico de la confusión sexual en conjunto a la aplicación de Beauveria 4 WP. Este efecto fue el que obtuvo mayor disminución de captura debido a que ambas estrategias incidieron en el control la plaga. Cabe señalar, no se realizó un tratamiento solo con confusión sexual debido a que no había un mayor número de feromonas disponibles en esa ocasión. Debido a este interesante resultado y en dependencia de nuevos financiamientos en el área, se evaluará una matriz mas compleja para dilucidar de mejor manera la interacción HEP/Feromona/*L. botrana*.

Resultados *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* para control de larvas: Complemento al control invernol

Adicionalmente, se evaluó una estrategia de control en el periodo de primavera/verano complementarias al control invernol de *L. botrana*. Esta estrategia se basa en las aplicaciones de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) para control de larvas, provenientes de polillas que no hayan sido controladas por las aplicaciones invernol, para establecer un manejo integrado de *L. botrana*. Para prospectar esta alternativa, se evaluaron dos productos comerciales en base a Btk como opciones de manejo. Estas opciones fueron revisadas bajo el protocolo de evaluación de productos del PNLb SAG. El plaguicida microbiano Btk1 alcanzo una eficacia de 55.6% y Btk2 un 85.6% para control de larvas L1 principalmente (**Figura 34**). En este caso, el rango de acción de los *Bacillus* promedia un 70% de eficacia que sumado al control invernol con HEP proporcionaría un aporte al control de la plaga.

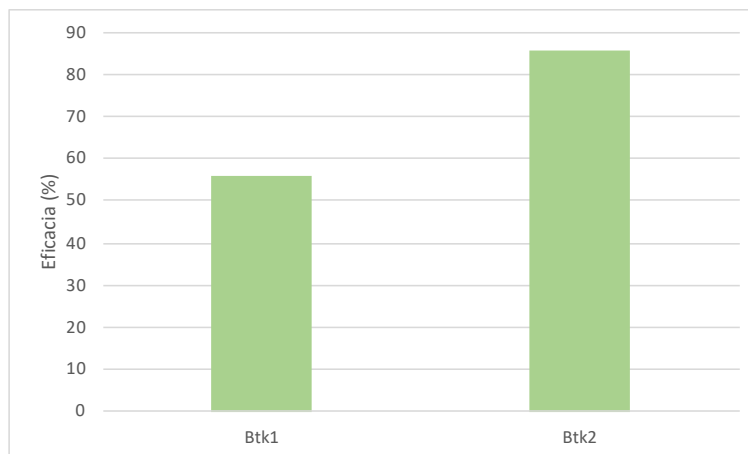


Figura 34. Eficacias de plaguicidas microbianos en base a *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* en vides.

Propuesta de manejo integrado de *Lobesia botrana*

Por los antecedentes presentados en este y otros capítulos, planteamos una propuesta de manejo integrado de *L. botrana* que contempla el uso de hongos entomopatógenos desde abril a agosto y desde esta última fecha realizar aplicaciones de Btk mediante monitoreo de huevos cabeza negra de la plaga. Además, este manejo es compatible con la confusión sexual, aplicaciones de productos químicos en los momentos y dosis correspondientes para el control de esta plaga, otras plagas y enfermedades junto a las liberaciones de enemigos naturales (Figura 35).

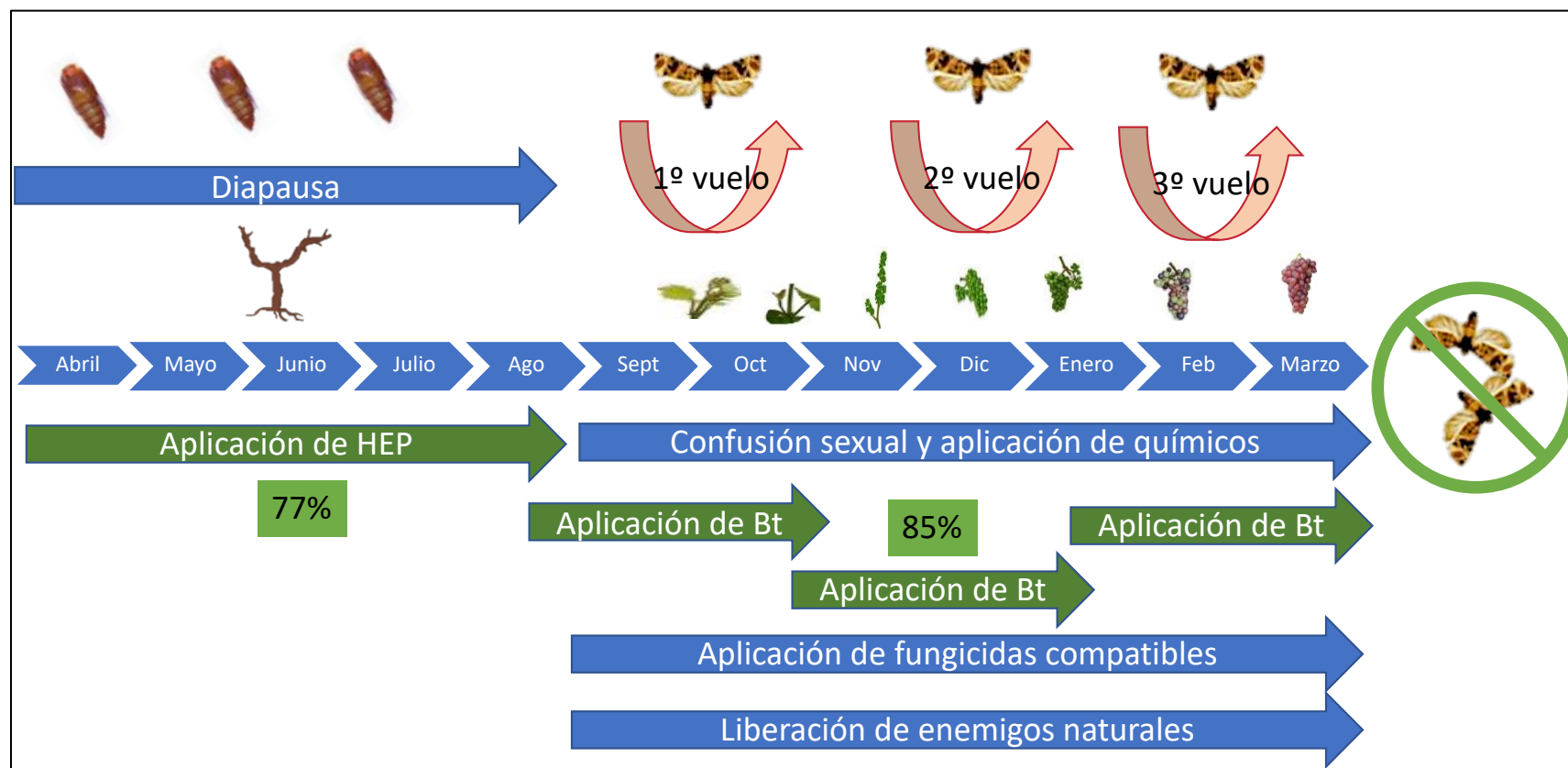


Figura 35. Propuesta de manejo integrado en base a hongos entomopatógenos y *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* para control de distintos estados de *Lobesia botrana*.

OE5. Capacitar y realizar la transferencia tecnológica del uso del o los biopesticidas a residentes urbanos, pequeños y grandes productores en un contexto de cambio climático

Extensión y transferencia tecnológica.

Un programa de transferencia y extensión se centra en la necesidad de aumentar los conocimientos sobre las condiciones de los agricultores e incorporar sus puntos de vista en el desarrollo de tecnologías agropecuarias. Al respecto, se debe mencionar que el conocimiento de los agricultores es dinámico, ya que asimilan datos y conceptos de diversas fuentes como, por ejemplo, proveedores de insumos, medios de comunicación, sus pares y otras fuentes.

En cuanto a, la información y la tecnología son difundidas a través de redes constituidas por un grupo de personas unidas por vínculos de interés, como resultado de compromisos sociales familiares o tradicionales. Estas redes pueden ser sociales o virtuales, desempeñando un papel fundamental en la adopción de tecnologías nuevas.

Se debe tener presente que la metodología de transferencia y difusión a utilizar debe ser satisfactoria para entregar los conocimientos de los distintos procesos, los cuales deben ser económicamente viables, ambientalmente sustentable y socialmente aceptable, según sea el caso. Para esto se hace imprescindible constituir las instancias más adecuadas de reflexión con los diferentes componentes de la población objetiva de este proyecto (profesionales, técnicos y agricultores) que se quiere intervenir. Se debe colocar especial énfasis en generar las capacidades y habilidades locales que permitan que sea sustentable en el tiempo.

En la medida que miembros de una comunidad se convierten en protagonistas del proceso de construcción del conocimiento (detección de problemas y necesidades, además de la elaboración de propuestas y soluciones) los resultados obtenidos serán innovaciones tecnológicas más productivas, estables, equitativas y sostenibles, con mayores probabilidades de ser adoptadas y que responden a preocupaciones sociales relevantes, como la equidad y la sustentabilidad. Bellon (2002)

De acuerdo a la experiencia de los especialistas de INIA y a la investigación que se ha llevado a cabo, la baja tasa de adopción tecnológica observada se evidencia por la existencia de brechas tecnológicas, entre la oferta de la academia y lo aplicado en los predios agrícolas de los agricultores. como consecuencia de: (1) desconocimiento de controladores biológicos para *Lobesia botrana* (2) tecnologías de control que no están adaptadas o debidamente validadas bajo las circunstancias y/o realidad de la población objetivo involucrada.

Para entregar una solución a lo anterior, en el marco del proyecto “Desarrollo de un biopesticida en base a HEP para biocontrol y/o manejo integrado de *Lobesia botrana* en vides como una alternativa sustentable en el cambio climático” se desarrollaron varias actividades basadas en la metodología de Grupos de Transferencia de Tecnología (GTT), (García-Huidobro et al., 2006), desarrollada por INIA.

A continuación, se describen algunas de ellas, como: reuniones de socialización, talleres técnicos basados en el sistema de “aprender haciendo”⁵, visitas y reuniones técnicas, unidades de validación y seminarios de difusión.

Reuniones de Socialización

Se procedió a efectuar la convocatoria de agricultores potenciales integrantes de los GTT, en función de lo indicado anteriormente. Es así como se invitaron agricultores del Programa de Desarrollo Local (Prodesal) de Isla de Maipo y Lampa, para constituir el GTT de Vides productores urbanos de estas comunas.

El objetivo de estas reuniones fue dar a conocer, en forma detallada los alcances del presente Proyecto y los derechos y deberes que implicaba incorporarse a este programa, en el que la confianza y el compromiso son pilares fundamentales para el éxito de este. Además, se socializó el proyecto con importantes empresas en el rubro vitivinícola y exportación de uva de mesa (**Figura 36**).



Figura 36. Reuniones de socialización. a) Viña Tarapacá. b) Viña Santa Ema. c) Viña Las Mercedes. d) Exportadora Quintay

Grupos de Transferencia Tecnológica (GTT)

Se colocó especial énfasis en el acompañamiento/seguimiento de todas las etapas que intervienen en el proceso de aprendizaje involucrado en el MIP, preocupándose más que en las habilidades, en los procesos que las acompañan y/o generan, teniendo siempre como sujeto al agricultor. Esto último adquiere una relevancia especial, en cuanto a que generarán insumos para la identificación y control de *Lobesia botrana* y, responde a los problemas de los agricultores.

Con el objetivo de ir evaluando: i) el grado de aceptación del HEP para el control de *Lobesia botrana*, ii) la dinámica del estadio de pupa de la plaga y iii) un punto de referencia a la labor que desarrollaron los profesionales y técnicos en las unidades de validación, se establecieron 2 grupos de transferencia tecnológica coordinados por extensionistas de INIA.

Los GTT estarán conformados por un grupo cerrado entre 12 y 15 agricultores, quienes deben poseer un alto grado de homogeneidad en cuanto a su ubicación, orientación productiva e intereses, además de estar dispuestos a constituir un grupo estable Junto a ello deberán estar dispuestos a compartir sus experiencias y dar facilidades para visitar su predio, todo ello con un alto grado de

compromiso, donde la reunión estará basada en la metodología “ayuda al anfitrión”, será el componente central.

Constitución de Grupos de Transferencia Tecnológica (GTT) en la región Metropolitana

Estos grupos se constituyeron satisfactoriamente con todos sus integrantes, en las fechas indicadas, con un total de 32 agricultores directos, con quienes se realizaron distintas actividades de capacitación e implementación de nuevas tecnologías. Estos grupos se ubicaron en dos comunas de la región Metropolitana (**Tabla 4**).

Día	GTT	Lugar	Integrantes (n°)
11 agosto 2017	<i>Lobesia botrana</i> Lampa	Salón Prodesal Lampa	15
24 enero 2018	<i>Lobesia botrana</i> Isla de Maipo	Casona Isla de Maipo	17

Tabla 4. Constitución de grupos de transferencia tecnológica.

Actividades de Capacitación

Las actividades de capacitación realizadas fueron: Reuniones técnicas, Talleres técnicos, Visitas técnicas, Unidades de validación y difusión.

Reuniones Técnicas

Las actividades grupales desarrolladas con los integrantes de los GTT en el campo de uno de los agricultores involucrados, en donde estas fueron constituidas por una visita al predio y una charla técnica. En ambas actividades se contó con la participación activa del especialista, quien entregó información disponible para el agricultor sobre un tema en específico. La charla técnica fue reforzada y complementada con la visita del predio, la cual estuvo basada en la metodología *ayuda al anfitrión* (García-Huidobro et al., 2006)

En función a lo expuesto en el párrafo anterior, los tópicos tratados tienen estrecha relación frente a especificidad de la información generada y focalizar eficientemente la entrega de ésta, según su priorización y dosificación. Estas actividades estuvieron focalizadas en metodologías para el establecimiento de unidades de validación, control invernadero de *Lobesia botrana*, Identificación de la plaga según estadios (huevo, larva, pupa y adulto) y formulación de bioplaguicidas. Por lo tanto, estas actividades tienen como objetivo la nivelación, de los participantes, en los conocimientos, destrezas y habilidades básicas, relacionados con el uso y manejo adecuado de los bioplaguicidas en base a HEP, asociados a la plaga. Finalmente, teniendo presente que los resultados del aprendizaje se expresan en el logro de objetivos generales y específicos, se puso especial énfasis en definirlos, en forma conjunta entre extensionistas y especialista, señalando el tipo de aprendizaje deseable, adopción en el tiempo involucrado y el lugar más apropiado. Junto a ello se fijó una ruta a seguir cuyas actividades fueron; talleres técnicos, visitas técnicas y asociadas al tema desarrollado en la reunión técnica respectiva (Zolezzi, 2014)

Talleres Técnicos

Los talleres técnicos (**Figura 37**) son capacitaciones que está a cargo de extensionistas y/o especialistas, según el grado de complejidad del tema a tratar. Ellos acompañan a los productores en terreno para validar e implementar la tecnología propuesta, durante este acompañamiento se busca identificar las brechas y realizar el ajuste necesario para que los productores puedan incorporar la tecnología propuesta por INIA, en el predio del agricultor y ajustar según su realidad en primera instancia en el productor líder y después al grupo de trabajo constituido.



Figura 37. Talleres Técnicos. a) Metodología para el establecimiento de unidades de validación. b) Resultados control interno de la plaga *Lobesia botrana*. c) Identificación de la plaga. d) Formulación de bioplaguicidas. e) Identificación, Monitoreo y Control con hongos entomopatógenos de la Plaga *Lobesia botrana*.

Metodología de enseñanza interactiva

Para poder cumplir con los objetivos, en relación al grupo de productores al cual estaba enfocada esta capacitación, se utilizó una metodología interactiva para adultos, permitiendo un mayor dinamismo entre agricultores, profesionales e investigadores, distribuidos en grupos de 5 personas a través del concepto aprender haciendo. Para ello, se realizó una capacitación con un tópico determinado a través de presentaciones en pantalla como se visualiza en la **Figura 38** y, posteriormente, se reforzaron los conceptos a través de un trabajo con pizarras magnéticas, en las que se presentó el ciclo de control de los HEP sobre el estadio de pupa de *Lobesia botrana*, diferenciando entre pupa colonizada por el HEP y pupa sin colonizar, esto consideró la entrega de material bibliográfico para apoyar y complementar de mejor manera la actividad.



Figura 38. a) Presentación en pantalla, b) Capacitación interactiva del ciclo del control con HEP de *Lobesia botrana* a través de pizarra magnética

Evaluación de conocimientos

Para poder evaluar los conocimientos de los agricultores y equipo técnico de los 2 grupos GTT, Isla de Maipo y Lampa que asistieron al taller teórico-práctico sobre “Identificación, monitoreo y control con HEP de la plaga *Lobesia botrana* en vid”, se realizó una prueba inicial con preguntas que tienen relación con el tema, con el fin de determinar el nivel de conocimientos que tenían los integrantes. Al final de la actividad, se realizó una evaluación final que permitió la comparación entre ambas evaluaciones y así poder determinar el aumento final de conocimientos. Los resultados se presentan en la **Figura 39**.

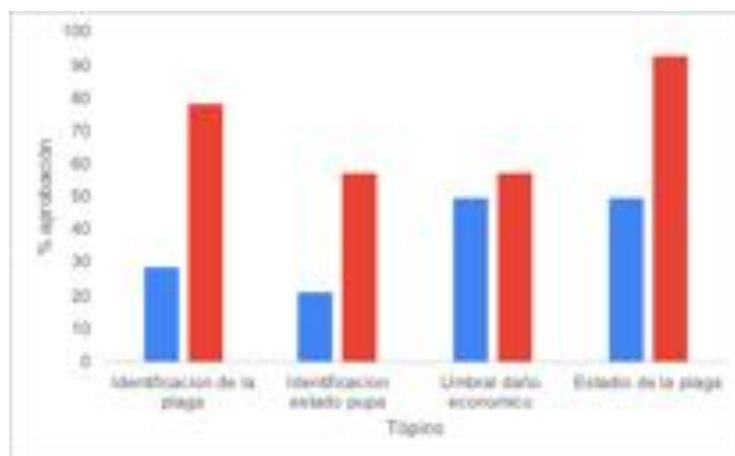


Figura 39. Biología de la plaga. Porcentaje de aprobación en evaluación inicial (barra azul) y final (barra roja).

En la **Figura 39**, se puede observar el aumento de conocimientos en identificación de la plaga en un 50%, identificación del estado de pupa en un 35,7%, umbral de daño económico en un 7,1% y en estado de la plaga en un 42,9%.

De acuerdo con las brechas preexistentes, se presentaron los conocimientos básicos de identificación y biología de la plaga, que se hacen necesarios al momento de la aplicación de estos bioplaguicidas, ligados a una correcta identificación de la principal plaga que ataca a la vid.

En la **Figura 40**, que se presenta a continuación, se observa la evaluación en el aumento de conocimiento, sobre tópicos de monitoreo, trampas de feromonas, confusores sexuales de la plaga y ubicación de estos confusores.

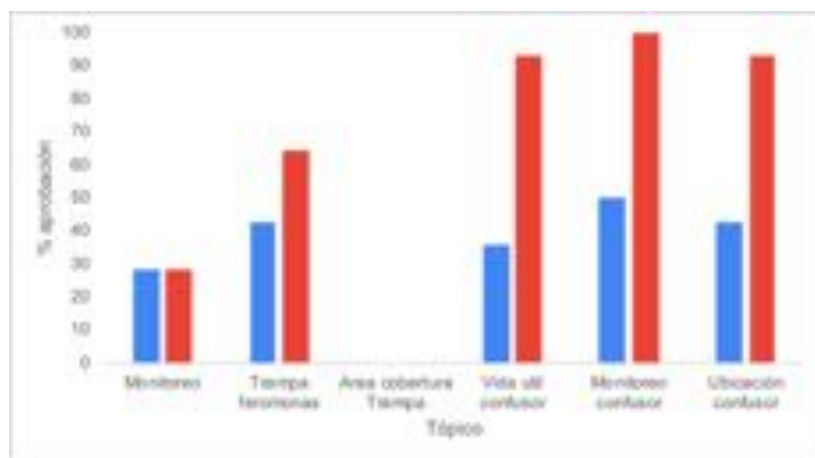


Figura 40. Monitoreo. Porcentaje de aprobación en evaluación inicial (barra azul) y final (barra roja).

Los resultados anteriores muestran que respecto al tópico monitoreo, el grupo mantuvo el conocimiento en la evaluación inicial y final (28,6%). Respecto a las trampas de feromonas existió un aumento de conocimiento de 21,4%. En cuanto al área de cobertura de la trampa existió desconocimiento total de los productores, ya sea en la evaluación inicial y final. En la vida útil del confusor existió un aumento de conocimiento de 57,2%. Mientras que el monitoreo y ubicación del confusor, el aumento de conocimiento fue de 50%.

En la **Figura 41**, se presentan los resultados de evaluación del tópico relacionado con la identificación de los HEP para el control invernal de *Lobesia botrana*. Características respecto a la

apertura y reutilización de los bioplaguicidas y la importancia del uso de Elementos de Protección Personal (E.P.P) en la aplicación de éstos.

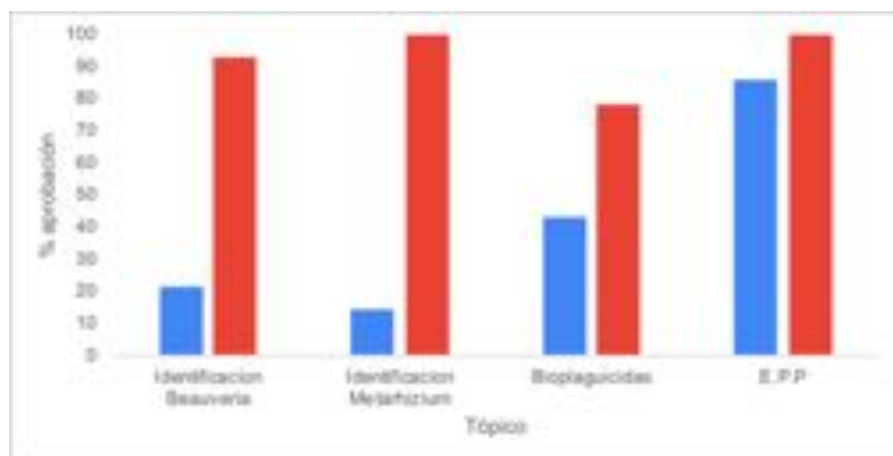


Figura 41. Hongos entomopatógenos. Porcentaje de aprobación en evaluación inicial (barra azul) y final (barra roja).

Los resultados presentados muestran un aumento de conocimientos en la identificación de *Beauveria bassiana* en un 71,5%, en la identificación de *Metarhizium robertsii* el aumento fue de 85,7%, respecto a las características de los bioplaguicidas el aumento de conocimiento fue de 35,7% y sobre la utilización de E.P.P aumentó en 14,3%.

En esta evaluación también se consultó a productores y profesionales involucrados en los 2 grupos de transferencia tecnológica de Isla de Maipo y Lampa, sobre el tipo de formulación preferido, para realizar sus aplicaciones en el control con HEP sobre *Lobesia botrana*. Los resultados se presentan en la **Figura 42**.

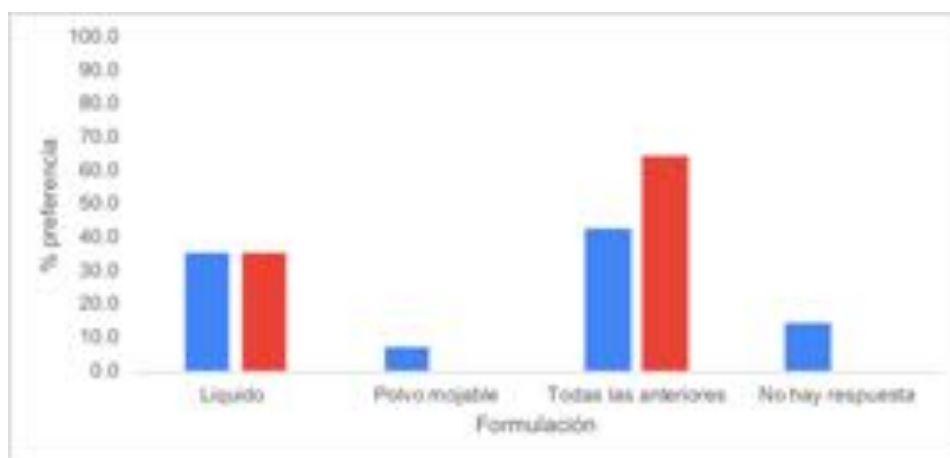


Figura 42. Formulación. Porcentaje de aprobación en evaluación inicial (barra azul) y final (barra roja).

En la evaluación inicial se observa que no existen preferencias muy definidas, la formulación líquida y polvo mojable (opción: todas las anteriores) presenta un 42,9% de las preferencias, la formulación líquida un 35,7%, el polvo mojable un 7,1% y un 14,3% no marcó preferencia.

En la evaluación final, las preferencias están más definidas, ya que fueron elegidas sólo dos de las opciones propuestas, en primer lugar, la opción que incluye la formulación líquida y el polvo mojable con un 64,3% y luego la formulación líquida con un 35,7%.

Visitas Técnicas

Las visitas técnicas buscan realizar un acompañamiento al integrante del grupo de transferencia tecnológica, en la implementación de los tópicos propuestos como la biología del insecto, su manejo integrado, identificación del HEP y el control a través de distintas formulaciones, incorporando el concepto de umbral de daño económico en las decisiones de manejo.

Dentro de este contexto es una actividad clave, para determinar la abundancia, distribución y daño de la plaga, como la abundancia y efecto de los HEP presentes en condiciones ambientales del sector.

Este trabajo en conjunto (Transferencista-Agricultor) nos brinda información mediante la cual se elimina la posibilidad de que los bioplaguicidas se utilicen cuando se necesiten y no se emplee el tipo de producto equivocado, situaciones que se pueden presentar frecuentemente entre los agricultores por desconocimiento.

Es por ello, que se efectúan seguimientos y acompañamientos a los integrantes de los GTT, por parte de los transferencistas y especialistas de INIA mediante estas visitas técnicas, basadas en la metodología “aprender haciendo”.



Figura 43. Visita técnica para el aprendizaje de formas de aplicación para el control de *Lobesia botrana* con HEP.

Validación Tecnológica

Las nuevas tecnologías, como los bioplaguicidas, generadas en función de los puntos críticos como el control de plagas, definidos conjuntamente entre los agricultores, transferencistas e investigadores, y que además son de difícil adopción, desconocidas o que no están dispuestos a adoptarlas por los riesgos y/o costos que significan, generan la necesidad de dar una respuesta práctica desde el punto de vista tecnológico y puntos críticos. Para esto, se optó por constituir 3 Unidades de Validación en campos de los agricultores integrantes de los GTT.

La metodología que se utilizó está basada en los conceptos y procedimientos de la investigación participativa. En dichas unidades los productores y extensionistas realizaron los

trabajos, con sus capacidades, recursos y metodologías, a excepción de aquellos factores considerados tratamientos, los que fueron de responsabilidad de los especialistas INIA.

Con respecto a las actividades programadas en la Carta Gantt del proyecto se decidió trabajar con 3 Unidades de Validación, con el objetivo de evaluar los productos biotecnológicos para el control de pupas en diapausa invernal.

Las unidades de validación de la región Metropolitana y región Libertador Bernardo O'Higgins se establecieron en época de invierno a partir del 18 de abril hasta el 16 de mayo del año 2019.

- Unidad de validación La Platina (La Pintana) (**Cuadro 1**).
- Unidad de validación Albero Silva (sector A, Placilla) (**Cuadro 2**).
- Unidad de validación Alberto Silva (sector B, Placilla) (**Cuadro 3**).

Las tecnologías validadas fueron: Testigo sin aplicación, producto comercial, *Bauveria* emulsión, *Bauveria* polvo mojable, *Metarhizium* emulsión, *Metarhizium* polvo mojable.

	
Frutal	Vid de mesa, Variedad Red Globe
Objetivo General	Validar las tecnologías de biocontrol con HEP, para el control invernal de pupas <i>Lobesia botrana</i>
Nombre del productor	INIA, La Platina
Ubicación	
Geo-referenciación	33°34'17.12"S 70°37'33.18"O

Cuadro 1. Unidad de Validación ubicada en la comuna de La Pintana.



Frutal	Vid vinífera Cabernet Sauvignon
Objetivo General	Validar las tecnologías de biocontrol con HEP, para el control invernal de pupas <i>Lobesia botrana</i>
Nombre del productor	Alberto Silva
Ubicación	
Geo-referenciación	34°36'48"S 71°05'23"W

Cuadro 2. Unidad de validación ubicada en la comuna de Placilla (sector A).



Frutal	Vid vinífera Cabernet Sauvignon
Objetivo General	Validar las tecnologías de biocontrol con HEP, para el control invernal de pupas <i>Lobesia botrana</i>
Nombre del productor	Alberto Silva
Ubicación	
Geo-referenciación	34°36'48"S 71°05'23"W

Cuadro 3. Unidad de validación ubicada en la comuna de Placilla (sector B).

Difusión del Proyecto

Una de las metodologías para difundir los resultados del proyecto fueron los seminarios de lanzamiento y otro de avance con entrega de resultados. A éstos se convocaron los actores relevantes del sector, tales como autoridades públicas y privadas, profesionales y agricultores, en los que se abarcaron temas relacionados al proyecto, como, por ejemplo, identificación, monitoreo y control con HEP en estado invernial de *Lobesia botrana*.(Figura 44)



Figura 44. Seminarios. a) Seminario de lanzamiento. b) Seminario de avance. c y d) Expositores seminario

16.2 ANEXO. DIFUSIÓN.

Difusión científica.

<https://bmcresearchnotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13104-019-4584-6>

Altamira et al. BMC Res Notes (2019) 12:548
<https://doi.org/10.1186/s13104-019-4584-6>

BMC Research Notes

RESEARCH NOTE

Open Access



Potential biological control of the pupal stage of the European grapevine moth *Lobesia botrana* by the entomopathogenic fungus *Beauveria pseudobassiana* in the winter season in Chile

Fabiola Altamira¹, Nathalia De La Barra¹, Patricia Rebufel², Sylvana Soto², Rodrigo Soto³, Patricia Estay¹, Nancy Vitta¹ and Eduardo Tapia^{1*} 

Abstract

Objective: *Lobesia botrana*, the European grapevine moth, affects *Vitis vinifera* L. and other species of economic importance in a number of countries through damage caused by its larvae in berries and associated secondary diseases such as *Botrytis cinerea*. Control of the moth in urban areas is difficult due to poor chemical management of infested plants in houses. Additionally, in winter, *L. botrana* is in its pupal stage covered with a cocoon that prevents the penetration of chemical pesticides. For this reason, the objective of this work was to control the pupal stage with a formulation based on the entomopathogenic fungus *Beauveria pseudobassiana* in urban areas.

Results: The strain RGM 1747 was identified as *B. pseudobassiana* by multilocus sequence analysis. The biocontrol activity of this formulated fungus against the infestation of vines with breeding pupae without cocoons showed 100% infection 21 days after inoculation under winter conditions. Finally, the biocontrol activity of the formulated fungus against natural infestations of *L. botrana* in winter in urban areas reached an efficacy of 51%. This result suggests that the *B. pseudobassiana* formulation is able to penetrate the cocoon and contributes to the integrated pest management of *L. botrana*.

Keywords: *Lobesia botrana*, *Beauveria pseudobassiana*, Integrated pest management

Introduction

Lobesia botrana (Denis and Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae), commonly known as the grapevine moth, occurs in Europe, Africa, Asia and in South America in countries such as Argentina and Chile [1], where the pest has been under the control of the Agricultural and Livestock Service (SAG, acronym in Spanish) since April 2008 [2]. The moth has spread to a wide range of regions in Chile from the Atacama region to the Araucanía region,

causing disease in grapes (*Vitis vinifera*) and other plant hosts such as blueberry (*Vaccinium corymbosum*) and plum (*Prunus domestica*) [3]. The primary damage caused by this species occurs through larval feeding on berries, dehydration of tissue and fruit rotting, which leads to a subsequent round of fungal diseases such as grape mold (*Botrytis cinerea*) [4]. Currently, farmers have achieved effective chemical control and mating disruption of this pest, but reinfection of vineyards is caused by small urban outbreaks that are not controlled. Additionally, climate change contributes to shortening of its reproductive cycles and leads to appropriate conditions for new outbreaks within a season. As an alternative to reduce pesticide use to preserve our environment, health

*Correspondence: etapia@prodigy.net

¹Laboratory of Entomology, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA La Pintana, Santa Rosa 11910, La Pintana, Santiago, Chile
Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2019. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

and nutrition, a goal is to use a formulation based on the entomopathogenic fungi (EPF) *Beauveria pseudobassiana* to control the pest in urban areas during its winter diapause.

Main text

Materials and methods

Biological material

All the pupae of *L. botrana* used for the in vitro and field trials were obtained from the breeding project of the Entomology Laboratory of INIA La Cruz. The strain *B. pseudobassiana* RGM 1747 was isolated from *Polistes gallicus* (Hymenoptera: Vespidae) and stored in the Bank of the Chilean Collection of Microbial Genetic Resources of INIA Quilamapu.

DNA extraction, PCR conditions and sequencing

The conidial DNA of strain RGM 1747 was extracted using the Quick DNA Fungal / Bacterial Kit (Zymo Research, CA, USA) following the manufacturer's instructions. The partial sequences amplified by PCR were for the *rpb1*, *rpb2*, *tef* and *Bloc* loci [5], which were sequenced at Macrogen (Seoul, South Korea). The DNA sequences determined for the four loci were submitted to the GENBANK Nucleotide Sequence Database under accession numbers MH048640, MH048641, MH048642 and MH048643 respectively.

Multilocus sequence analysis (MLSA) of *Beauveria* sp

Concatenated alignments were performed with MUSCLE for the *Bloc*, *tef*, *rpb1* and *rpb2* loci in 34 strains [6]. The evolutionary history was inferred using neighbor joining method [7] and the evolutionary distances were computed using the Tamura 3-parameter method [8]. The strength of the internal branches of the resulting trees was statistically evaluated by bootstrap analysis [9]. Finally, the evolutionary analyses were conducted in MEGA7 [10].

EPF formulation

The entomopathogenic fungi were spread over the surface of PDA (Difco™, NJ, USA) in a plate. The fungi were grown for 1 week at 25 °C, and the spores and hyphae produced were collected through the addition of 10 mL of PBS (pH 7.4) containing 0.05% Tween 20 (Merck, Darmstadt, Germany) to a plate. The conidial concentration was determined by counting in a Neubauer chamber and adjusted to 10⁶ conidia/mL. The formulation was generated to maintain the fungal biomass in the winter using 2.5% rice flour, 2.5% skim milk, 20% glycerol (Merck), 0.2% Silwet L-77 Ag (Arysta LifeScience, Santiago, Chile), 73.8% distilled water and 1% EPF at 10⁶

conidia/mL. All the components were mixed in a beaker at 300 rpm for 30 min.

In vitro EPF formulation evaluation against *L. botrana*

The assessment of the formulation was carried out in in vitro assays at 25 °C. One milliliter of the formulation mix was placed in the center of a paper disk that covered the bottom of a plate, and ten moth pupae were deposited on the paper. As a control, water was used instead of the formulation. The infection of pupae with EPF was monitored every day for 8 days. The experiment included three replicates.

Field trial

The assay was developed in the *V. vinifera* 'Red Globe' field at La Platina research station in the Metropolitan region of Santiago, Chile, in natural environmental conditions in July, during the winter. The field trial was arranged in a randomized block design with four treatments, each with four replications with three vines each (4 × 4 × 3). To infest the vines, ten pupae without cocoons per plant were deposited under the rhytidome, covered with a tulle mesh and fixed with adhesive tape to avoid dispersion of the pupae and the entry of other arthropods. The first treatment was performed using one application of the formulation. In the second treatment, we used two applications on days one and seven. In the third treatment, we performed applications during days one, seven and fourteen. The fourth treatment was the control using water. The EPF concentration for treatments one, two and three was 10⁵ CFU/L. The applications were performed with a hand pump, and wetting was performed with a volume of 500 mL per vine. Each treatment was inspected 7 days after each application. For the inspection of the infected pupae, we removed the pupae from under the rhytidome and deposited them in a plate containing a humid paper disk when the EPF had completed colonization. The evaluation of efficacy was performed over 48 h at 25 °C.

Urban trial

The assay was developed in *V. vinifera* plants located in urban residences in the Metropolitan region of Santiago, Chile, under natural environmental conditions in August, during the winter diapause of pupae with cocoons. The urban trial was arranged in a randomized block design with four treatments, each with three replications with three vines each (4 × 3 × 3). The distribution of the blocks in the urban area was set up according to the captures of the moths in pheromone (E7, Z9-dodecadienyl acetate) traps during the spring and summer by SAG. The treatments and the methodology for the application of the formulation and inspection of the vines were the same as those

described for the field trial. Finally, the pupae grown in cocoons with EPF were dissected to determine infection by the fungus. The pupae were dyed with lactophenol blue (Merck) to observe the penetration of the fungus into their structure.

Temperature and humidity data during the field and urban trials were collected through the weather station network (<https://agromet.inia.cl/>).

Statistical analysis

The efficacy of the formulation in vitro and in field trials was determined for uniform populations [11], and the efficacy in the urban trials was determined for nonuniform populations [12]. The percentages of efficacy in the field test and urban test were compared by Tukey's HSD test ($\alpha = 0.05$). All the experiments were analyzed using the software Statgraphics Centurion XVII (Statpoint Technologies Inc., VA, USA).

Results

Molecular species identification of an EPF isolate

The *Beauveria* sp. RGM 1747 strain was subjected to molecular characterization using MLSA methodology, which indicated that this strain belongs to the clade of *Beauveria pseudobassiana*, as shown in Fig. 1 and Additional file 1: Table S1. It was grouped with other strains that have been isolated from different insect orders and countries such as Hymenoptera in South Korea and Lepidoptera and Thysanoptera in the USA.

In vitro evaluation

Once the EPF formulation was prepared, in vitro infestation was carried out at 25 °C under high humidity. All the pupae were infected by the EPF with 100% efficacy by four dpa (Fig. 2a).

Field trial evaluation

The vineyard infestations were performed under controlled conditions with an average temperature of 9.1 °C and relative humidity of 78.3%. In the three treatments with the application of the EPF formulation, the development of incipient mycelia and conidia of *B. pseudobassiana* in different areas on the head and sutures of the pupa was observed. All the examined pupae were infected by *B. pseudobassiana*, which showed the capacity of the EPF to achieve colonization in winter conditions with an efficacy of 100% at 21 dpa (Fig. 2b).

Urban trial evaluation

We used the same formulation treatment as in the field trial, but the infestations of *L. botrana* were natural in this case. The average temperature and relative humidity in the assay were 8.4 °C and 73.7%, respectively. In

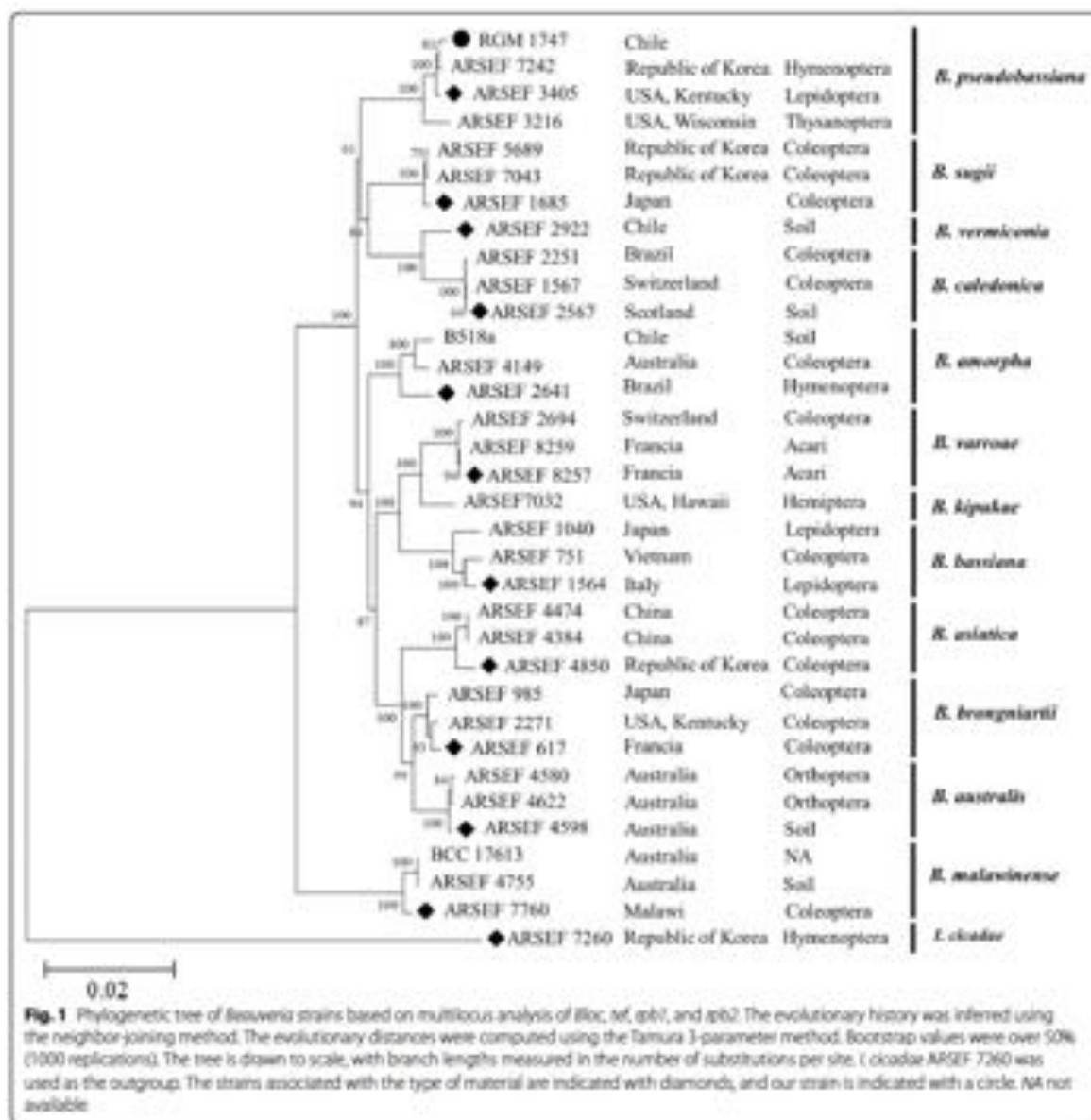
these assays, not all the examined pupae were infected by *B. pseudobassiana*. The efficacy reached 51% in the first treatment (Fig. 2c). The efficacy in the second and third treatments reached 15% and 13%, respectively. The pupae colonized by the EPF showed development of different levels mycelia and conidia of *B. pseudobassiana* in several areas on the head and sutures of the pupa when the cocoon was removed (Fig. 3).

Discussion

Based on the increasing interest in biological control, we identified and classified *B. pseudobassiana* RGM 1747 and compared its activity with that of other isolates from EPF-infected insects around the world that had already been sequenced (Fig. 1). In Chile, the strain RGM 1747 was isolated from *P. gallicus* and showed activity against *L. botrana* in this work. Additionally, Gerding et al. reported that this EPF showed no negative effect in bees and found that the fungus achieved control over *V. germanica* [13]. Furthermore, the use of biological products in winter stages reduces the possibility of cross-activity with beneficial arthropods due to a decrease in their activity during winter because of low temperatures and a lack of flowers. In Chile, there are no chemical and biological products for controlling the pupae during the winter. Therefore, the application of EPF in winter could be compatible with application of fungicides in spring within an IPM program for fungal disease control in grapes.

In the study of Cozzi et al. [14] determined the mortality of 6 EPF isolates on *L. botrana* larvae in vitro assay. The best strain, *B. bassiana* ITM 1559, showed a 55% mortality. Additionally, in field assays the incidence of bunches injured by *L. botrana* larvae were significantly reduced by this strain treatment, compared to the untreated control. In our study, the in vitro formulation evaluation achieved 100% efficacy in *L. botrana* due to the occurrence of all the conditions required for the EPF to colonize the pupae. However, we considered it necessary to perform field trials under the temperature and humidity conditions of July. This trial reached an efficacy of 100% and was considered representative of the behavior of the fungi because under the environmental conditions and oscillations in temperature and humidity that occurred in this trial.

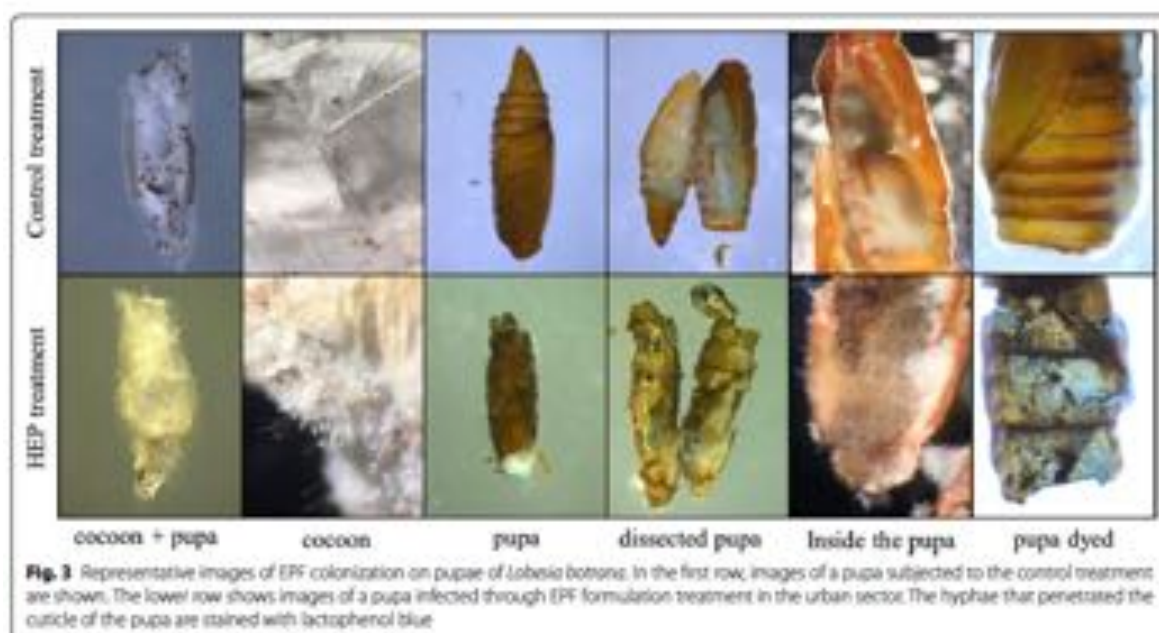
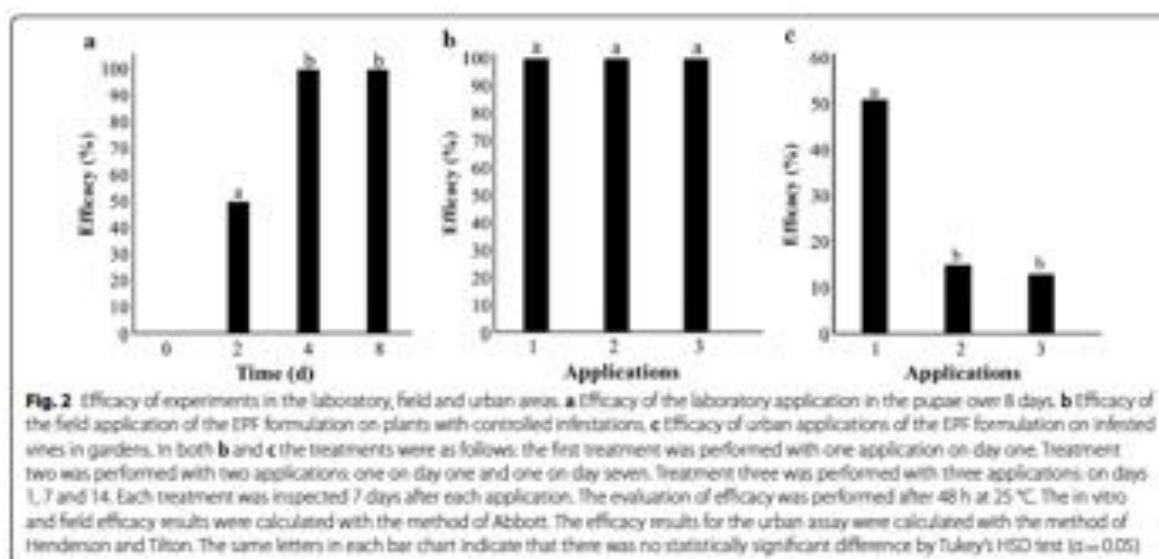
On the basis of the results of the field trial, we assessed an assay conducted in urban zones during August. The primary barrier to the EPF is the cocoon, which provides natural protection against pathogens and arthropods. In this case, the efficacy reached 51% using only one application. The pupae from the urban zones showed hypha and conidia on the cocoons and between the sutures of the pupae. This result demonstrated the ability of the fungus



to penetrate the cocoon and colonize the pupa (Fig. 3). The other treatments in which we performed two and three applications did not show significant differences (15% and 13% efficacy, respectively). In addition to the decrease in efficacy caused by the cocoon in all the treatments, another possible explanation for this difference is that during the first application, the EPF consumes most of the carbon sources and proteins from the pupae and the formulation, but after seven dpa, opportunistic fungi such as *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. and *Rhizopus* sp. begin to appear (observations of urban samples). These

fungi may have taken advantage of the components of the formulation and reduce the efficacy of the product.

In conclusion, we achieved an efficiency of 51% with one application of EPF formulation in urban areas to control the pest during its winter diapause. Additionally, the formulation is useful in fruit crops because pollinators and antifungal chemical applications are not encountered in the field. Finally, possible annual applications in urban and rural zones contribute to the control of *L. botrana* in the country in combination with other IPM strategies.



Limitations

To improve the formulation, it will be necessary to examine its components and different concentrations thereof to increase their efficacy. We will need to perform a series of urban trials over time to optimize the use of the EPF.

Supplementary Information

Supplementary Information accompanies this paper at <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4584-6>.

Additional file 1: Table S1. The table shows the partial sequences (B0c, B0f, B0I and B0J) along with their access numbers plus the percentages of identity and coverage. These sequences were used to perform the MUSA.

Abbreviations

CFU: colony-forming units; IPM: integrated pest management; dpi: days post application; EPF: entomopathogenic fungus.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge the farmers, urban residents and the National Program of Lobesia botrana, SAG. Special thanks to FIA (Fundación para la Innovación Agraria in Spanish) for supporting this research project PYT-2017-0182 and all the members of the entomology laboratory of INIA La Plátina.

Authors' contributions

FA generated the GFP formulation, performed molecular analysis and in vitro assays, and contributed with the writing of the paper. NDJ, PE, and NV performed the field and urban trials. RS analyzed the pupae in the urban areas. PR and SS analyzed and isolated the GFP from the samples. ET conceived the study and the experimental design, dissected and stained the pupae and wrote the paper. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

The research was funded by the Fundación para la Innovación Agraria (FIA) within the framework of research lines for sustainable agriculture and climate change. The code of the project is PYT-2017-0182. We confirm that the funding institution was not involved in either the design of the study, analysis and interpretation of data or in writing the manuscript.

Availability of data and materials

All amplified DNA fragments from the *Besseyella* isolate were registered in NCBI GenBank and are available in Additional file 1: Table S1. The isolate of *B. pseudobesseyella* was deposited in the Chilean Collection of Microbial Genetic Resources, International Depository Authority, with the Access Number RGM 1742.

Ethics approval and consent to participate

Not applicable.

Consent of publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author details

¹ Laboratory of Entomology, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA La Plátina, Santa Rosa 11610, La Pintana, Santiago, Chile. ² Laboratory of Phytopathology, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA La Plátina, Santa Rosa 11610, La Pintana, Santiago, Chile. ³ Laboratory of Entomology, Servicio Agrícola Ganadero, Las Sophoras 120, Estación Central, Santiago, Chile.

Received: 9 July 2019 Accepted: 20 August 2019
Published online: 28 August 2019

References

- CABI: *Lobesia botrana* (grape berry moth). <https://www.cabi.org/ncic/data/hen/42794>. 2018. Accessed 28 Dec 2018.
- SAG. (2017). *Lobesia botrana* o polilla del racimo de la vid. 2017. <https://www.sag.gob.cl/remedios-de-accion/lobesia-botrana-o-polilla-del-racimo-de-la-vid>. Accessed 28 Dec 2018.
- González RH. Biología y Manejo Fitosanitario de la Polilla Mediterránea, *Lobesia botrana* (D. & S.) y de otras polillas de la vid en Chile (Lepidoptera: Tortricidae). Chile: Universidad de Chile Facultad de Ciencias Agronómicas Departamento de Sanidad Vegetal; 2014.
- Giligan TM, Epstein ME, Pascoe SC, Powell JA, Sage OC, Brown JR. Discovery of *Lobesia botrana* (Dent & Schiffenbauer) in California: an invasive species new to North America (Lepidoptera: Tortricidae). *Proc Entomol Soc Wash*. 2011;113:14–30.
- Rahner SA, Minnes AM, Sung GH, Luangsa-ard JJ, Devotto L, Humber RA. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Besseyella*. *Mycologia*. 2011;103:1053–73.
- Edgar RC. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res*. 2004;32:1792–7.
- Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*. 1987;4:406–25.
- Tamura K. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G + C content biases. *Mol Biol Evol*. 1992;9:512–26.
- Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*. 1985;39:783–91.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol*. 2016;33:1870–4.
- Abbott WS. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Econ Entomol*. 1925;18:265–7.
- Henderson CE, Tilton FW. Tests with acaricides against the brown wheat mite. *J Econ Entomol*. 1955;48:157–67.
- Gerdung M. Control Biológico de *Atrypa Chacoana* Amarilla (*Vespula germanica*) con hongos entomopatógenos. In: Estay P, Ripa R, Gerdung M, Araya J, Cukovic T, editors. Manejo Integrado de la *Atrypa Chacoana* Amarilla (*Vespula germanica*) (Fabricius) (Hymenoptera: Vespidae). Chile: Boletín No 174, INIA; 2008. p. 41–49.
- Cozzi G, Somma S, Hradukowski M, Lognecio AF, Ochiatoen A. Management in vineyards by *Lobesia botrana* biocontrol. *Toxins*. 2013;5:49–59.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and higher citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions





INIA



FICHA TÉCNICA

36

2020

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS – INIA La Plátina

Plagas en vides

Propuesta de manejo integrado para control de *Lobesia botrana*, empleando hongos entomopatógenos y bacterias

Fabíola Abimón R. / Paulo Godoy C. / Nancy Witta R. / Eduardo Tapia R.
info@inia.cl

Lobesia botrana, comúnmente llamada polilla de la vid, es una plaga cuarentenaria bajo control oficial del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) desde el año 2008 en Chile. Se encuentra presente desde la región de Atacama hasta la Antártica, afectando principalmente a las vides, arándanos y ciruelas.

Estrategia de manejo

Para un manejo sustentable de esta plaga se requieren estrategias de control amigable con el medioambiente, siendo una buena alternativa el empleo de hongos entomopatógenos (*Beauveria* sp. y *Mecanarium* sp.) (Figura 1 y 6) y de bacterias (*Bacillus thuringiensis*) (Figura 7). Para lograr esto, en el proyecto de "bioplaguicidas para el control de *L. botrana* (PFI-2017-0082)" ejecutado por INIA y SAG, y apoyado por FIA, se seleccionaron las mejores cepas de HEP en base a su facilidad de producción a gran escala y por su eficacia sobre pupas en ensayos *in vitro*. Posteriormente, se realizaron aplicaciones de bioplaguicidas de los hongos *Beauveria pseudobasiliana* (cepa HEP 1) y *Mecanarium robertii* (cepa HEP 2), sobre la plaga en estado de pupas en su diapausa de invierno y de *Bacillus thuringiensis* (producto comercial) en estado de larva (L1).

Resultados

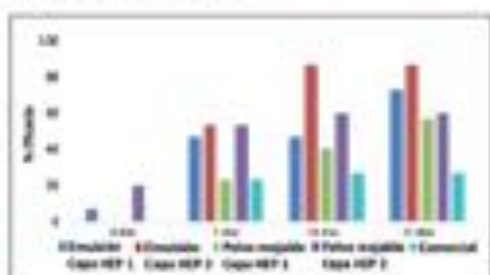
Las eficacias obtenidas por los HEP en ensayos de campo, en las regiones Metropolitana (Figura 2) y O'Higgins (Figura 3) oscilaron entre 50% y 80% en invierno y se redujeron las capturas de *L. botrana* en las regiones mencionadas entre un 50% y 90% (Figura 4 y 5). Complementariamente, la eficacia de las aplicaciones de *B. thuringiensis* varió de 55% a 85% en primavera. Finalmente, los resultados

entomología

dieron origen a una propuesta de manejo integrado compatible con las estrategias existentes, permitiendo una producción de vid sustentable y amigable con el medio ambiente (Figura 7).



Figura 1. Ciclo de vida y desarrollo de un hongo entomopatógeno (HEP), sobre una pupa de *L. botrana*. Secuencialidad de los pasos de infección y colonización desde la adherencia de la esporula a la cutícula, la captación de la pupa hasta la emergencia del hongo.



Tratamiento	Invernal (Metropolitana)	Invernal (O'Higgins)	Primavera (Metropolitana)	Primavera (O'Higgins)	Comercial
HEP 1	~55%	~65%	~75%	~85%	~70%
HEP 2	~45%	~55%	~65%	~75%	~60%
B. thuringiensis	~55%	~65%	~75%	~85%	~70%

Figura 2. Eficacia de los tratamientos por temporada y región (Metropolitana) después de la aplicación de insecticidas por temporada (Invernal y Primavera) Metropolitana de abril a mayo de 2019. *B. pseudobasiliana* cepa HEP 1 y *M. robertii* (cepa HEP 2).

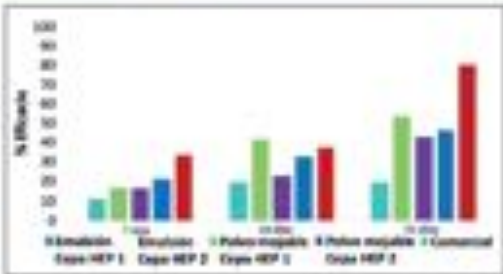


Figura 3. Evolución de los tratamientos por *ry* T después de la aplicación de transposón en Huelva, junio-agosto de 2014.

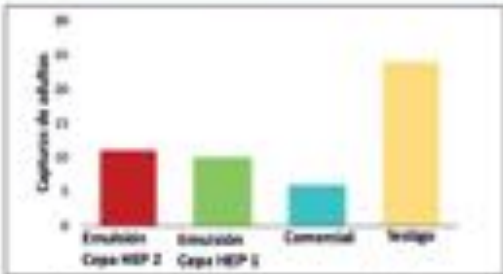


Figura 5. Captura de adultos de *A. baumannii* en campos de trébol, por quincena de muestreo en Chile y Perú. Fuente: Solicitud de O' Higgins, 2018.

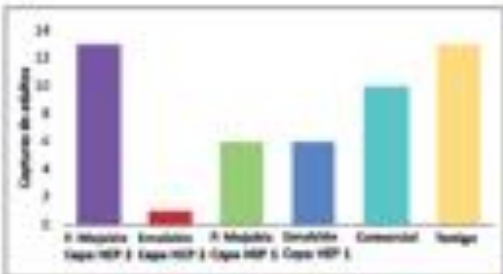


Figura 4. Capturas de adultos de *L. jathra* en trampas de feromonas, por estación de muestreo en Mol. La Piedad, La Piedad, Nayarit, México (año 2018).



Figura 8. Indígenas mapuche de la zona de Villarrica, Chile, con sus hijos. A la izquierda la primera y segunda fila se muestran indígenas de una zona del noroeste control y tratado con AGP respectivamente. Ambos grupos se alimentaron con maíz y papas. Los niños que poseen una talla de la parte superior son de la zona de Villarrica (tratamiento de Villarrica et al. 2015b). Los niños de la zona de Villarrica (tratamiento de Villarrica et al. 2015b) son de la zona de Villarrica.



Figura 3. Propuesta de integración de manejo integrado de plagas para el control de *V. destructor* con resultados de los porcentajes de eficacia presentados nos permiten inferir que el uso de fungos entomopatógenos, es una contribución para el control integral de las plagas de la pulga de la lana y además, son compatibles con el control biológico con *C. rosalia*.

INIA, más de 55 años
aportando al sector agroalimentario nacional
Permanente (comprende de social o por el de esta publicación cuando tiene y así)
Más información: Eduardo Fabris, INIA-LaPlata@agropecuaria.gov.ar
www.inia.gov.ar





Plaguicidas microbianos para el manejo integrado de Lobesia botrana en vides

Editores: Evelyn Silva-Moreno y Eduardo Tapia.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS



Presentaciones



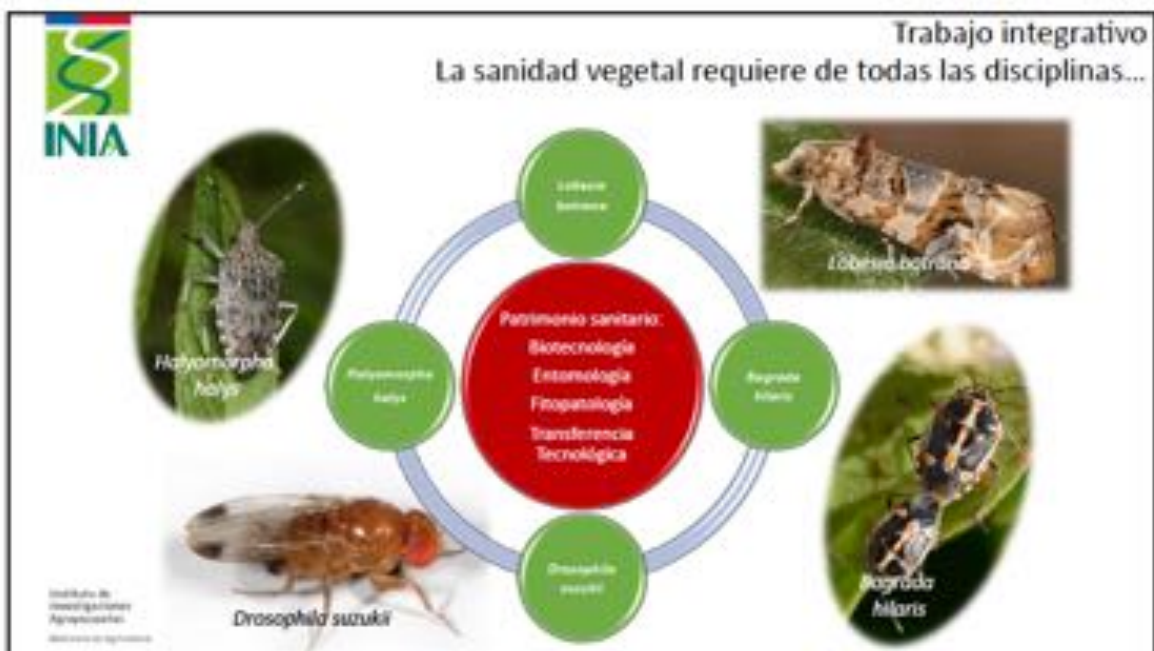
Desarrollo de una estrategia de manejo integrado para *Lobesia botrana*: hongos entomopatógenos y *Bacillus* al servicio de la agricultura sustentable.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIA)
Dr. Eduardo Tapia Rodríguez
Chilau, 06, octubre, 2008



CHILE LO HACEMOS TODOS

1



2



¿Qué hace hoy INIA con los hongos entomopatógenos? Ejemplo: HEP vs plagas de frutales y hortalizas.

Trabajo del equipo INIA



Obtención de hongos entomopatógenos desde el banco de microorganismos de Bt/Gutierrez.



INNOVACIÓN:

- Selección bioquímica (Enzimas, péptidos, metabolitos) y molecular (análisis multibases, secuenciación, bioinformática de identificación y clasificación).
- Diseño y escudo de procesos de microorganismos a masas (pruebas de concepto en laboratorio, pre-campo y campo).
- Formulación de biopesticidas: Polvos mojados, granulados y emulsiones inermas.
- Control de calidad de bioinsumos.



INNOVACIÓN:

- Transferencia tecnológica a los usuarios de los biopesticidas.
- Implementación de manejo integrado de plagas.
- Eficacia de biopesticidas en campo.
- Reducción de interacción de biopesticidas con el ambiente (enemigos naturales y otras plagas).

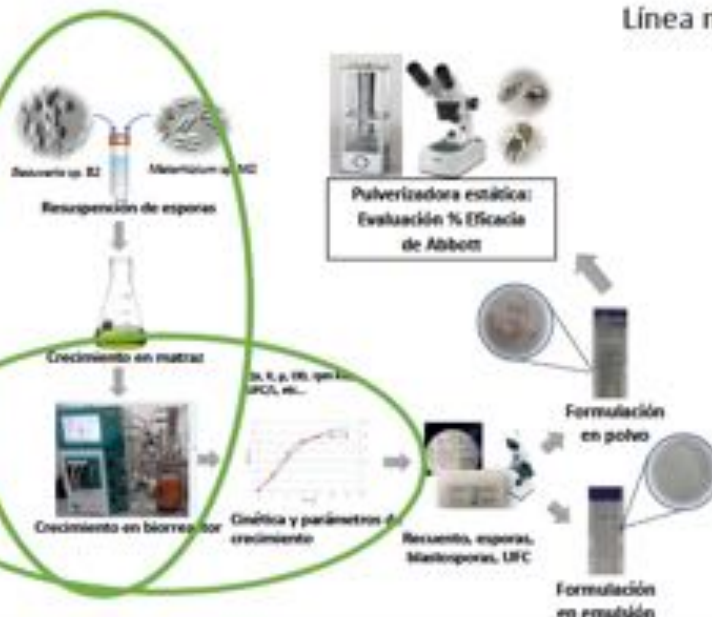
Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

3



Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

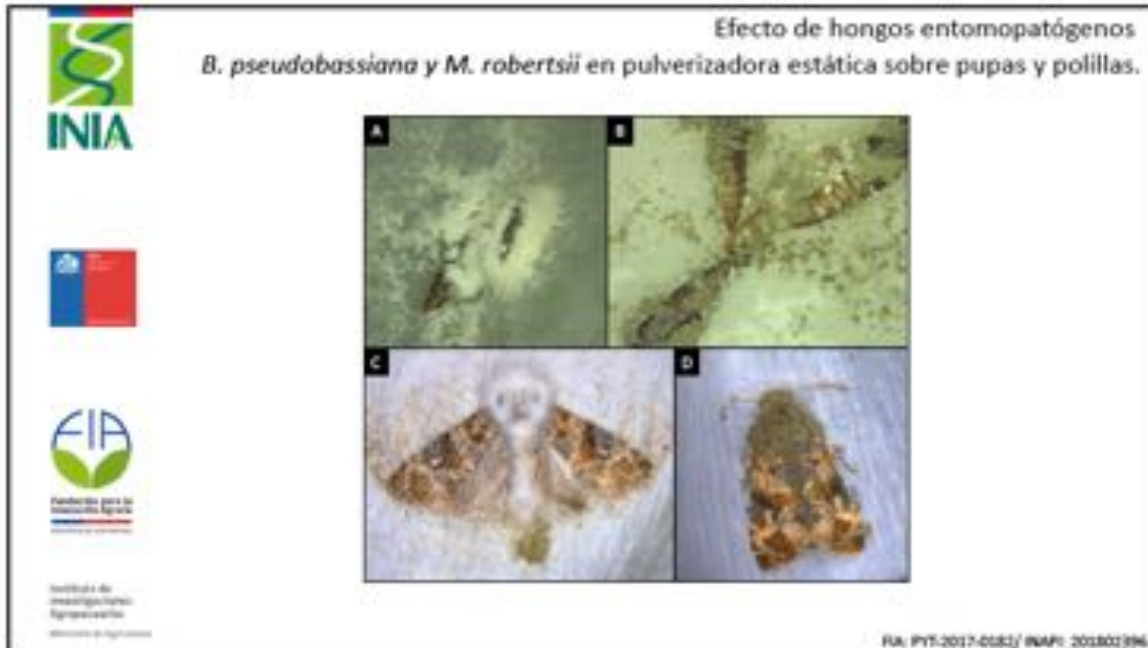
Línea metodológica



4



7

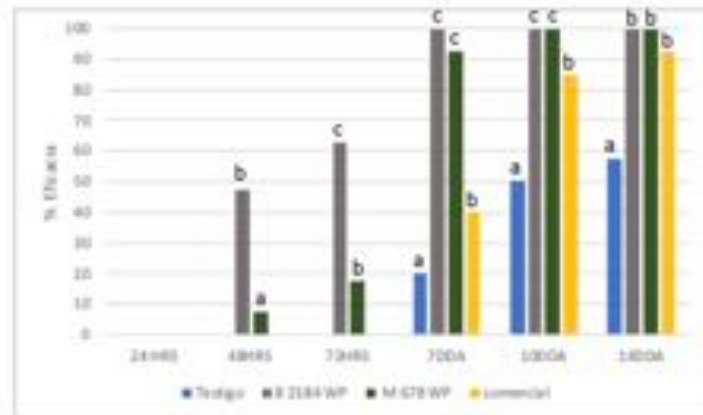


8



Instituto de Investigaciones Agrícolas
Ministerio de Agricultura

Evaluación de polvos mojables de *B. pseudobassiana* y *M. robertsii* en pulverizadora estática. Eficacia (Abbott)



Las letras indican que hay diferencias significativas (comparación estadística LSD ($\alpha=0,05$)).

A partir de los 2 de inoculación la eficacia de la *B. pseudobassiana* 2184 fue significativamente mayor

FIA: PYT-2017-0182/ INAPI: 201801396

9



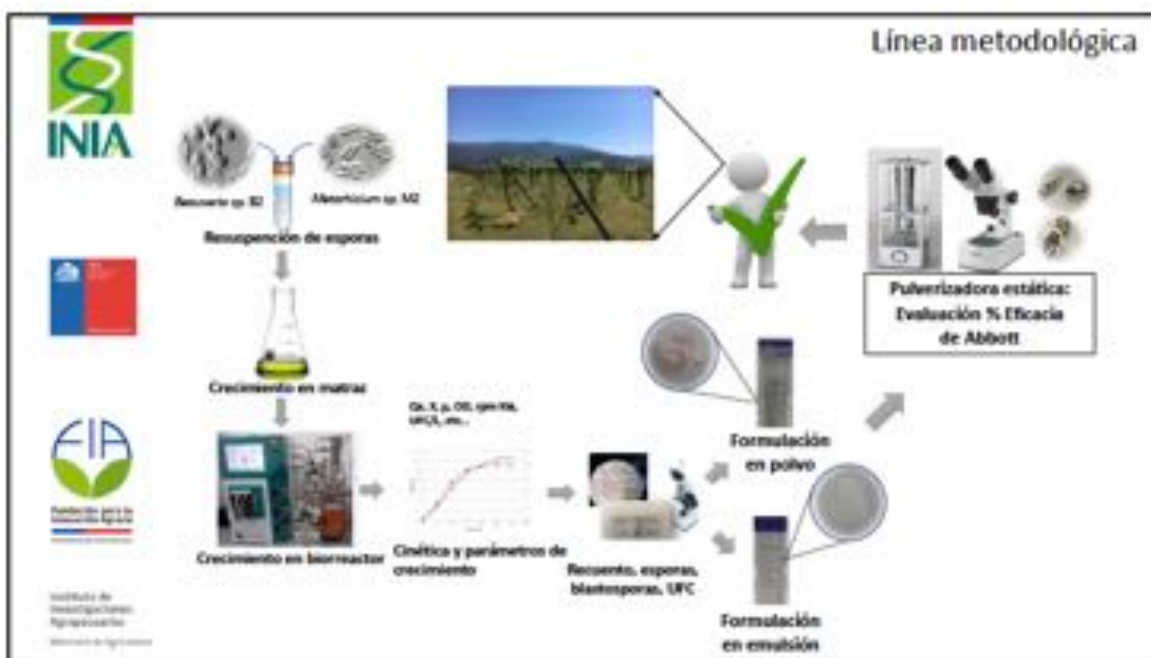
Instituto de Investigaciones Agrícolas
Ministerio de Agricultura

Ejemplo: polvo mojabable de *B. pseudobassiana* en pulverizadora estática sobre pupas de *L. botrana*.



FIA: PYT-2017-0182/ INAPI: 201801396

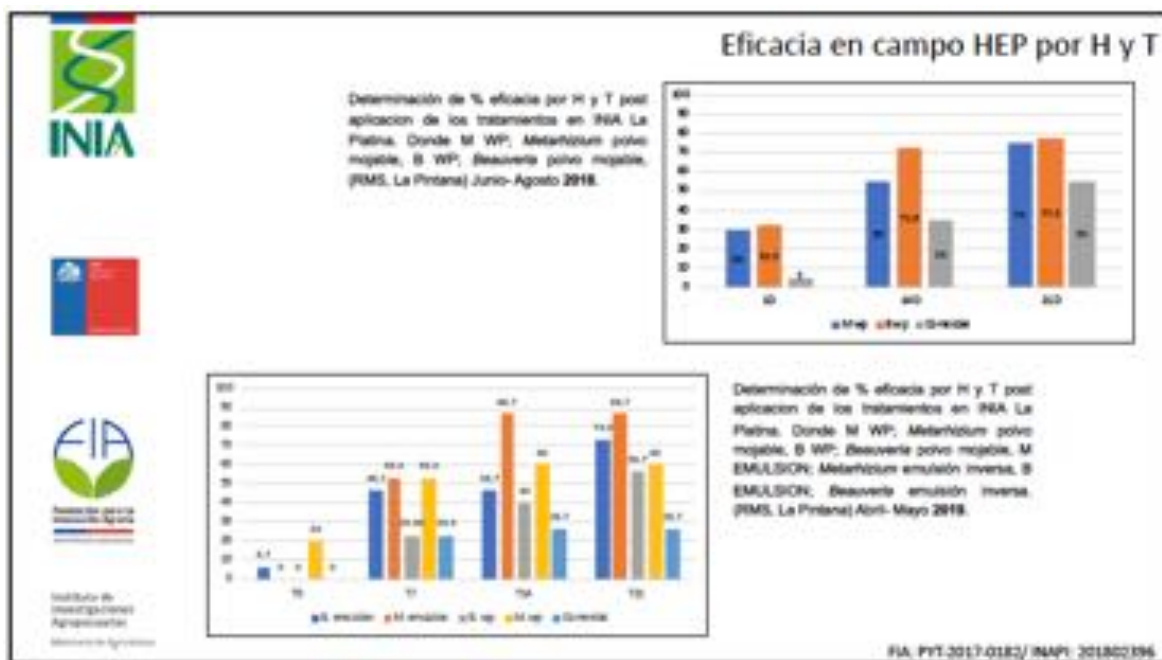
10



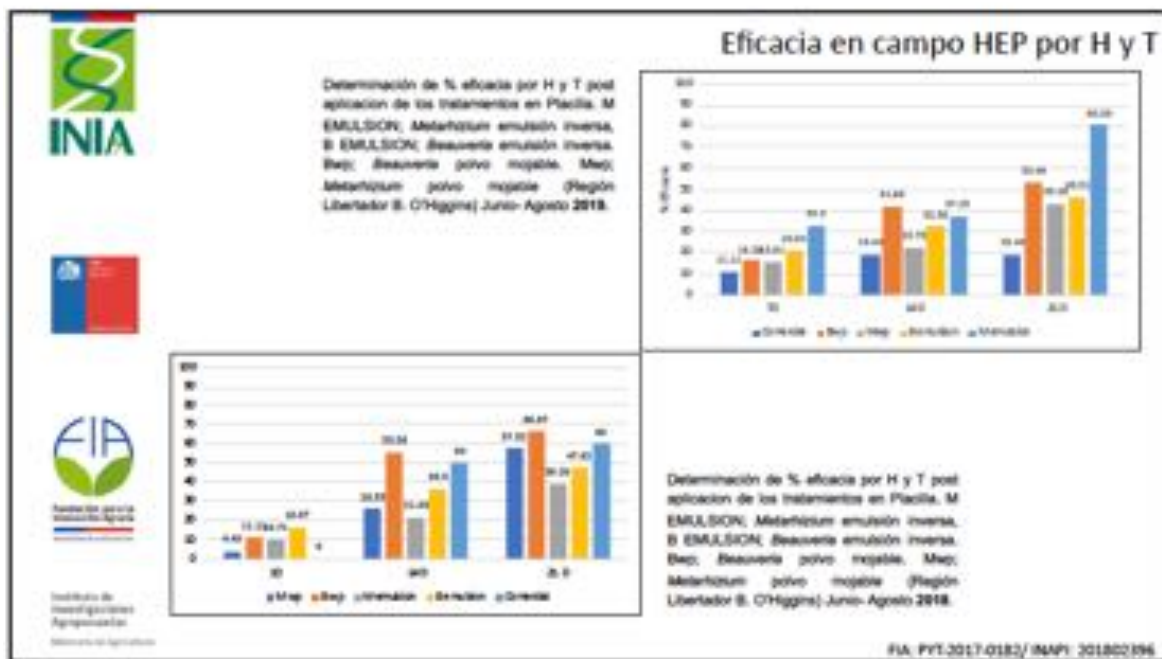
11



12



13



14



Resultados de evaluación de temporada invernal 2018 en sectores de RMS y O'Higgins Capturas en trampas pegajosas y feromona.



Instituto de Investigaciones Agrícolas
Ministerio de Agricultura

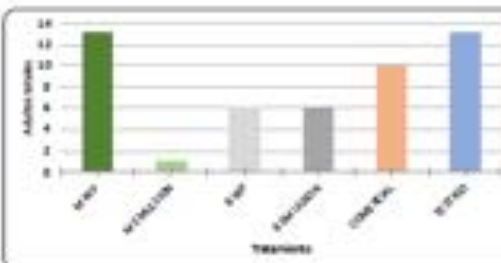


FIA, PYT-2017-0182/ INIAPI: 201803196

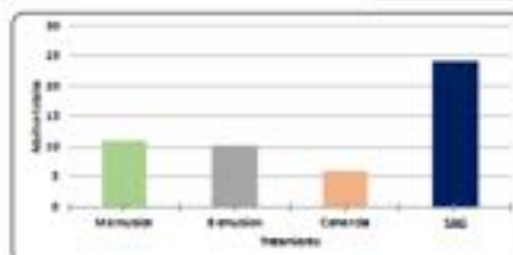
15



Captura de adultos de *Lobesia botrana* en trampas de feromonas, post aplicación de los tratamientos en INIA La Pintana. Donde M WP; Metatidum polvo mojable, B WP; Beauveria polvo mojable, M EMULSION; Metatidum emulsión inversa, B EMULSION; Beauveria emulsión inversa (FBI, La Pintana) Sept.-Oct 2018.



Instituto de Investigaciones Agrícolas
Ministerio de Agricultura



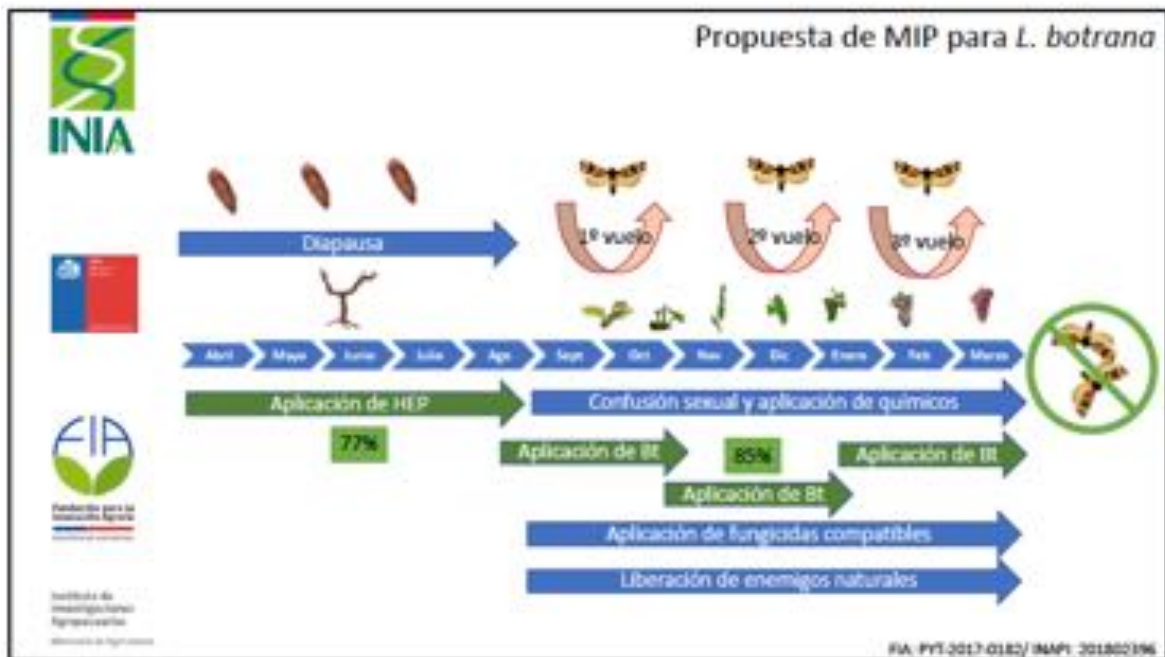
Captura de adultos de *Lobesia botrana* en trampas de feromonas, post aplicación de los tratamientos en Fundo San Luis de Marantales. M EMULSION; Metatidum emulsión inversa, B EMULSION; Beauveria emulsión inversa (Región Libertador B. O'Higgins, Placilla) Sept.-Oct 2018.

FIA, PYT-2017-0182/ INIAPI: 201803196

16



17



18

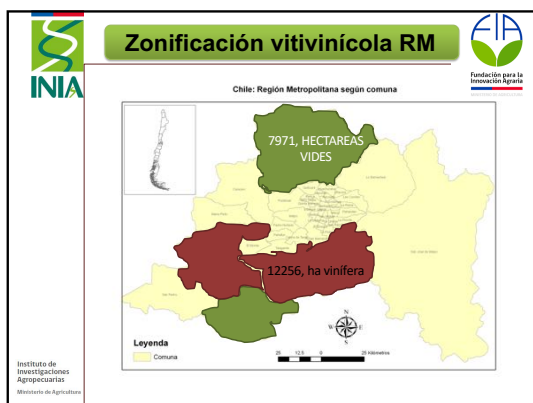


Gracias por su tiempo

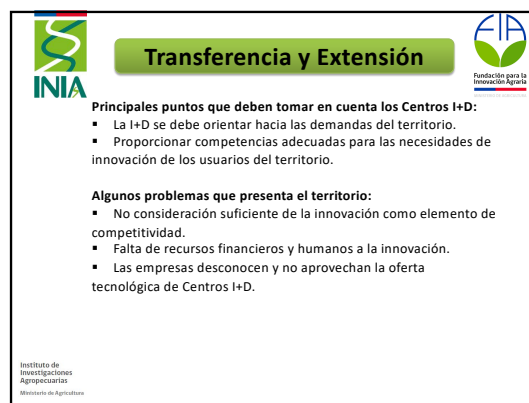
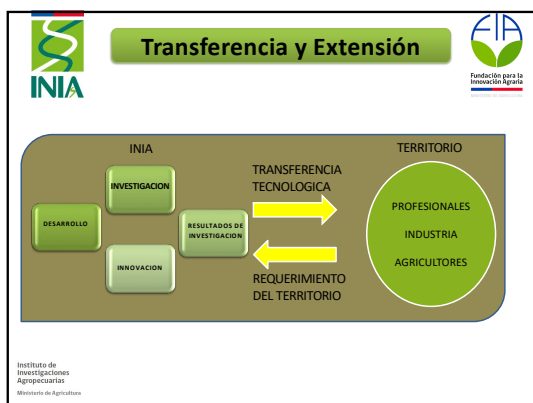
Desarrollo de una estrategia de manejo integrado para *Lobesia botrana*: hongos entomopatógenos y *Bacillus* al servicio de la agricultura sustentable.
 Financiado por FIA (PYT-2017-0182) y convenios privados.
 INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIA)
 Dr. Eduardo Tapia Rodríguez
 Chillán, 02 octubre, 2018



CHILE LO HACEMOS TODOS



COMUNA	VINÍFERA BLANCA	VINÍFERA TINTA	TOTAL
ALHUE	11,98	436,68	448,66
BUIÑ	2,61	1653,56	1656,17
CALERA DE TANGO		90,48	90,48
COLINA		9,85	9,85
CURACAVI	0,49	44,07	44,56
EL MONTE	29,26	188,76	218,02
ISLA DE MAIPO	486,01	1653,19	2139,2
LA PINTANA	1,52	157,15	158,67
LAMPA	18	275,58	293,58
MAIPU	33		33
MARIA PINTO	82,85	394,32	477,17
MELIPILLA	309,13	1329,42	1729,15
PADRE HURTADO		68,4	68,4
PAINE	66,37	1458,92	1525,29
PENALOLEN	8,39	138,85	147,24
PENALFLO	4,58	10,08	14,66
PIRQUE	205,13	742,31	947,44
PUDAHUEL			0
PUENTE ALTO	25	295,03	320,03
RENCA		53,1	53,1
SAN BERNARDO	7,63	576,17	583,8
SAN PEDRO	42,09	906,82	948,91
TALAGANTE	108,48	136,01	244,49
TIL-TIL		103,78	103,78
Total general	1500,12	10756,43	12256,55



Socialización del proyecto				
Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes*	
11 Agosto 2017	Prodesal Isla de Maipo	Socialización proyecto agricultores en Prodesal Isla de Maipo	17	
8 Sept 2017	Salón Parroquial, Isla de Maipo	Seminario Lanzamiento Proyecto	37	
13 Oct 2017	Viña Tarapacá, Isla de Maipo	Socialización proyecto Viña Tarapacá	5	
13 Oct 2017	Viña Santa Ema, Isla de Maipo	Socialización proyecto Viña Santa Ema, Isla de Maipo	6	
13 Oct 2017	Viña Las Mercedes, Isla de Maipo	Socialización proyecto Viña Las Mercedes, Isla de Maipo	4	
18 Oct 2017	Viña Chateau Potrero Seco, Talagante	Socialización proyecto Viña Chateau Potrero Seco, Talagante	3	
08 Nov 2017	Exportadora Quintay	Socialización proyecto	3	



TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA				
DÍA	GTT	LUGAR	INTEGRANTES (N°)	
11 agosto 2017	Lobesia botrana Lampa	Salon Prodesal Lampa	15	
24 enero 2018	Lobesia botrana Isla de Maipo	Casona Isla de Maipo	17	

Actividades de Campo GTT Lobesia botrana Isla de Maipo					
N°	GTT	ACTIVIDAD	N° HOMBRES	N° MUJERES	TOTAL
1	Isla de Maipo	Constitución Grupo GTT Lobesia botrana	7	10	17
		"metodología para el establecimiento de unidades de validación"	2	9	11
		"resultados obtenidos hasta la fecha en control invernal de la plaga Lobesia botrana"	2	9	11
		"identificación de la plaga, de los distintos estadios de Lobesia botrana (Huevo, Larva, Pupa, adulto)"	2	9	11



GTT Lobesia botrana Isla de Maipo					
N°	GTT	ACTIVIDAD	N° HOMBRES	N° MUJERES	TOTAL
1	Isla de Maipo	"Formulación de bioplaguicidas: Polvos mojables, granulados y emulsiones inversas"	2	9	11
		"Implementación de manejo integrado de plagas"	2	9	11
		"Eficacia de bioplaguicidas en campo"	2	9	11



CAPACITACIONES GRUPO ISLA DE MAIPO







Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura





Actividades de Campo GTT *Lobesia botrana* Lampa



N°	GTT	ACTIVIDAD	N° HOMBRES	N° MUJERES	TOTAL
2	Lampa	Constitución Grupo GTT <i>Lobesia botrana</i>	10	6	16
		"metodología para el establecimiento de unidades de validación"	10	2	12
		"resultados obtenidos hasta la fecha en control invernal de la plaga <i>Lobesia botrana</i> "	10	2	12
		"identificación de la plaga, de los distintos estados de <i>Lobesia botrana</i> (Huevo, Larva, Pupa, adulto)".	10	2	12



Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura





CAPACITACIONES GRUPO LAMPA







Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura





UNIDADES DE VALIDACIÓN



DIA	UNIDAD DE VALIDACIÓN	LUGAR/ENTIDAD
21 de junio 2018	unidad de validación La Platina	INIA
27 de junio 2018	unidad de validación Alberro Silva	PLACILLA
13 de julio 2018	unidad de validación Andrea Rubio	LAMPA
18 de julio 2018	unidad de validación Washington Rubio	LAMPA
25 de sept. 2018	unidad de validación Agrícola Jorge Peña Vial	PEÑALOÉN



Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura







Frutal	Vid de mesa, Variedad Red Globe
Objetivo General	Validar las tecnologías de biocontrol con HEP, para el control invernal de pupas <i>Lobesia botrana</i>
Nombre del productor	INIA, La Platina
Ubicación	Av Santa Rosa 11610. La Pintana.
Geo-referenciación	33°34'17.12"S 70°37'33.18"O



Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura







Frutal	Vid vinifera, Cabernet Sauvignon
Objetivo General	Validar las tecnologías de biocontrol con HEP, para el control invernal de pupas <i>Lobesia botrana</i>
Nombre	Agrícola Jorge Peña Vial
Ubicación	Av Quilín 8400, Peñalolén
Geo-referenciación	33°30'03"S 70°33'32"W



Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura







Frutal	Vid de Mesa Variedad Pais
Objetivo General	Validar las tecnologías de biocontrol con HEP, para el control invernal de pupas Lobesia botrana
Nombre del productor	Whashington Rubio
Ubicación	Manuel Rodríguez 329
Geo-referenciación	33°16' 38.27"S 70°53' 07.62"O

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
 Ministerio de Agricultura

Fundación para la Innovación Agraria





Frutal	Vid de Mesa Variedad Pais
Objetivo General	Validar las tecnologías de biocontrol con HEP, para el control invernal de pupas Lobesia botrana
Nombre del productor	Andrea Rubio
Ubicación	Barros Luco 1699
Geo-referenciación	33°16' 52.79"S 70°52' 22.37"O

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
 Ministerio de Agricultura

Fundación para la Innovación Agraria





Frutal	Vid de Mesa Variedad Pais
Objetivo General	Validar las tecnologías de biocontrol con HEP, para el control invernal de pupas Lobesia botrana
Nombre del productor	Alberto Silva
Ubicación	Camino los Manantiales S/N
Geo-referenciación	34°36' 48"S 71°05' 23"W

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
 Ministerio de Agricultura

Fundación para la Innovación Agraria

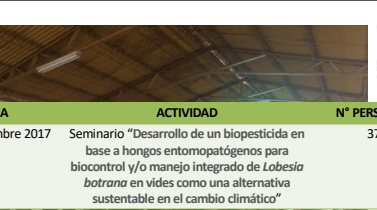




SEMINARIOS DE DIFUSIÓN

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
 Ministerio de Agricultura

Fundación para la Innovación Agraria


DIA	ACTIVIDAD	N° PERSONAS
08 septiembre 2017	Seminario "Desarrollo de un biopesticida en base a hongos entomopatógenos para biocontrol y/o manejo integrado de Lobesia botrana en vides como una alternativa sustentable en el cambio climático"	37



Instituto de Investigaciones Agropecuarias
 Ministerio de Agricultura

Fundación para la Innovación Agraria



¿Y ahora qué sigue?



- Capacitación Profesionales
- Evaluación Productores
- Fichas Técnicas
- Publicaciones
- Patentamiento

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
 Ministerio de Agricultura

Fundación para la Innovación Agraria



INIA

RESULTADOS



Fundación para la
Innovación Agraria

- 4 producto HEP para control invernal de *Lobesia botrana*
- 32 Agricultores capacitados
- 9 tematicas de capacitación
- 5 Unidades de Validación
- 1 Ficha Técnica de *Lobesia botrana*
- 1 Seminario de Difusión

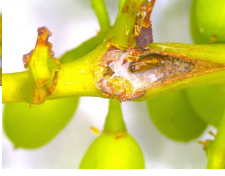
Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



INIA

¡Gracias por su atención!





Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Transferencia Tecnológica de Biopesticidas INIA, una oportunidad real de mitigación de la plaga en zonas urbanas

INIA LA PLATINA
Santiago, 23 de Abril 2019
Paulo Godoy, Ing. Agrónomo, UVTT Región Metropolitana
Email: paulo.godoy@inia.cl

Alvaro Garrido, SAG PNLb.

SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO



Subdepartamento
Programa Nacional de *Lobesia botrana*

Departamento de Sanidad Vegetal
División de Protección Agrícola y Forestal
SAG

Programa Nacional *Lobesia botrana*
Antecedentes generales

Lobesia botrana (Den. y Schiff.) es una polilla que ataca principalmente las flores y racimos de las plantas de Vid.

Pertenece a la familia Tortricidae.

Insecto Holometábolo, es decir pasa por los estados de huevos, larva, pupa y adulto.

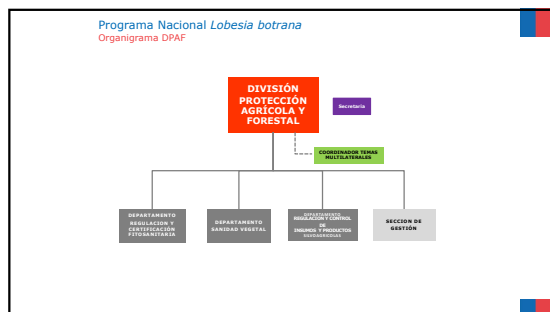



Programa Nacional *Lobesia botrana*
Antecedentes generales

Distribución de la plaga
Es originaria de Europa.



Su primera detección en América fue en Chile en abril de año 2008, y a la fecha la plaga está en control oficial registrada para Uva, Arándanos y Ciruelos.



Programa Nacional *Lobesia botrana*
Departamento Sanidad Vegetal



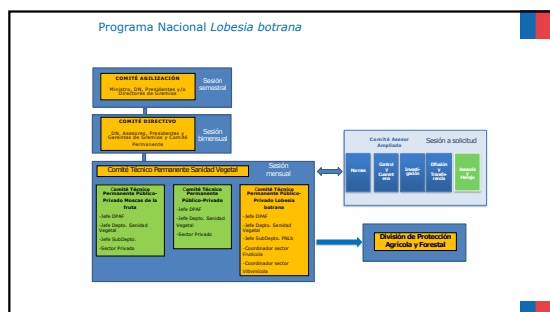
Sub-departamento de Vigilancia y Control de plagas Agrícolas.

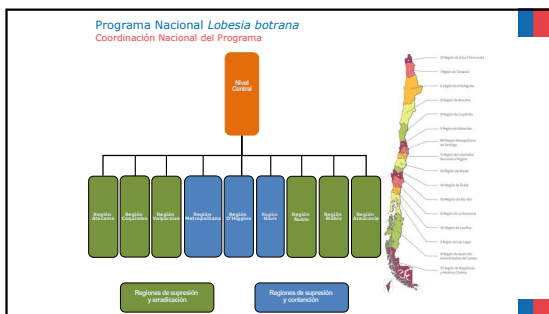
Sub-departamento de Vigilancia y Control de plagas Forestales.

Sub-departamento Programa Nacional de Moscas de la fruta.

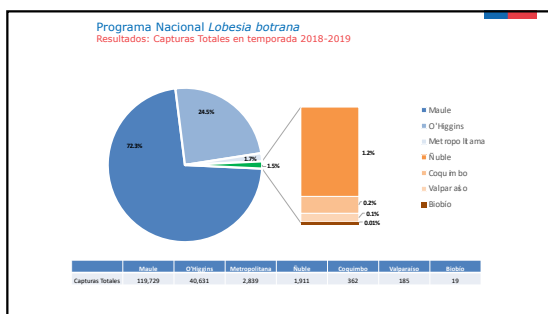
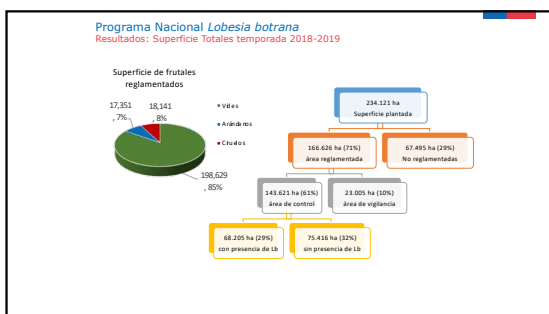
Sub-departamento de Programa Nacional de *Lobesia botrana*.

Sección de Inteligencia Fitosanitaria.





- Programa Nacional *Lobesia botrana***
Componentes del programa
- Vigilancia (trampas de feromonas y prospecciones en campo).
 - Control predial y Urbano.
 - Fiscalización de las medidas de Cuarentena Interna.
 - Supervisión y apoyo al plan de Investigación Nacional liderado por INIA.
 - Participación activa de sector privado, expertos nacionales y académicos en mesas de trabajo público-privadas.



- Programa Nacional *Lobesia botrana***
Vigilancia: trampeo
- Objetivos:**
- Para determinar la presencia y distribución.
 - Para evaluar el resultado de las medidas de control que se han adoptado.
-
- Trampas (vigilancia adultos)

- Programa Nacional *Lobesia botrana***
Sistema Nacional Trampeo
- Nivel Central**
- Directrices generales del programa.
 - Información (contrapartes internacionales).
 - Lineamientos técnicos, Instructivo del Sistema Nacional Trampeo (en proceso de actualización)
 - Densidad de trampas.
 - Hospedantes.
 - Frecuencia revisión.

Programa Nacional *Lobesia botrana*
Distribución de trampas.

REGION	VID	ARÁNDANO	CIRUELO	TOTAL
Atacama	816	1	0	1.052
Coquimbo	2.010	64	3	2.909
Valparaíso	2.647	70	16	3.407
Metropolitana	893	19	315	1.737
O'Higgins	2.143	240	753	4.649
Maule	1.894	823	121	3.500
Bío-Bío	299	341	0	1.166
Ñuble	1.104	530	3	1.971
Araucanía	53	478	2	1.690
Los Ríos	6	172	0	290
Los Lagos	6	122	1	311
Total 2018/19	11.871	2.860	1.214	15.945
Total 2017/18	14.249	3.053	1.247	18.549
Total 2016/17	17.688	3.134	1.318	22.140

Programa Nacional *Lobesia botrana*
Vigilancia: Prospección.

- Objetivos:
- Contribuir a establecer la distribución de la plaga en Chile.
 - Verificar el éxito de las medidas de control adoptadas en el Programa Nacional de *Lobesia botrana*.
 - Evaluar los niveles de infestación de la plaga en el país.
 - Sustentar la condición de área libre.
 - Implementar acciones inmediatas en áreas libres.
 - Descartar o corroborar "establecimiento" de la plaga, frente a detección de adultos en trampa.
 - Complementar la vigilancia en áreas que se mantienen con confusión sexual.



- Prospección visual
(vigilancia inmaduros)

Programa Nacional *Lobesia botrana*
Vigilancia de inmaduros

Tipos de Prospección visual

- Prospecciones de acción inmediata
- Prospecciones de liberación de fruto
- Prospecciones exploratorias
- Prospecciones de evaluación fitosanitaria



Programa Nacional *Lobesia botrana*
Control y cuarentena

- Objetivo:
- Prevenir la dispersión de la plaga fuera de las áreas reglamentadas.
 - Controlar la plaga mediante acciones mecánicas, aplicaciones químicas y confusión sexual.



- Áreas reglamentadas



- Control

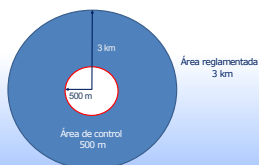


- Inspección Oficial

Programa Nacional *Lobesia botrana*
Definición de área reglamentada y área de control

Control Predial

Las acciones de control de la plaga se realizarán en aquellos predios ubicados total o parcialmente en las áreas de control, las cuales se definen como el área o superficie que abarca el radio de 500 metros desde cada punto de detección que dio origen a un brote de la plaga.



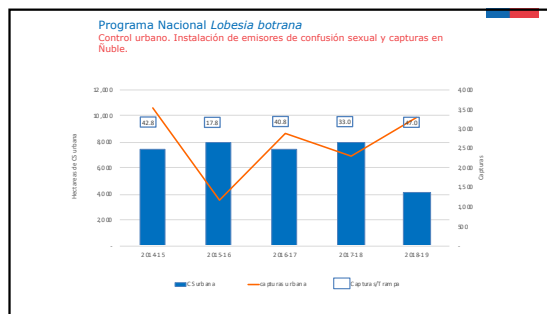
Programa Nacional *Lobesia botrana*
Herramientas de Control 2018-2019

- Objetivo: reducir poblaciones de la plaga en zonas en contención y erradicar o suprimir la presencia en sectores productivos en zonas en erradicación.

- Confusión sexual
- Control químico
- Control mecánico



Las Herramientas de control químico y confusión sexual son autorizadas según los resultados observados en ensayos de campo realizados en territorio nacional con una metodología definida en un protocolo oficial y a cargo de investigadores autorizados por el PNLB.



Programa Nacional *Lobesia botrana*
Investigación de nuevas Herramientas de Control

Plan de Investigación Nacional desarrollado con la supervisión y apoyo de INIA.

- Hongos Entomopatógenos
- Desarrollo del modelo de desarrollo fenológico de *Lobesia botrana*
- Evaluación de la eficacia de los productos químicos para el control *Lobesia botrana*
- Evaluación de TIE en *Lobesia botrana* (SAG y FDF)
- Control mediante el uso de enemigos naturales (SAG)

Programa Nacional *Lobesia botrana*
Control urbano, nuevas herramientas: *Campoplex capitator*

El año 2016 se evaluó la posibilidad de introducción de un parasitoide específico a Chile, siendo seleccionada la especie de microavispa europea *Campoplex capitator* (Hymenoptera: Ichneumonidae).

Campoplex capitator es un endoparásitoide solitario primario y específico de *Lobesia botrana*, originario de Europa, el cual parasita las larvas de 2º a 4º estadio durante las tres generaciones de la plaga.

Una vez realizado el levantamiento de las restricciones cuarentenarias sobre *Campoplex capitator* en Chile, se iniciaron las actividades destinadas a establecer esta especie benéfica en parcelas infestadas por *Lobesia botrana* en áreas urbanas, a fin que esta microavispa se establezca e inicie el control biológico de la plaga.

Programa Nacional *Lobesia botrana*
Control urbano, mediante *Campoplex capitator*

Liberación del material: En cada casa se liberó un núcleo de liberación compuesto por 200 individuos de *Campoplex capitator*. Instalándose en 4 dispositivos denominados Discam, cuyo interior tienen alrededor de 50 individuos.

Programa Nacional *Lobesia botrana*
Control urbano, Técnica del Insecto Estéril (TIE).

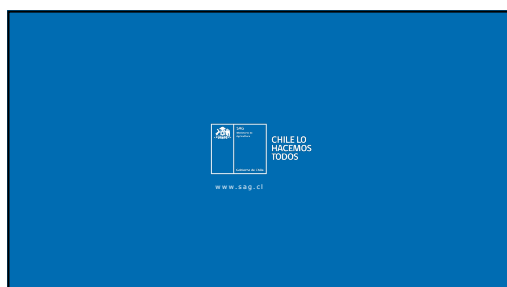
En la temporada 2018-2019 se realizaron pruebas de campo que permitieron estimar la capacidad de sobrevivencia y dispersión, factores necesarios para establecer un **plan piloto de liberación**.

Durante el año en curso se realizarán pruebas de Compatibilidad y Competitividad, con el objetivo de determinar con mayor precisión la capacidad del material en producción.

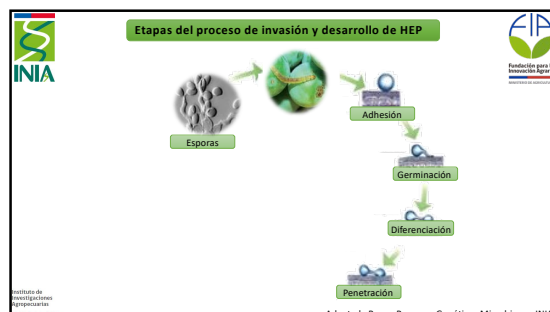
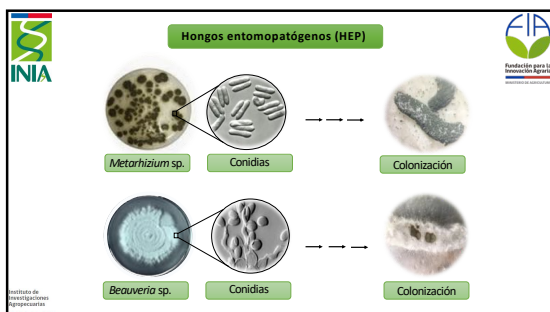
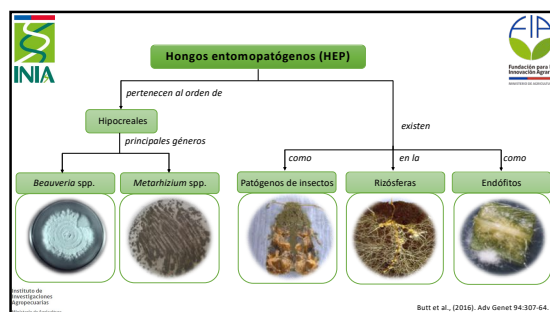
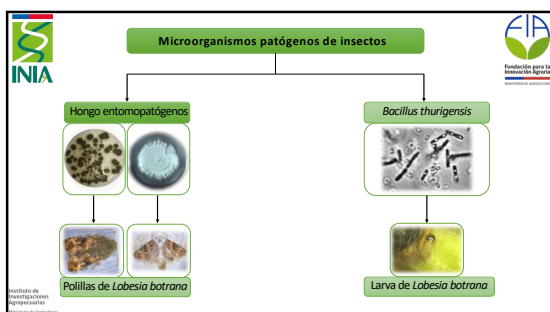
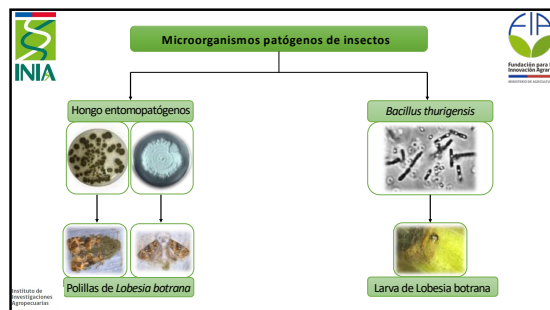
Programa Nacional *Lobesia botrana*
Control urbano, Técnica del Insecto Estéril (TIE).

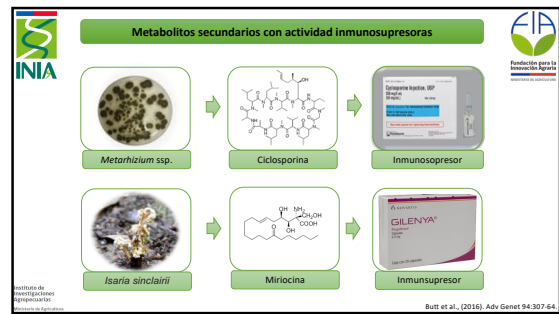
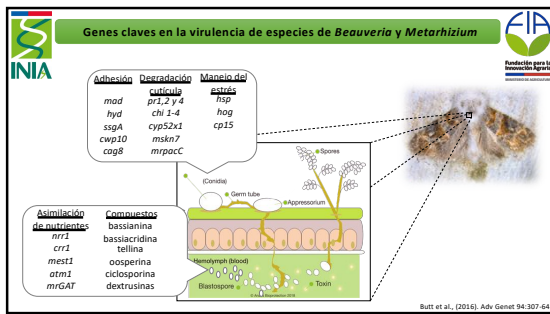
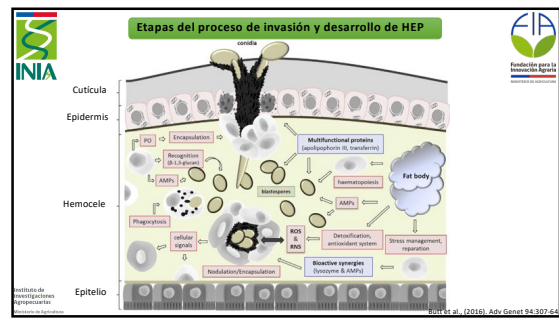
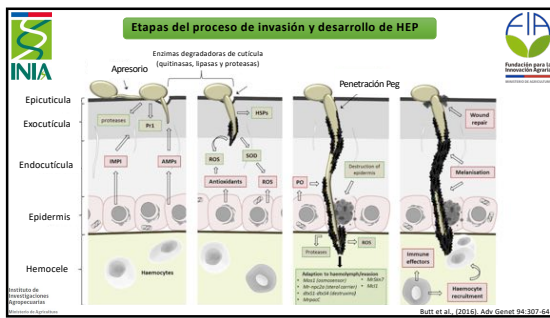
El laboratorio experimental se encuentra realizando cambios en el proceso de producción para lograr la **automatización** de la producción con la instalación de un equipo de extracción de adultos y modificaciones en el protocolo de crianza que permitirán tener un aumento en la producción pudiendo alcanzar un volumen de **50 mil individuos por semana**.

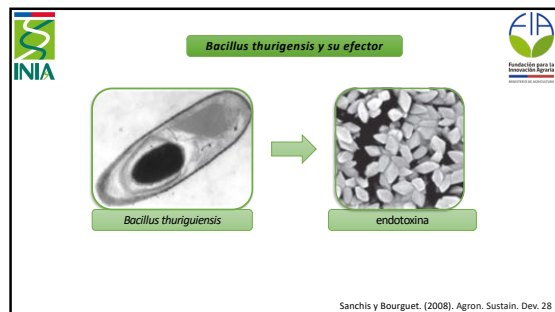
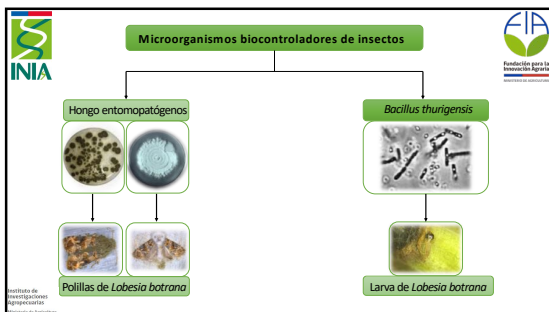
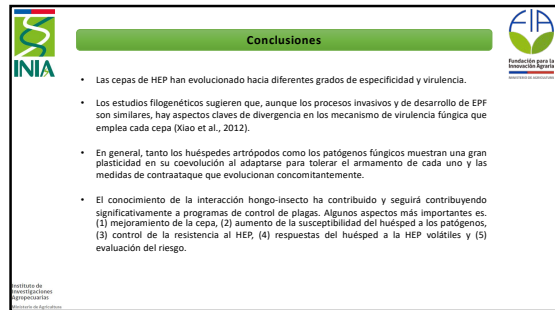
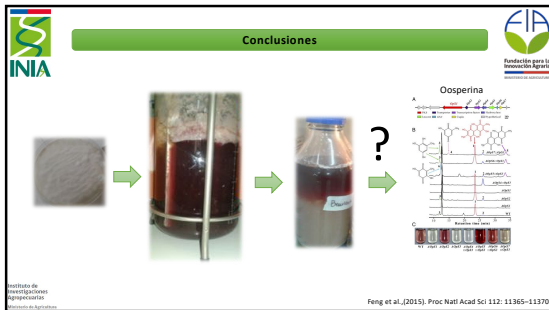
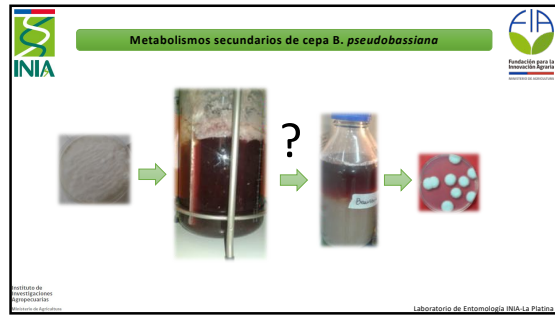
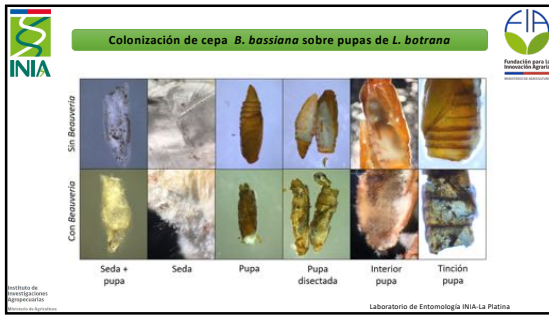
Paralelamente, la evaluación de dietas larvarias ha permitido elaborar una formulación de menor costo manteniendo parámetros de calidad aceptables.



Fabiola Altimira, Investigadora Sanidad Vegetal INIA La Platina.







Sylvana Soto, Investigadora Sanidad Vegetal INIA La Platina.



Evaluación de compatibilidad de bioplaguicidas INIA en base a HEP con fungicidas en el manejo de la vid

Sylvana Soto A.
Ing. Agrónomo M.Sc. Dr.
Laboratorio de Fitopatología - INIA La Platina
sylvana.soto@inia.cl

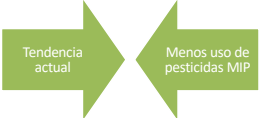
www.inia.cl

- ✓ La producción de alimentos exige el reto de producir productos hortícolas de alta calidad e inocuidad.
- ✓ Disminuyendo la dependencia a agroquímicos.
- ✓ En búsqueda de bajar los residuos sobre el producto final, la contaminación al medioambiente y protección de trabajadores.



Manejo Integrado de Plagas

- ✓ *Lobesia botrana* → Pudriciones (*Botrytis cinerea*, *Aspergillus* spp.)
- ✓ Zona central *L. botrana* presenta 3 generaciones (floración, baya verde y maduración) → aplicaciones enfermedades fúngicas.
- ✓ Alternativas comerciales
Principalmente insecticida sintéticos
- ✓ Pocos productos de origen natural o bioinsecticidas comerciales autorizados para *Lobesia botrana*.



- ✓ Uso de control biológico → *Lobesia* en vides de mesa y viníferas manejo convencional y orgánico.
- ✓ Dentro del control biológico (microbiológico) uso de hongos entomopatógenos (HEP)

Ventajas		Desventajas
- Especificidad		- Variaciones climáticas
- Desarrollo resistencia ↓		- Acción más lenta
- Medio ambiente		- Almacenaje

- ✓ Géneros *Metarhizium* y *Bauveria* ampliamente utilizados como controladores biológicos.

Hongos Entomopatógenos

- ✓ Parasitan sobre el insecto, pero también pueden sobrevivir como saprofito en MO en descomposición.
- ✓ Estos no necesitan ser ingeridos por el insecto para controlarlos.
- ✓ También produce metabolitos secundario (micotoxinas) que puede contribuir a la actividad insecticida. Se ha descrito como factor de virulencia.

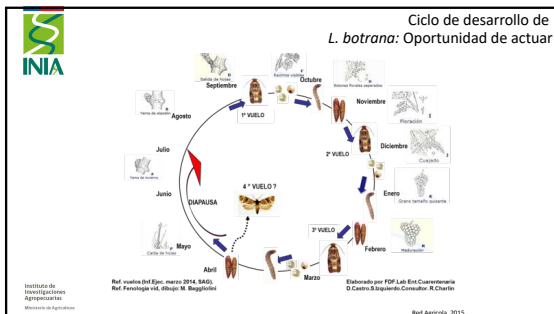
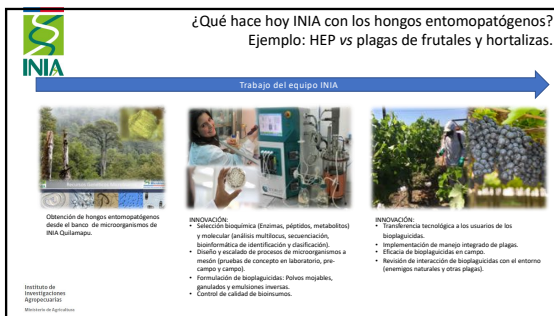
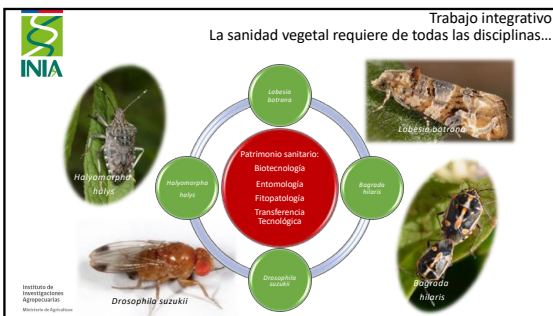
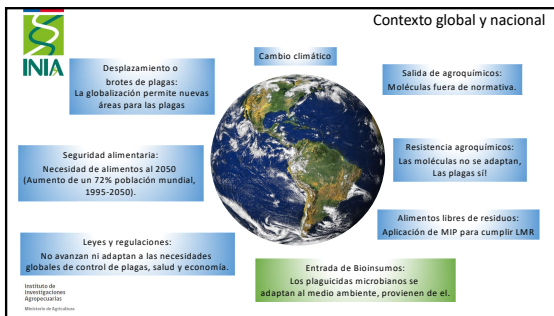


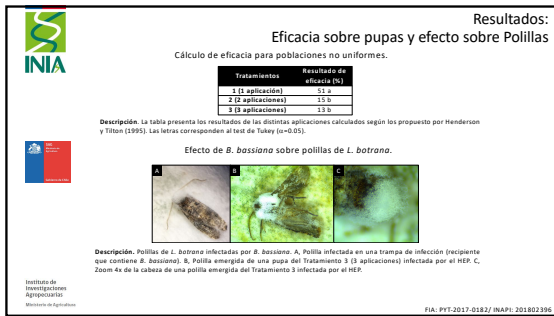
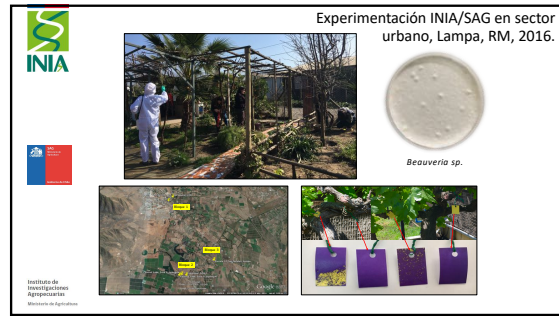
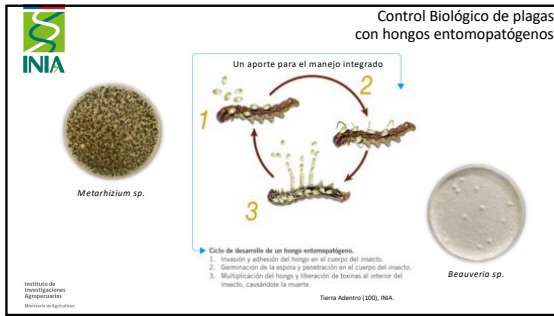
Laboratorio de Entomología de INIA La Platina está trabajando con dos cepas de hongos entomopatógenos nativos: *Beauveria pseudobassiana* RGM 2184 y *Metarhizium robertsii* RGM 678, ambas cepas en proceso de patente para la obtención de dos biopesticidas para el control de *Lobesia*

Selección de cepas	Virulencia
	Resistencia a cambios de T°
	Diferentes formulaciones (in vitro y en campo)

Foco → aplicaciones invernales (pupas)
Estados fenológicos de cultivos y generaciones de *L. botrana* → control de Oidio y Pudrición Gris

Eduardo Tapia, Investigador Sanidad Vegetal INIA La Platina.





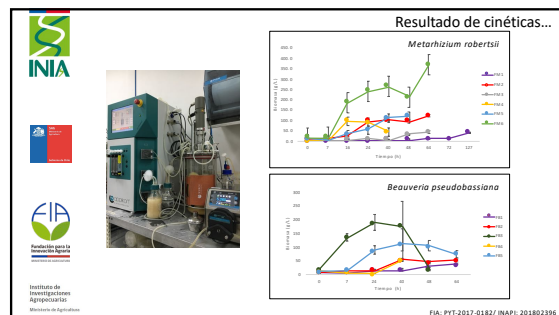
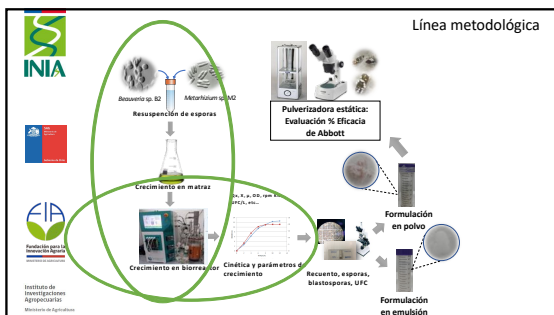
Avances de resultados a la fecha del proyecto...

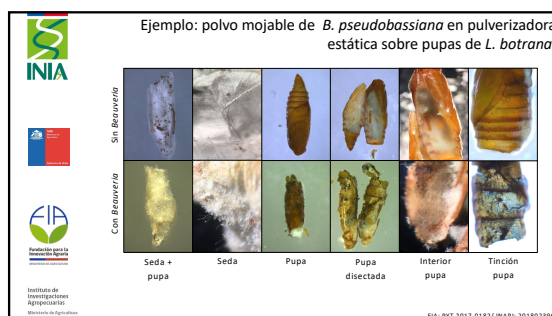
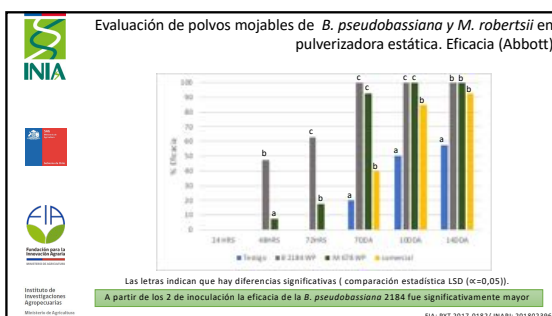
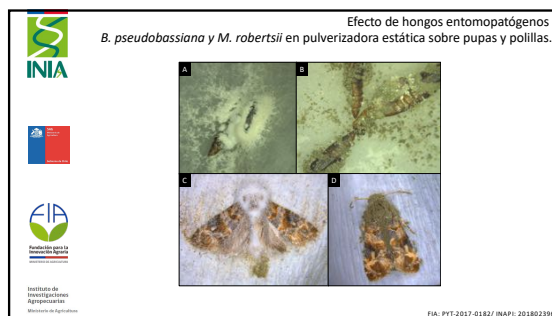
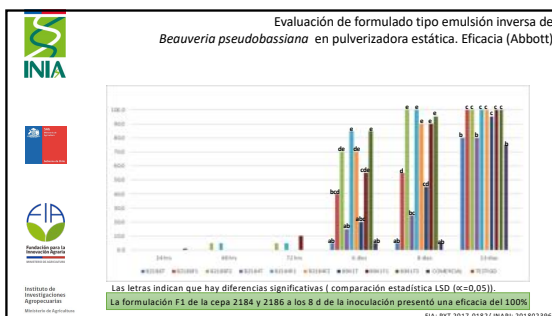
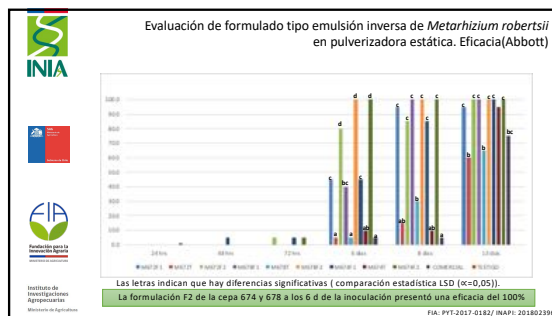
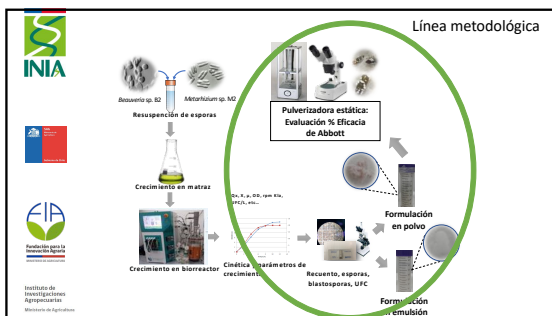
Desarrollo de un biopesticida en base a hongos entomopatógenos para biocontrol y/o manejo integrado de *Lobesia botrana* en vides como una alternativa sustentable en el cambio climático

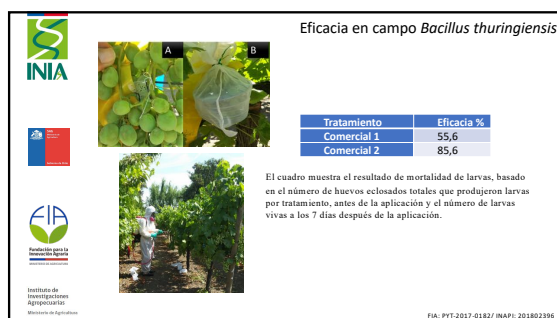
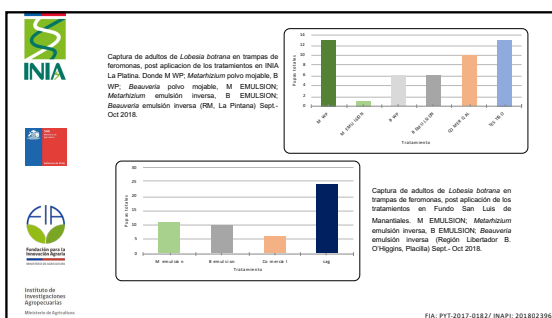
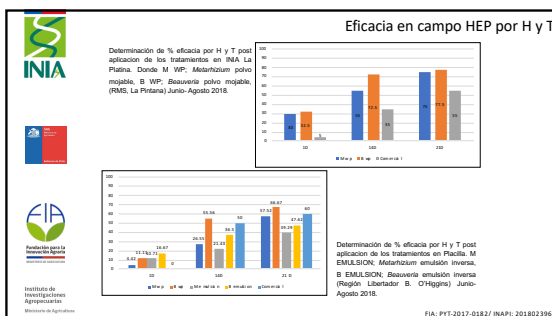
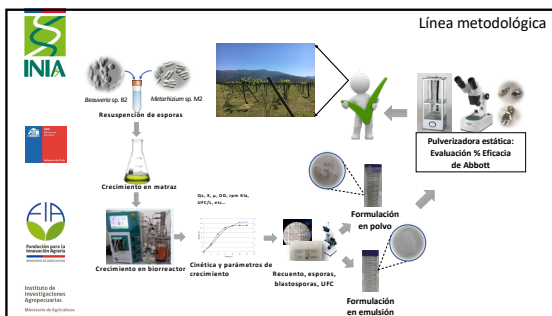
PYT-2017-0182.

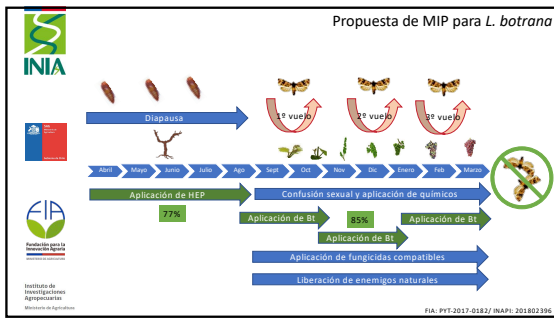
Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

FIA: PYT-2017-0182/ INAPI: 201802396









Solicitud de patente INAPI

Paper en edición...

Próximo paper en escritura...

Difusión en medios de comunicación...

Agradecimientos

INIA

PNLB

Entomología: Nathalia de la Barra, Julio Bravo, Virginia Aguilar, Natalia Olivares, Nancy Vitta

Biotecnología: Sebastián Godoy, Yuguina Diaz, Fabiola Altamira

Fitopatología: Javiera Barcos, Patricia Rebufel, Sylvana Soto

Transferencia Tecnológica: Juan Roa, Paulo Godoy

+ colaboradores: Patricia Estay, Juan Carlos Galaz, Paulina Sepúlveda, Madeline Mejías, María Rivera, Ignacio Solano

PRODESALES RM

Agricultores: RMS, R O'higgins

Chile lo Hacemos Todos

Banco de Recursos Genéticos Microbianos

Instituto de Investigaciones Agropecuarias

Gracias por su tiempo

Avances de resultados de bioplaguicida INIA en base a HEP contra *L. botrana* en diapausa invernal" Proyecto FIA PYT-2017-0182

Dr. Eduardo Tapia Rodríguez

Santiago, 20, abril, 2020

Chile lo Hacemos Todos

Presentación 1ª Cumbre Internacional de Bioinsumos UCDavis Chile/MundoAgro, Eduardo Tapia, Biotecnología-Entomología.

Link: https://www.youtube.com/watch?v=qhQvck_08DY&t=455s



Plaguicidas microbianos INIA: aportes al Manejo Integrado de Plagas de ayer y hoy

Dr. Eduardo Tapia Rodríguez

etapia@inia.cl

Biotecnología/Entomología/Fitopatología/Transferencia Tecnológica

San Francisco de Mostazal, VI Región.

05.09.2018



Contexto global y nacional

Desplazamiento o brotes de plagas:
La globalización permite nuevas áreas para las plagas

Cambio climático

Salida de agroquímicos:
Moléculas fuera de normativa.

Seguridad alimentaria:
Necesidad de alimentos al 2050
(Aumento de un 72% población mundial, 1995-2050).



Resistencia agroquímicos:
Las moléculas no se adaptan,
Las plagas sí!

Leyes y regulaciones:
No avanzan ni adaptan a las necesidades globales de control de plagas, salud y economía.

Alimentos libres de residuos:
Aplicación de MIP para cumplir LMR

Entrada de Bioinsumos:
Los plaguicidas microbianos se adaptan al medio ambiente, provienen de él.

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Usos y potenciales de microorganismos

- Fitopatógenos
- Antagonistas de enfermedades
- Hongos entomopatógenos
- Nemátodos entomopatógenos
- Endófitos
- Promotores de crecimiento
- Masificación y Formulaciones comerciales
- Banco de Recursos Genéticos Microbianos.



Pero, ¿dónde están?

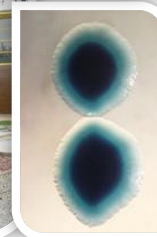
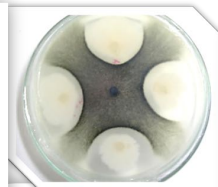
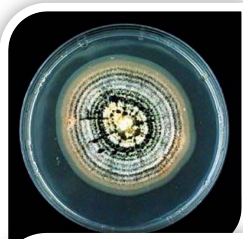
Banco de Recursos
**Genéticos
Microbianos**
Autoridad Internacional de Depósito

Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos:
Autoridad Internacional de Depósito al servicio de desarrollos
biotecnológicos y protección del recurso genético microbiano

Banco de Recursos
**Genéticos
Microbianos**
Autoridad Internacional de Depósito



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Características del banco Una gran herramienta, gran potencial!

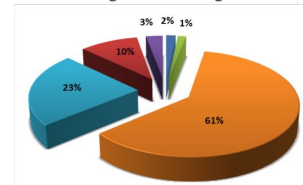
- Conservación de hongos y bacterias.
- No se aceptan patógenos de humanos y animales.
- Acepta colecciones públicas y privadas.

COLECCION	TOTAL 2017
Depósitos IDA	63
Depósitos privados (no IDA)	14
Colección pública	1.780
Bacteria	29
Actinobacteria	25
Entomopatógenos	1.083
Fitopatógenos	414
Micopatógenos	178
Nematógenos	51
Total	1.857

2017
71 depósitos IDA

Colección
Pública

- Bacterias
- Endófitos
- Hongos Entomopatógenos
- Hongos Fitopatógenos
- Hongos Micopatógenos
- Hongos Nematógenos



- Catálogo Público ... www.cchrgm.cl
- Controladores biológicos y promotores de crecimiento
- Cuarentena permanente para el Servicio Agrícola y Ganadero



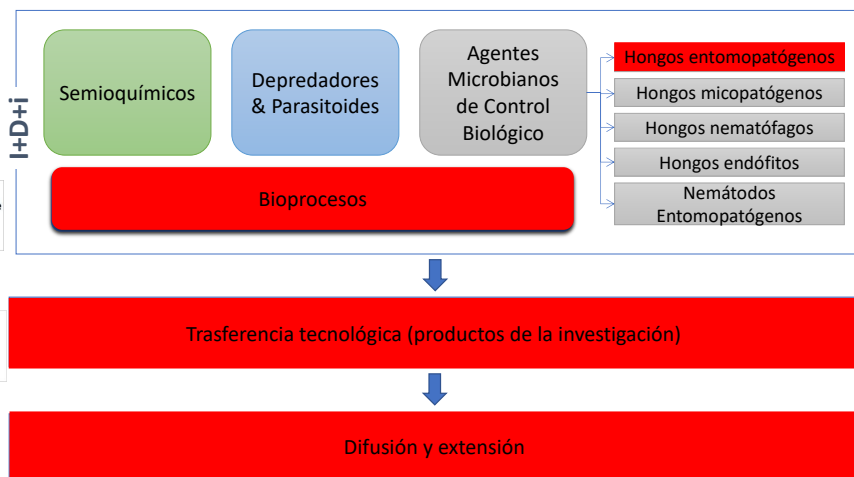
Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Líneas de trabajo de INIA



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura





¿Qué ha hecho INIA en control de plagas con hongos entomopatógenos?



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Ejemplos de productos Bioinia
para agricultura orgánica

Ejemplos de Resultados



¿Qué hace hoy INIA con los hongos entomopatógenos? Ejemplo: *M. robertsii* vs plagas de frutales y hortalizas.

Trabajo del equipo de biotecnología y entomología



Obtención de hongos entomopatógenos
desde el banco de microorganismos de
INIA Quilamapu.



INNOVACIÓN:

- Selección bioquímica (Enzimas, péptidos, metabolitos) y molecular (análisis multilocus, secuenciación, bioinformática de identificación y clasificación).
- Diseño y escalado de procesos de microorganismos a mesón (pruebas de concepto en laboratorio, pre-campo y campo).
- Formulación de bioplaguicidas: Polvos mojables, granulados y emulsiones inversas.
- Control de calidad de bioinsumos.



INNOVACIÓN:

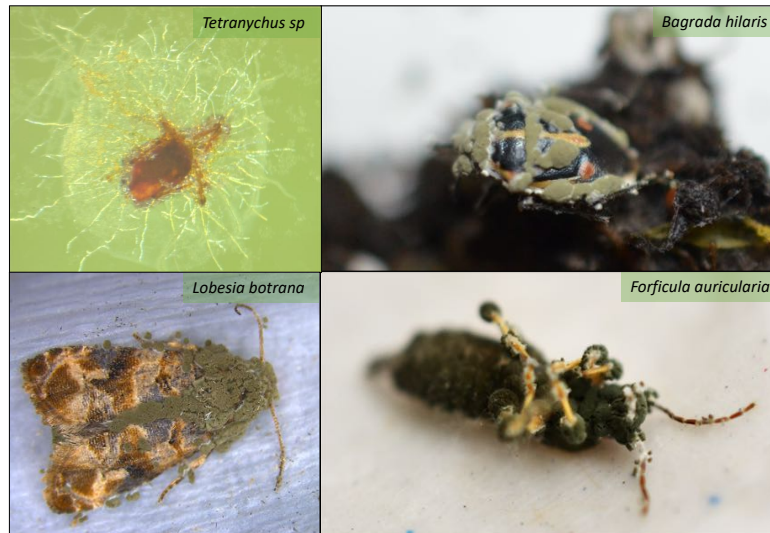
- Transferencia tecnológica a los usuarios de los bioplaguicidas.
- Implementación de manejo integrado de plagas.
- Eficacia de bioplaguicidas en campo.
- Revisión de interacción de bioplaguicidas con el entorno (enemigos naturales y otras plagas).

Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



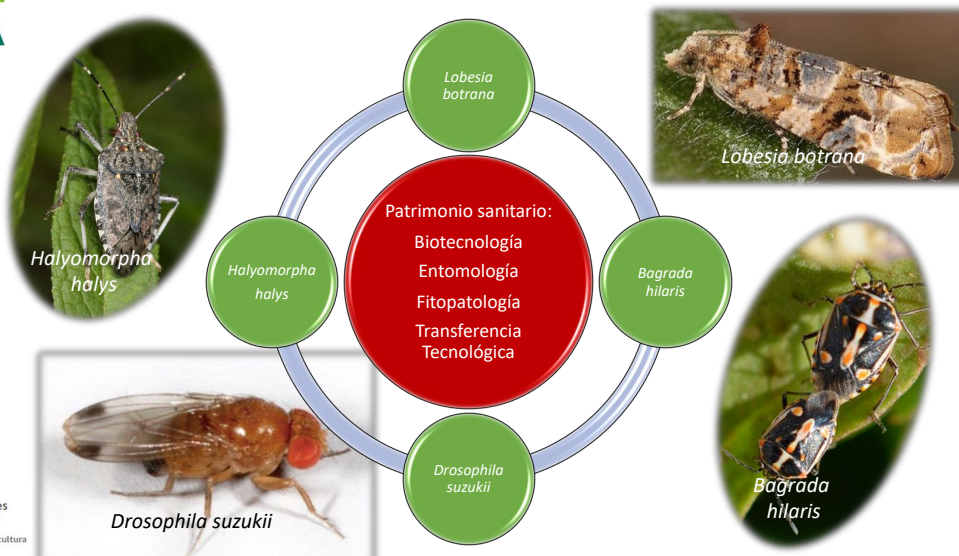
Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Ejemplo de investigación aplicada: Resultados *M. robertsii* vs plagas de frutales y hortalizas.



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Trabajo integrativo La sanidad vegetal requiere de todas las disciplinas...



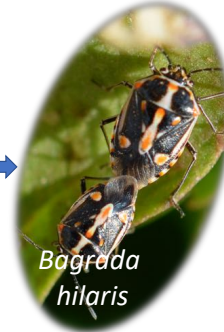


Ejemplos de casos de estudio...

Dos casos de
Investigación Aplicada:



Lobesia botrana



*Bagrada
hilaris*

Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Primer caso: Estados de desarrollo *L. botrana*



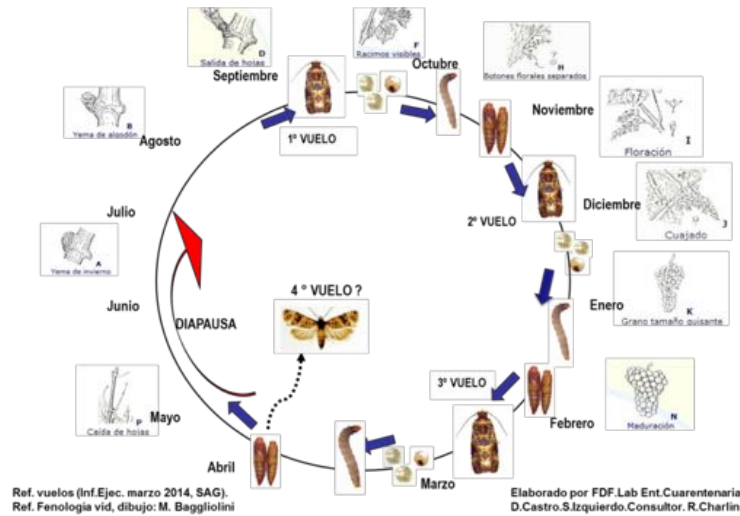
Laboratorio de Entomología, INIA La Platina

Gilligan et al., 2009

Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Ciclo de desarrollo de *L. botrana*: Oportunidad de actuar

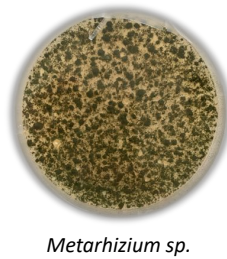


Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Red Agrícola, 2015.



Control Biológico de plagas con hongos entomopatógenos



Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Tierra Adentro (100), INIA.



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Experimentación INIA/SAG en sector urbano, Lampa, RM, 2016.



Beauveria sp.

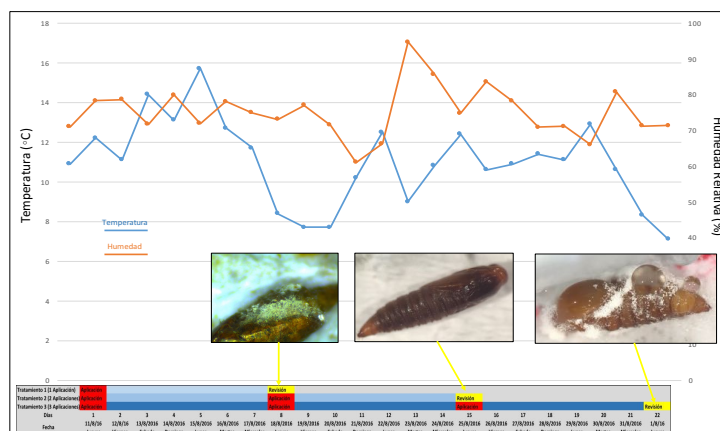


FIA: PYT-2017-0182/ INAPI: 201802396



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Resultados: Información climatológica e imágenes representativas de la experimentación.



Descripción. La figura muestra la T° promedio (°C) y Humedad Relativa (HR; %) relacionada con la planificación de las aplicaciones (barras temporales inferiores) e imágenes de los resultados obtenidos de las muestras de campo (recuadros insertos en la gráfica).

FIA: PYT-2017-0182/ INAPI: 201802396



Resultados:

Eficacia sobre pupas y efecto sobre Polillas

Cálculo de eficacia para poblaciones no uniformes.

Tratamientos	Resultado de eficacia (%)
1 (1 aplicación)	51 a
2 (2 aplicaciones)	15 b
3 (3 aplicaciones)	13 b

Descripción. La tabla presenta los resultados de las distintas aplicaciones calculados según lo propuesto por Henderson y Tilton (1995). Las letras corresponden al test de Tukey ($\alpha=0.05$).

Efecto de *B. bassiana* sobre polillas de *L. botrana*.



Descripción. Polillas de *L. botrana* infectadas por *B. bassiana*. A, Polilla infectada en una trampa de infección (recipiente que contiene *B. bassiana*). B, Polilla emergida de una pupa del Tratamiento 3 (3 aplicaciones) infectada por el HEP. C, Zoom 4x de la cabeza de una polilla emergida del Tratamiento 3 infectada por el HEP.

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

FIA: PYT-2017-0182/ INAPI: 201802396



Adjudicación de Proyecto



Fundación para la Innovación Agraria
MINISTERIO DE AGRICULTURA



Desarrollo de un biopesticida en base a hongos entomopatógenos para biocontrol y/o manejo integrado de *Lobesia botrana* en vides como una alternativa sustentable en el cambio climático PYT-2017-0182.

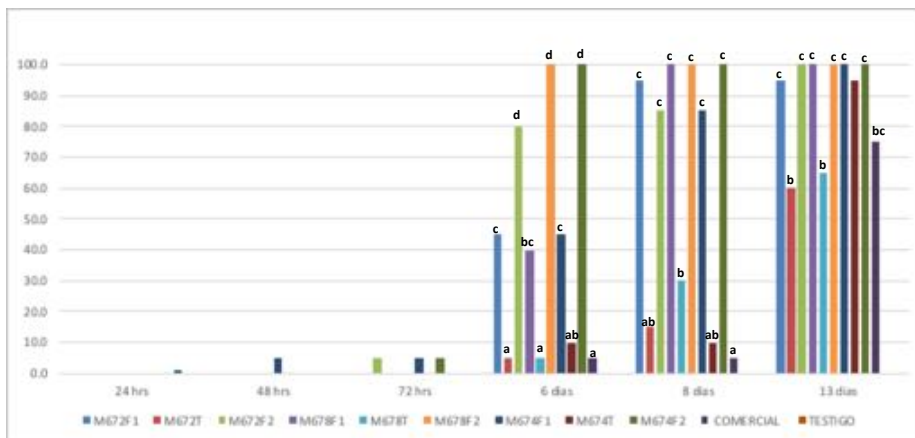
Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias

Ministerio de Agricultura

Evaluación de formulado tipo emulsión inversa de *Metarhizium robertsii* en pulverizadora estática. Eficacia(Abbott)



Las letras indican que hay diferencias significativas (comparación estadística LSD ($\alpha=0,05$)).

La formulación F2 de la cepa 674 y 678 a los 6 d de la inoculación presentó una eficacia del 100%

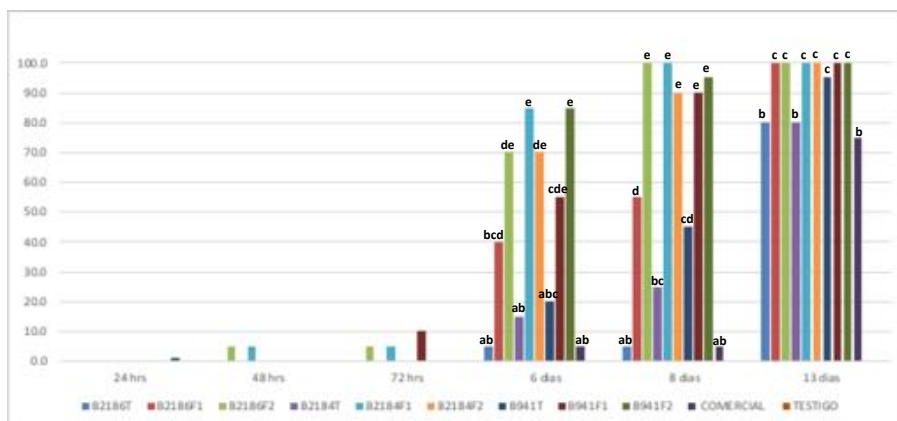
FIA: PYT-2017-0182/ INAPI: 201802396



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias

Ministerio de Agricultura

Evaluación de formulado tipo emulsión inversa de *Beauveria pseudobassiana* en pulverizadora estática. Eficacia (Abbott)



Las letras indican que hay diferencias significativas (comparación estadística LSD ($\alpha=0,05$)).

La formulación F1 de la cepa 2184 y 2186 a los 8 d de la inoculación presentó una eficacia del 100%

FIA: PYT-2017-0182/ INAPI: 201802396



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Efecto de hongos entomopatógenos

B. pseudobassiana y *M. robertsii* en pulverizadora estática sobre pupas y polillas.

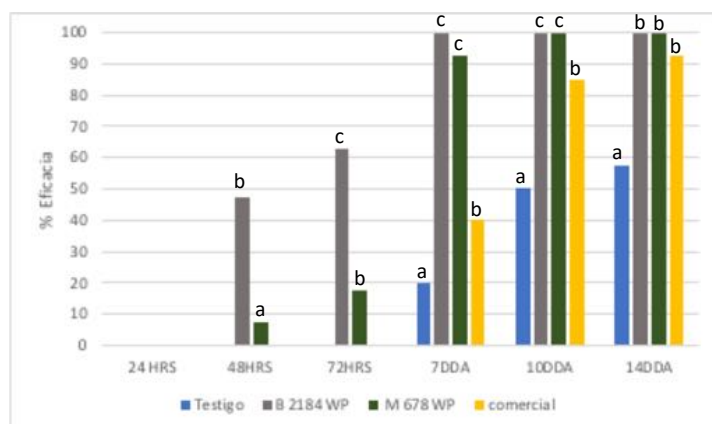


FIA: PYT-2017-0182/ INAPI: 201802396



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Evaluación de polvos mojables de *B. pseudobassiana* y *M. robertsii* en pulverizadora estática. Eficacia (Abbott)



Las letras indican que hay diferencias significativas (comparación estadística LSD ($\alpha=0,05$)).

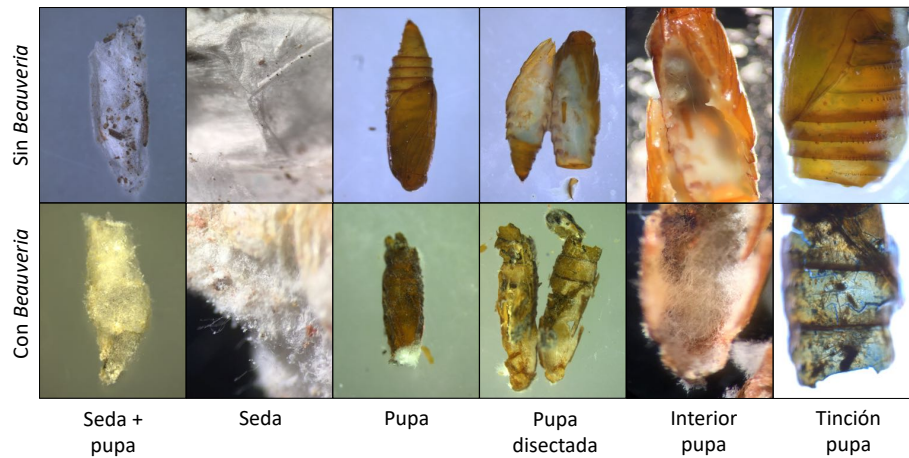
A partir de los 2 de inoculación la eficacia de la *B. pseudobassiana* 2184 fue significativamente mayor

FIA: PYT-2017-0182/ INAPI: 201802396



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Ejemplo: polvo mojable de *B. pseudobassiana* en pulverizadora
estática sobre pupas de *L. botrana*.



FIA: PYT-2017-0182/ INAPI: 201802396



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Próximamente: Resultados de evaluación de temporada invernal 2018
en distintos sectores de RM y O'Higgins



FIA: PYT-2017-0182/ INAPI: 201802396

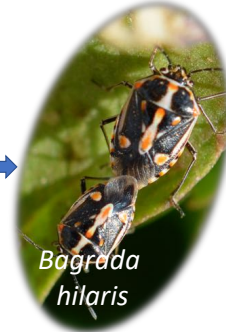


Ejemplos de casos de estudio...

Dos casos de
Investigación Aplicada:



Lobesia botrana



*Bagrada
hilaris*

Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Segundo caso: *Bagrada hilaris*, chinche pintada.

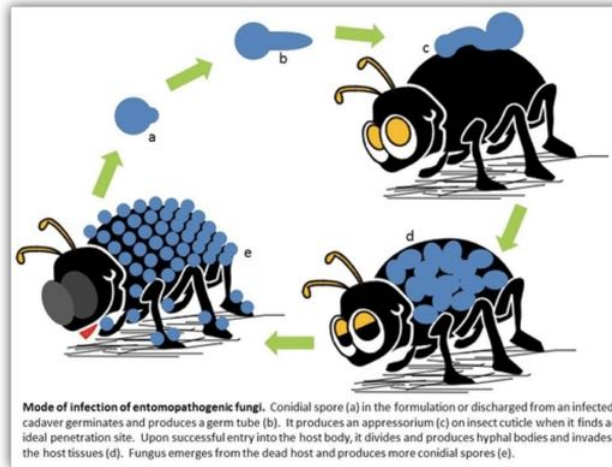


Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Control Biológico de plagas con hongos entomopatógenos



University of California, Agriculture and Natural Resource



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Ejemplo: Esporas de *Metarhizium robertsii* sobre distintos estados de *Bagrada hilaris*.

Sin *Metarhizium*



Con *Metarhizium*

Huevo

Ninfa

Adulto

FIA: PYT-2017-08474



Adjudicación de Proyecto

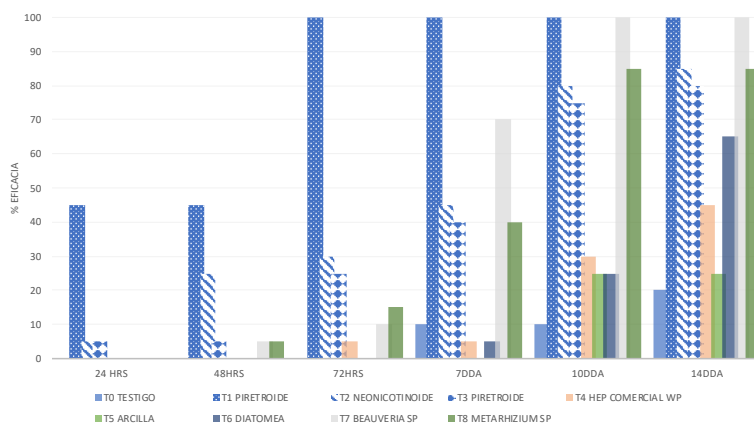


Desarrollo de un sistema de manejo integrado con bajo impacto ambiental orientado a mitigar las poblaciones de la chinche pintada, *Bagrada hilaris* (Burmeister, 1835) (Hemiptera, Pentatomidae) para una horticultura sostenible y competitiva PYT-2017-08474

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Ejemplo: Evaluación de Formulados de *Metarhizium*, *Beauveria*, Químicos e inertes sobre *Bagrada hilaris*.



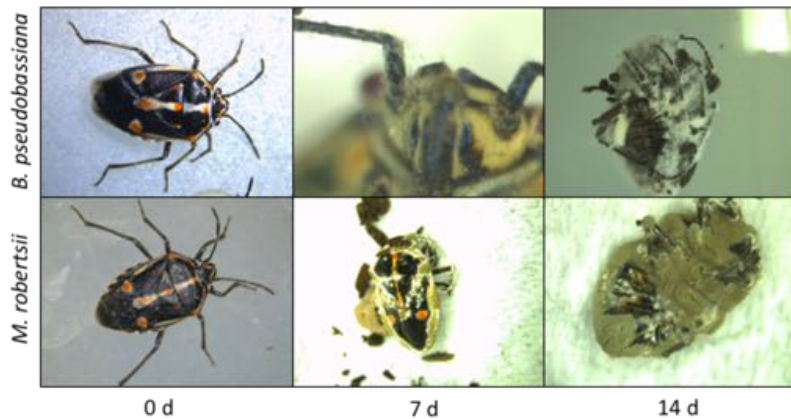
Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

FIA: PYT-2017-08474



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Efectos de plaguicidas microbianos sobre *B. hilaris*

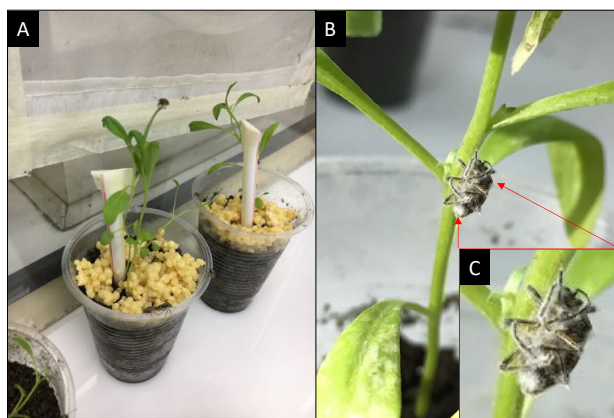


FIA: PYT-2017-08474



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

Otras alternativas: Uso de HEP encapsulados en cultivos trampa o atrayentes.



FIA: PYT-2017-08474



Reflexión...

- Utilizar todas las herramientas técnicas y capacidades científicas para aprovechar nuestros recursos microbianos e intelectuales para el control de plagas y enfermedades a nivel nacional/mundial.
- ¿Para que buscar una sola molécula? si podemos producir/formular microorganismos que secretan distintas moléculas, poseen variados mecanismos de control de plagas en campo y tienen la capacidad de adaptarse a distintos ambientes.
- El MIP no es solo una herramienta, es un cambio cultural a una mejor vida.

Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Reflexión...

- Utilizar todas las herramientas técnicas y capacidades científicas para aprovechar nuestros recursos microbianos e intelectuales para el control de plagas y enfermedades a nivel nacional/mundial.
- ¿Para que buscar una sola molécula? si podemos producir/formular microorganismos que secretan distintas moléculas, poseen variados mecanismos de control de plagas en campo y tienen la capacidad de adaptarse a distintos ambientes.
- El MIP no es solo una herramienta, es un cambio cultural a una mejor vida.

Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



PNLb



Fundación para la
Innovación Agraria
MINISTERIO DE AGRICULTURA



1º CUMBRE
INTERNACIONAL
5 DE SEPTIEMBRE 2018
CENTRO DE CONFERENCIAS MONTICELLO



Agradecimientos

Entomología:
Nathalia de la Barra
Julio Bravo
Virginia Aguilar
Natalia Olivares
Ernesto Cisternas
Nancy Vitta
Patricia Estay

Biotechnología:
Yuquina Diaz
Fabiola Altimira

Fitopatología:
Javiera Barcos
Patricia Rebufel
Sylvana Soto

Transferencia Tecnológica:
Jose Lagos
Juan Roa
Paulo Godoy

+ colaboradores:
Juan Carlos Galaz
Lorena Barra
Andrés France
Paulina Sepúlveda
Madeline Mejias
María Rivera
Ignacio Solano

PRODESALES RM

Agricultores:
RM, R O'higgins

Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura



Gracias por su tiempo!!!



Plaguicidas microbianos INIA: aportes al Manejo
Integrado de Plagas de ayer y hoy

Dr. Eduardo Tapia Rodríguez

etapia@inia.cl

Biotechnología/Entomología/Fitopatología/Transferencia Tecnológica

San Francisco de Mostazal, VI Región.

05.09.2018

Presentación SOCHIFIT, Fabiola Altimira, Entomología.

Identificación y caracterización del crecimiento de hongos entomopatógenos para su empleo como biocontrolador de plagas

Identification and growth characterization of entomopathogenic fungi for insect pest control

Altimira, F.¹; De la Barra, N.¹; Barco, J.²; Rebufel, P.²; Soto, S.²; Vitta, N.¹ y Tapia, E.¹

¹Laboratorio de Entomología INIA-La Platina. ²Laboratorio de Fitopatología INIA-La Platina.

fabiola.altimira.p@gmail.com

Los Hongos Entomopatógenos (HE) además de su actividad controladora de insectos patógenos, desempeñan roles adicionales en la naturaleza, incluyendo endofitismo, antagonismo de enfermedades de las plantas, promoción del crecimiento y colonización de la rizósfera. En este estudio se identificaron seis HE de los géneros *Beauveria* y *Metarhizium* aislados desde la zona sur de nuestro país por el Banco de Recursos Genéticos Microbianos de INIA. Estos se identificaron mediante secuenciación y análisis de nueve marcadores genéticos. Posteriormente, se estudió su crecimiento en medio comercial y se diseñaron cuatro medios de cultivos considerando la composición elemental de los hongos, para la obtención de medios más económicos y con mayor rendimiento celular. Para ello, se evaluó velocidad de crecimiento (μ) y productividad volumétrica (Qx). Adicionalmente, se analizaron extractos de proteínas totales desde el medio de crecimiento de los HE. En estos extractos, se evaluó la presencia proteasas y quitinasas que podrían estar participando en su actividad antagonista. Los análisis de resultados indicaron que tres aislados pertenecían a la especie *Beauveria pseudobassiana* y los otros tres a la especie *Metarhizium robertsii*. De los seis medios evaluados, cinco cepas incrementaron su μ entre un 20% a 70% y su Qx entre un 8 a un 300 % en el medio M2T, que presentaba adicionalmente sales y tween 20. Los HE presentaron actividad enzimática de acuerdo con la composición de sus medios de cultivos, indicando que la síntesis de las enzimas extracelulares está regulada por la presencia de determinados sustratos. Estos análisis permitieron una mejor caracterización de estos hongos para su empleo como biocontroladores.

Agradecimientos: Proyecto FIA: PYT-2017-0182

Prueba MIP *L. botrana*.

 1.- Que plaga se observa en la hoja? **1**



Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

1

 2.- ¡Miden en promedio de 4 a 9 mm de largo, son de color marrón a marrón oscuro. Tienen la capacidad de mantenerse en capullos blancos, sedosos y sueltos, sobre racimos, tallos y hojas de la vid en 1ª y 2ª generación. Y en 3ª generación, principalmente, bajo la corteza o ritidomo de la vid?



A **B** **C** **D**

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

2



3.- ¿Que significa Umbral de Daño Económico, marque con una cruz la alternativa correcta?

- A. densidad a la cual deben iniciarse las medidas de control a fin de evitar el incremento de población de la plaga que alcance el nivel de daño económico.
- B. Evaluar las decisiones a nivel de pequeños, medianos y grandes productores
- C. Tomar decisiones de manejo de acuerdo a la información obtenida a través del monitoreo.

Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

3



4.- En que consiste el monitoreo?



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

4



5.- Nombre el estado de la plaga que provocan estos daños en bayas...



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

5



6.- Para que finalidad se utilizan las trampas de feromona?....



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

6



7.- ¿Identifique con una x la alternativa correcta, el hongo entomopatógeno que visualiza en las imágenes es ?



A. *Metarhizium robertsii*

B. *Beauveria pseudobassiana*

C. *Trichoderma viride*

Instituto de
Investigaciones
Agrarias
Ministerio de Agricultura

7



8.- ¿Marque con V o F según corresponda?

- A. Las feromonas para el control de lobesia botrana se deben establecer en superficies de 4 hectáreas o más _____
- B. Los confusores sexuales deben ser usados por al menos 150 días _____
- C. Los confusores sexuales deben ser instalados de manera homogénea en el tercio superior de cada planta del huerto, antes de que la plaga inicie su primer vuelo _____
- D. Los confusores sexuales se ubican en la parte baja de la planta _____

Instituto de
Investigaciones
Agrarias
Ministerio de Agricultura

8



9.- ¿identifique con una x la alternativa correcta, el hongo entomopatógeno que visualiza en las imágenes es ?



- A. *Metarhizium robertsii*
- B. *Trichoderma harzianum*
- C. *Beauveria pseudobassiana*

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

9



10.- ¿Qué producto prefiere utilizar, líquido o polvo mojable?

Líquido

Polvo mojable



Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

10



11.- ¿Los bioplaguicidas son de apertura única o reutilizables?



?



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

11



12.- ¿Se debe utilizar los Elementos de Protección personal para la aplicación de bioplaguicidas?



?



Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

12

#BIOINSUMOS

UN RUMBO POSIBLE



Para el control de la vid y la hortaliza, se utiliza el control biológico de plagas. Desde la temporada 2015, la agricultura chilena está utilizando el control biológico de plagas de vid y hortaliza, utilizando un biocontrol.

PLAGUICIDAS MICROBIANOS EN EL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS DE VIDES Y HORTALIZAS. EL CAMINO DE LA AGRICULTURA SUSTENTABLE.

INIA

posee una trayectoria de más de 20 años en el trabajo de control biológico con distintos bioinsumos, desde hongos antagonistas de fitopatógenos hasta nemátodos y hongos entomopatógenos (HEP) depositados en la colección chilena de recursos genéticos microbianos ubicada en el centro INIA Quilicura, Chile. Esta colección, depositada en el banco tipo IAV (International Depositary

Authority), otorga todas las condiciones necesarias para la mantención por décadas del patrimonio microbiano de nuestro país y depositantes del exterior.

Para desarrollar un plaguicida microbiano hemos seleccionado cepas de HEP desde el banco de acuerdo a la plaga y los diferentes estadios de desarrollo de ésta (ej. pupa, larva, adulto) que se requieren controlar, considerando además las condiciones ambientales y el nivel de eficacia que debe tener el bioinsumo. Estos antecor-



DRA. FABIOLA ALTAMIRA PROHAZKOVA



MSc. NANCY VITIS PALACIOS



DR. EDUARDO TAPIA RODRIGUEZ

CONSEJO AGROPECUARIO Y ALIMENTARIO
CHILE (COPAL) S.A.

datos se respaldan en pruebas para determinar el tipo de formulación que debe desarrollarse.

EL CASO DE LAS VIDES Y L. BOTRANA

En el caso de las vides, afectadas desde 2008 en Chile por la polilla del racimo de la vid *Lobesia botrana*, considerada una plaga cuarentenaria, presente en la actualidad desde la III Región de Atacama hasta la IX Región de la Aysén. Esta plaga ha generado pérdidas y altas inversiones para su control a productores de vides, arborescentes y uva de mesa. El Estado, a través del Ministerio de Agricultura, invirtió más de nueve mil millones de pesos en 2014 para su control.

Factores medioambientales como el cambio climático, han contribuido a un mayor número de vuelos y de ciclos reproductivos de la plaga favoreciendo su propagación en Europa. En nuestro país, nos encontramos en un escenario en el que INIA, en conjunto con el Programa Nacional de Labores botrany los sistemas de alerta del SAG, permanecen en un constante monitoreo para dar aviso oportuno a los agricultores sobre los vuelos de la polilla y el uso correcto de productos químicos para el control de la plaga. Esto, considerando la rápida capacidad de respuesta adaptativa a los cambios ambientales de los lepidópteros, lo cual provoca una pérdida de sincronización con sus predadores y parasitoides, contribuyendo a un aumento significativo de la abundancia de *L. botrana* a corto plazo. Por otro lado, la estrategia público-privada de uso de confusión sexual ha permitido manejar plaga con resultados promisorios en distintos lugares del país.

Desde la temporada del 2015-2016, en INIA La Pluma, se han desarrollado plaguicidas microbianos en base a HEP para el control de *L. botrana* durante su diapausa invernal en estado de pupa. En la temporada invernal 2016, los plaguicidas microbianos contaron con una formulación líquida para mejorar la viabilidad del HEP en campo en terreno de la Región Metropolitana.

Posteriormente, en el 2017 INIA apoyado por el SAG, obtuvo el financiamiento FFA para el proyecto "Desarrollo de un biopesticida en base a hongos entomopatógenos para biocontrol y/o

TABLA 1
La tabla presenta los resultados de las distintas aplicaciones calculados según lo propuesto por Henderson y Tilton (1995). Las letras corresponden al test de Tukey ($\alpha=0.05$).

Tratamientos	Resultado de eficacia (%)
1 aplicación	51a
2 aplicaciones	15b
3 aplicaciones	13b

manejo integrado de *Lobesia botrana* en vides como una alternativa sustentable en el cambio climático PYT-2017-0182” para generar plaguicidas microbianos a escala piloto con distintas formulaciones, junto con realizar sus evaluaciones en zonas productivas de vid y urbanas, en donde las primeras son foco de re-infestación por las segundas que, además, se acompañan con la entrada de enfermedades fúngicas como Botrytis, sumando costos por los manejos de enfermedades fúngicas.

La apuesta de trabajar en etapas invernales se debe a que nuestros HEP, tanto *Beauveria* como *Metarhizium*, funcionan en invierno y en vides no se realizan aplicaciones de fungicidas en esta etapa. Por lo tanto, la pupa en diapausa invernal es el momento ideal de aplicación de nuestros hongos formulados como

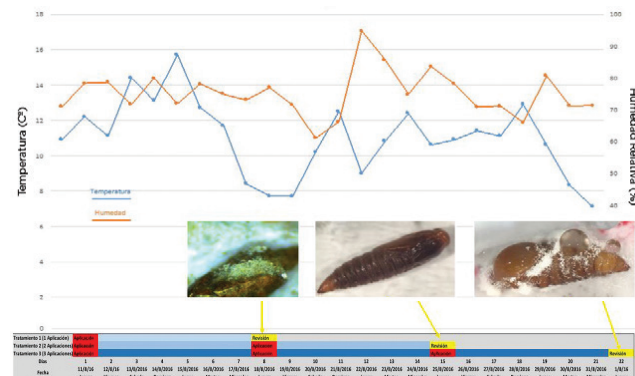
plaguicidas microbianos. Nuestras evaluaciones preliminares en la temporada invernal del 2016 alcanzaron un 51% de eficacia a los 21 días post aplicación (dpa) en zonas urbanas de la RM (Ver Tabla 1 y Figura 1).

Durante la temporada 2017 nos dedicamos a evaluar distintos HEPs conservados en el banco de recursos genéticos microbianos de INIA, para profundizar en su clasificación molecular, evaluar su infectividad sobre pupas junto con estimar su capacidad productiva en biorreactores con el fin de desarrollar nuestros formulados tipo polvos mojables, emulsiones inversas y encapsulados. Los ensayos in vitro de nuestras formulaciones de HEP empleado una pulverizadora estática (torre Potter) mostraron una eficacia de un 100% a los 10 días post aplicación (dpa).

En la Figura 2 se puede observar los efectos de las emulsiones inversas tanto de cepas de *Beauveria* como *Metarhizium* sobre pupas y polillas de *L. botrana*. Por otra parte, en la Figura 3 se muestran los efectos del polvo mojable de *Beauveria* y su mecanismo donde coloniza la seda, sus hifas la atraviesan hasta encontrar la pupa y generan los apresorios en su superficie para poder consumir todos los carbohidratos y proteínas del interior de la pupa.

En estos momentos, tempora-

FIGURA 1
Evaluación de plaguicida microbiano en base a *Beauveria* en temporada invernal 2016 en zonas urbanas de la Región Metropolitana. Las imágenes de pupas son representativas del promedio encontradas en cada evaluación.



#BIOINSUMOS

FIGURA 2

Efectos de HEPs sobre pupas y ninfas de *L. borbona*. A, Beauveria sobre pupa. B, Metarhizium sobre pupa. C, Beauveria sobre pupa. D, Metarhizium sobre pupa.

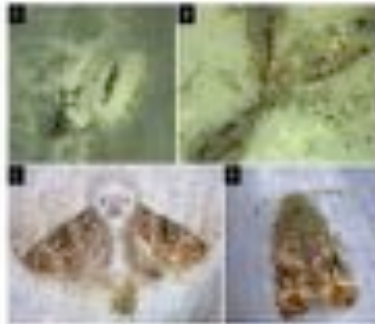


FIGURA 3

Efecto de Beauveria sobre pupas de *L. borbona* con poda. De izquierda a derecha, con Beauveria, se puede observar como el HEP coloniza la superficie de la seda, las hifas penetran esta y alcanzan a la pupa y su interior, incluso al realizar una tracción de la pupa con ayuda de la tijera, se puede apreciar como las hifas penetran la cutícula (ver color azul). En el mismo orden, sin Beauveria, se observan los estados de desarrollo sin aplicaciones de HEP.



FIGURA 4

Efecto de Metarhizium sobre distintos estados de desarrollo de *B. bifaria*. De izquierda a derecha, con Metarhizium, se puede observar como el HEP infecta los tres principales estados de desarrollo, desde huevo a adulto. En el mismo orden, sin Metarhizium, se observan los estados de desarrollo sin aplicaciones de HEP.



FIGURA 5

La figura presenta los resultados de distintos probóles, biorrecombinados, acción, género de distomus, HEP comercial junto con Beauveria y Metarhizium formulados por INIA.

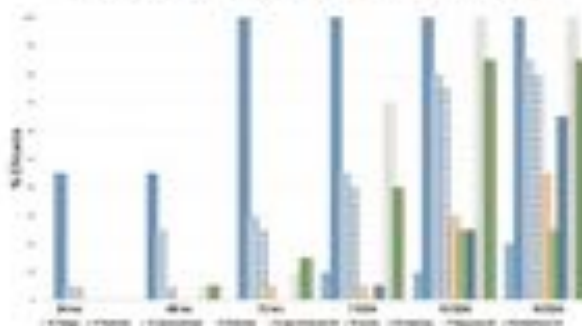


FIG. 5. HEP 2017

da invernal 2018, nos encontramos evaluando nuestros plaguicidas microbianos en distintos sectores de la Región Metropolitana y O'Higgins, donde se evalúa la viabilidad de las pupas después de las aplicaciones de los tratamientos con los HEP formulados de INIA y otras herramientas de manejo integrado. Finalmente, estos formulados y sus aplicaciones ya comienzan su proceso de protección intelectual para su posterior lanzamiento a empresas del rubro que tenga interés en alternativas de control amigables y sostenibles con el medio ambiente, con el fin de que estos productos lleguen a nuestros campos y no queden sólo en investigación.

EL CASO DE LAS HORTALIZAS Y B. BIFARIA

Por otra parte, desde la temporada de verano de 2014 se presentó el brote de la plaga chinche puntada, *Bagrada bifaria*, la cual afecta a hortalizas, principalmente las brassicáceas. Esta plaga se ha extendido rápidamente alcanzando desde la Región de O'Higgins hasta la Región de Coquimbo la fecha. Nuestro trabajo en el área de control con microorganismos se encuentra en el marco del financiamiento del proyecto FIA. Desarrollo de un sistema de manejo integrado con bajo impacto ambiental orientado a mitigar las poblaciones de la chinche puntada, *Bagrada bifaria* (Burmeister, 1835) (Hemiptera, Pentatomidae) para una horticultura sostenible y competitiva PITT-2017-08474, el cual cuenta con el apoyo del SAG y comienza con evaluar si los HEP poseen efecto sobre distintos estados de desarrollo de la plaga en cámaras de crías (Ver Figura 4).

Posteriormente, se realizaron evaluaciones en laboratorio utilizando nuestros formulados de HEP en pulverizadores estéticos obteniendo

FIGURA 6
Efecto de *Beauveria* y *Metarhizium* sobre *B. hirta*. El efecto se puede observar a tiempo 0d, 3d y 14d después de aplicación los HEP formulados.



FIGURA 7
La figura muestra un cultivo atropista, *Alyssum elaeagnifolium* (L.) y en su base porta encapsulados de hongos entomopatógenos. B, en el recuadro muestra a *Epiphyta hirta* muerta y colonizada por el HEP sostenida del tallo de la planta por la aparato bucal. C, acercamiento de *B. hirta* colonizada por *Beauveria*.



eficacias sobre un 80% a los 10 días en moscas. En este proyecto se plantea un manejo integrado de la plaga, en el cual los agroquímicos (ej. un piretroid) cumplen el rol de bajar drásticamente la población de larvas, para posteriormente mantener la supresión del crecimiento de la plaga con la aplicación de formulaciones de hongos entomopatógenos. (Ver figura 6 y 8).

En la actualidad estamos preparando formulados de HEP encapsulados que se adicionan a cultivos atropistas (Ver figura 7) y feromonas de agregación con mezclas de HEP para desarrollar un control integral con el objetivo de bajar las poblaciones emergentes en los brotes de primavera y verano.

En conclusión, las potencialidades y desarrollo de las plaguicidas microbianas generados por INIA están en constante evaluación para asegurar su calidad y eficacia junto con procesos de producción intelectual, características

difusoras y necesarias para ser viables en el manejo integrado de plagas. Por lo tanto, siempre se debe recordar que los microorganismos u organismos controladores de plagas no son la solución al problema, pero sí son un aporte significativo por todos los beneficios que ofrecen, como su procedencia nativa, adaptabilidad a distintos ambientes, persistencia, diferentes mecanismos de acción que generan en el control de una plaga y disminuyen los riesgos de resistencia.

Además, su empleo permite disminuir los límites máximos de residuos (LMR) contribuyendo con las buenas prácticas agrícolas y con la inocuidad de los alimentos, favoreciendo de este modo la salud de los operarios junto con la de los consumidores. Por lo tanto, el cambio cultural hacia una agricultura sustentable será una opción posible para satisfacer las necesidades alimentarias, económicas y medio ambientales que requiere nuestra sociedad.



BIOINSUMO

UN FUTURO MUY CERCANO

EL DESARROLLO DE UN BIOPESTICIDA EN BASE A HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA BIOCONTROL Y MANEJO INTEGRADO DE *LOBESIA BOTRANA* EN VIDES ES UNA ALTERNATIVA SUSTENTABLE QUE ESTÁ CADA VEZ MÁS CERCA DE LOS AGRICULTORES.

Una de las principales plagas que amenaza la oferta exportadora de alimentos en Chile es la *Lobesia botrana* y para combatirla es común que los productores recurran al uso de plaguicidas poco amigables con el medioambiente, debido a que no existe en el mercado alternativas sustentables que ayuden a enfrentarla. Por ello, resulta

fundamental contar con nuevas herramientas.

Alertados por esta situación, un grupo de investigadores de INIA La Platina, liderados por el doctor en Biotecnología, Eduardo Tapia, desarrolló por más de dos años un proyecto que buscaba generar un bioplaguicida en base a hongos entomopatógenos y bacterias para biocontrol y/o manejo integrado de *Lobesia botrana* en vides.

"Esto responde a una tendencia mundial por optar por tecnologías más sustentables. INIA es uno de los pioneros a nivel nacional en trabajar en

este ámbito, incluso, hace más de veinte años en el sur y en la zona centro de Chile se ha trabajado en control biológico, ya sea con artrópodos o con microorganismos", indicó Tapia.

Este grupo de profesionales espera disminuir el uso recurrente de plaguicidas poco amigables con el medioambiente en los campos, generando alternativas más ecológicas que ayuden a enfrentar la comúnmente llamada polilla de la vid. Cabe destacar que esta plaga cuarentenaria se encuentra presente desde la Región de Atacama hasta La Araucanía, afectando

principalmente a las vidés, arándanos y ciruelas. Por lo tanto, si no se controla a tiempo puede generar pérdidas en los campos e incluso cierres de mercados para las exportaciones de vides.

"Para enfrentarla, durante muchos años, se han investigado distintas cepas de estos hongos entomopatógenos, con el objetivo de combatirla



Eduardo Tapia, doctor en Biotecnología de INIA La platina



Fabiola Altamira, bioquímica de INIA La platina

de manera sustentable, es decir, disminuyendo el uso de productos químicos. Hasta el momento los resultados no habían sido tan evidentes", explicó el especialista.

INICIATIVA SUSTENTABLE

La iniciativa denominada "Desarrollo de un biopesticida en base a hongos entomopatógenos parabiocontrol y manejo integrado de *Lobesia botrana* en vides como una alternativa sustentable en el cambio climático" la ejecutó INIA La Platina y contó con la colaboración del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) y el apoyo de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), todos organismos vinculados al Ministerio de Agricultura que buscaron obtener una técnica sustentable para su manejo y control.

"Como Fundación creemos que la innovación es clave en esta área de la agricultura y en el contexto de cambio climático, que es uno de los desafíos estratégicos de nuestra fundación. Esta es una plaga que puede representar regulaciones al comercio de nuestra fruta y con este proyecto se han logrado resultados bastante auspiciosos. Se trata de un producto totalmente innovador, cuyo principal atributo es su carácter sustentable, que permite un manejo integrado de esta plaga en vides", señaló el director ejecutivo de FIA, Álvaro Eyzaguirre.

En tanto, el jefe de la división de Protección Agrícola y Forestal del SAG, Rodrigo Astete, señaló que "el Programa



FIGURA 1

Ciclo de infección y desarrollo de un hongo entomopatógeno (HEP) sobre una pupa de *Lobesia botrana*. Secuencialidad de los pasos de infección y colonización, desde la adhesión de la espora a la cutícula y capullo de la pupa hasta la emergencia del hongo.

FIGURA 2

Actividad insecticida de *Bacillus thuringiensis* sobre una larva de *Lobesia botrana*. Se indican con números la secuencialidad de la acción de *B. thuringiensis* (espora) y su toxina.

Nacional de *Lobesia botrana* del SAG se destaca por propiciar el control de la plaga de manera lo más amigable con el medio ambiente. Es por esto que la herramienta principal de control es la confusión sexual, junto al control biológico, y estamos apoyando el desarrollo de nuevas herramientas, como el biopesticida en base a hongos entomopatógenos. Los resultados de este trabajo realizado por INIA y FIA muestran un gran avance en el desarrollo de un innovador producto".

Agregó que "el desarrollo de una herramienta como los hongos entomopatógenos permite ampliar la estrategia de control de esta plaga cuidando el medio ambiente, ya que este tipo de productos no tienen residuos y su impacto sobre el ecosistema y la población son

mínimos en comparación con el uso de los agroquímicos. La industria agroalimentaria internacional está exigiendo la disminución del uso de productos químicos, y es por esto que el uso de los hongos entomopatógenos resulta una buena alternativa para complementar con otro tipo de control autorizado por el SAG, como es la confusión sexual".

ESTRATEGIA

"Los resultados de las primeras temporadas se lograron tras la evaluación del producto en terreno, junto a los agricultores. Además, éstas fueron sometidas a las opiniones de la academia y representantes del sector privado", destacó Tapia, quien agregó que este es un producto biológico, el cual no tiene la alta eficacia de los químicos. "En el mejor de

los casos, alcanza entre el 50% y 70% de efectividad, ya que es parte de un manejo integrado", detalló. Asimismo, aclaró que la meta al año 2020 que tiene el proyecto, apunta a generar un bioinsumo, protegido intelectualmente por INIA, que esté al alcance de todos los agricultores.

Para un manejo sustentable de esta plaga se requieren estrategias de control amigable con el medio ambiente, siendo una buena alternativa el empleo de hongos entomopatógenos (HEP) (*Beauveria* sp. y *Metarhizium* sp.) y de bacterias (*Bacillus thuringiensis*) (Figuras 1 y 2). Para lograr esto, en el proyecto de "Bioplaguicidas para el control de *Lobesia botrana* (P/T-2017-0182)" ejecutado por INIA y SAG, y apoyado por FIA,

FIGURA 3

Eficacia de los tratamientos por Henderson y Tilton (H y T), después de la aplicación de tratamientos en INIA La Plateria (Región Metropolitana), de abril a mayo de 2019. B. pseudobassiana (Cepa HEP 1) y M. robertsii (Cepa HEP 2).

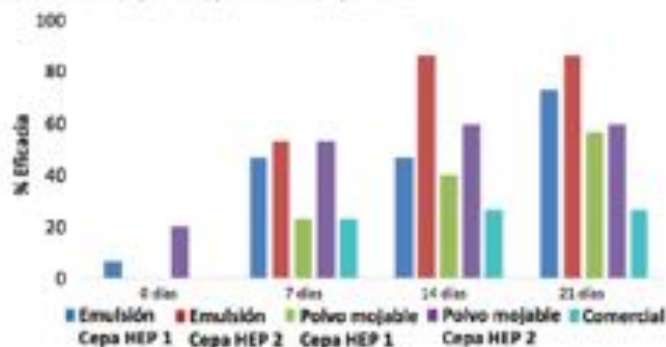


FIGURA 4

Eficacia de los tratamientos por H y T, después de la aplicación de tratamientos en Placilla (Región de O'Higgins) junio-agosto de 2019. B. pseudobassiana (Cepa HEP 1) y M. robertsii (Cepa HEP 2).

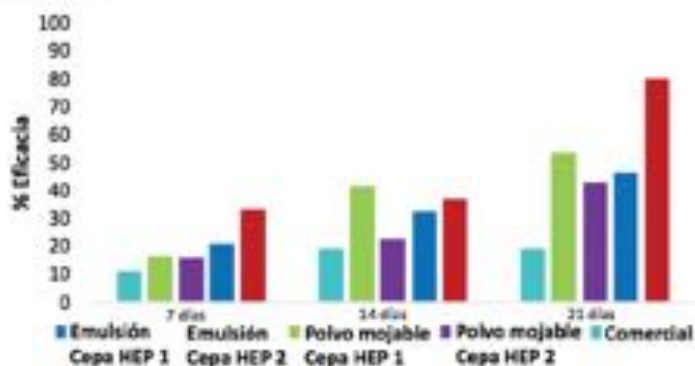


FIGURA 5

Captura de adultos de Lobesia botrana en trampas de feromonas, post aplicación de tratamientos en INIA La Plateria (La Plateria, Región Metropolitana) sept.-oct. 2019.

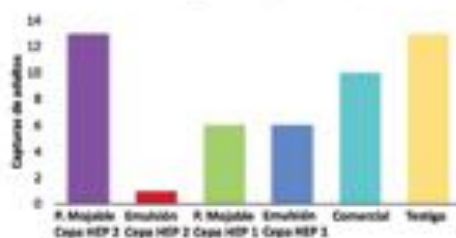
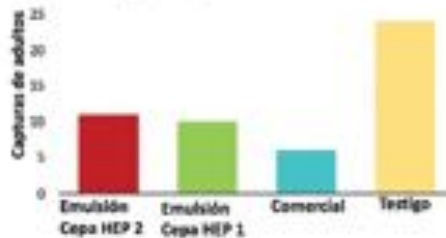


FIGURA 6

Captura de adultos de Lobesia botrana en trampas de feromonas, post aplicación de tratamientos en Placilla (Región de O'Higgins) sept.-oct. 2019.



Paulo Godoy, ingeniero agrónomo y extensionista de INIA La Plateria

se seleccionaron las mejores cepas de HEP en base a su facilidad de producción a gran escala y por su eficacia sobre pupas en ensayos *in vitro*. Posteriormente, se realizaron aplicaciones de biopesticidas de los hongos *Beauveria pseudobassiana* (cepa HEP 1) y *Metarhizium robertsii* (cepa HEP 2) sobre la plaga, en estado de pupas en su diapausa de invierno y de Bacillos (*thuringiensis* (producto comercial) en estado de larva (L1).

Las eficiencias obtenidas por los HEP, en ensayos de campo, en las regiones Metropolitana (Figura 3) y O'Higgins (Figura 4) oscilaron entre 50% y 80% en invierno y se redujeron las capturas de *Lobesia botrana* en las regiones mencionadas entre un 50% y 90% (Figuras 5 y 6).



Complementariamente, la eficacia de las aplicaciones de *B. thuringiensis* varió de 55% a 85% en primavera. Finalmente, los resultados dieron origen a una propuesta de manejo integrado compatible con las estrategias existentes, permitiendo una producción de vid sustentable y amigable con el medioambiente (Figura 8).



TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA

“Los profesionales de INIA están conscientes de la importancia de formar y apoyar el capital humano en el sector agrícola, por eso la transferencia tecnológica es una arista fundamental a la hora de desarrollar un trabajo de investigación y el proyecto ‘Desarrollo de un biopesticida en base a hongos



entomopatógenos para biocontrol y/o manejo integrado de *Lobesia botrana* en vides, como una alternativa sustentable en el cambio climático’, no fue la excepción”. Así lo explicó el ingeniero agrónomo y extensionista de INIA La Plátina, Paulo Godoy, quien estuvo a cargo de implementarla. Al respecto, Godoy destacó que comenzaron

el trabajo teniendo presente que la participación de los agricultores posee igual o más importancia que la información agronómica, debido a que serán ellos quienes adopten la tecnología generada. Por ello, constituyeron grupos de agricultores en torno a frutales de vid que se denominaron Grupos de Transferencia Tecnológica (GTT), cuyo objetivo fue constituir una instancia formal y permanente de interacción, entre los especialistas y agricultores, durante los meses de duración del proyecto.

Comenzaron la convocatoria de estos grupos en las comunas de Isla de Maipo y Lampa, en la Región Metropolitana,

Estrategia Syngenta para control *Lobesia botrana*



Voliam Flex

Controla *Lobesia botrana* y otros ácaros y nematodos en vides.

Efecto sistémico.

Elimina larvas y protege la cosecha.

Controla ácaros, nematodos y virus.



Delfin WG

Actúa sobre todas las etapas de desarrollo.

No deja residuos en la fruta.

Controla el insecto en todas las etapas de desarrollo.

Controla virus y nematodos.



Karate Zenon

Eliminación de *Lobesia botrana* que genera un alto efecto residual.

Elimina los control de *Lobesia botrana* y virus.



CIBETRAK EGV MISO

Es una bacteriana.

El control de *Lobesia botrana* por hongos de tipo entomopatógeno.

100 a 150 días de protección.



Proclaim Forte

Largo efecto residual.

Nuevo modo de acción.

Elimina larvas y controla el virus de *Lobesia botrana* en vides.





DESCUBRENOS

Encarga el producto desde tu móvil en:

<http://get.syngenta.cl>

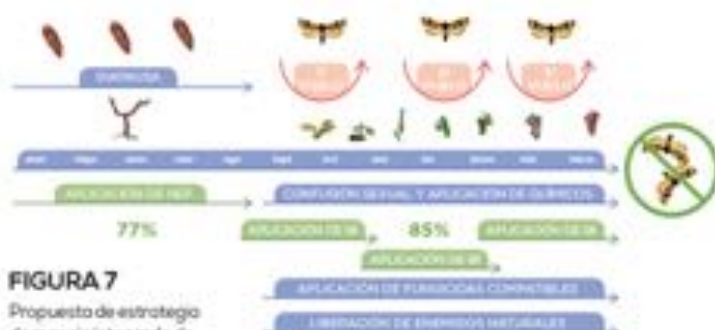
www.syngenta.cl

Atención: Lea siempre la etiqueta antes de usar el producto.

Entregue los envases vacíos con el Etiqueta Lavada en los Centros de Acopio.

Para mayor información contacte a nuestro Equipo Técnico o Bases al 2 29410100.

© 2014 Syngenta. Todos los derechos reservados.

**FIGURA 7**

Propuesta de estrategia de manejo integrado de plagas para el control de *Lobesia botrana*. Los resultados de los porcentajes de eficacia presentados nos permiten inferir que el uso de hongos entomopatógenos es una contribución para el control invernal de los pupos de la polilla de la uva, además, son compatibles con el control de larvas con *B. thuringiensis*.



Nancy Vitta, especialista en entomología de INIA La Plata

vinícola y exportación de uva, piezas fundamentales de la cadena productora nacional", detalló el extensionista.

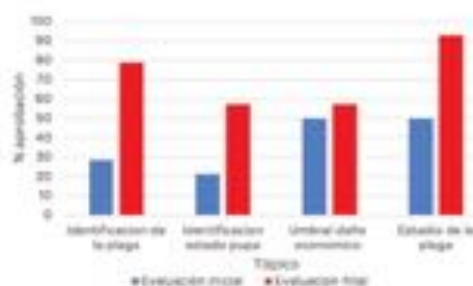
En total, durante este período se trabajó con 32 agricultores directos, con quienes se realizaron distintas actividades de capacitación e implementación de nuevas tecnologías, utilizando herramientas audiovisuales y prácticas.

Una de éstas estuvo orientada a la identificación de los distintos estados de *Lobesia botrana* (huevo, larva, pupa, adulto), lo cual es de vital importancia porque la *Lobesia botrana* es una plaga cuarentenaria distribuida en todo el país que produce mayores pérdi-

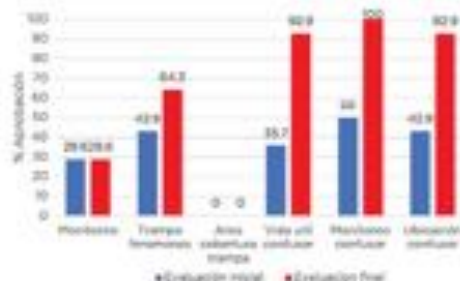
das invitando a los agricultores pertenecientes al Programa de Desarrollo Local (Prodesal) a formar parte del GTT de Vides Productores Urbanos. "En las primeras reuniones detallamos los alcances del proyecto y los derechos y deberes que implica incorporarse a un GTT, dejando en claro que la confianza y el compromiso son pilares fundamentales para el éxito de la metodología GTT. Pero, además, en forma paralela socializamos esta iniciativa con importantes empresas en el rubro viti-

FIGURA 8

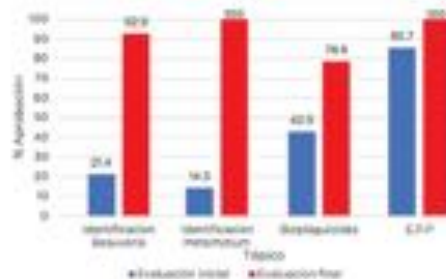
BIOLOGÍA DE LA PLAGA. Porcentaje de aprobación en evaluación inicial y final respecto al tópico biología de la plaga.

**FIGURA 9**

MONITOREO. Porcentaje de aprobación en evaluación inicial y final respecto al tópico monitoreo.

**FIGURA 10**

HONGOS ENTOMOPATÓGENOS. Se evaluó el tópico que tiene relación con la identificación de los hongos entomopatógenos para el control invernal de *Lobesia botrana*, en estado de pupa.





das en las variedades de uva de mesa como Thompson Seedless y en el caso de vid vinífera puede atacar Cabernet Sauvignon, Carmenere, Merlot, etc., que son las variedades de mayor importancia económica y que presentan problemas con esta plaga a partir de septiembre en la zona central de Chile.

"La necesidad de reducir el número de aplicaciones de insecticidas, de acuerdo a los periodos de mayor susceptibilidad de la plaga, ha llevado a buscar metodologías y estrategias de control, en el caso de lepidópteros de importancia a nivel mundial, como son las especies de la familia Tortricidae, a la cual pertenece *Lobesia botrana*. Es por ello que entre las actividades programadas se realizó un taller respecto del ciclo biológico de la plaga, a cargo de la especialista en entomología de INIA La Platina, Nancy Vitta, y posteriormente fuimos al predio de un agricultor a implementar lo aprendido", dijo Godoy.

Otra de las actividades teórica-prácticas realizadas en terreno, para los agricultores y equipo técnico fueron el taller de metodología para el establecimiento de unidades de validación que buscó la obtención de resultados en un personal productivo y urbano; la charla sobre la formulación de biopesticidas: polvos mojables, granulados y emulsiones inversas para mitigar la plaga *Lobesia botrana* en estado de pupa en periodo invernal; y el taller de identificación, monitoreo y control con hongos entomopatógenos de la Plaga *Lobesia botrana* en estado invernal en vid, entre otras.

Al respecto, el extensionista de INIA La Platina dijo que no sólo les importó la cantidad de actividades realizadas, sino que pudieron comprobar el nivel de conocimiento alcanzado por los agricultores. "Esto nos llenó de satisfacción, porque al comienzo de la actividad se realizó una prueba de conocimientos a los participantes y luego la repetimos al final. Realmente el resultado nos asombra, porque supera nuestras expectativas", comentó el extensionista.



Maryland

Centro de Idiomas



IDIOMAS

Viajes

Migración Académica

Intercambio

Cursos

Traducciones

Servicios In-Office

+562 2365 2946 +569 9538 3533

info@maryland.cl

@centrodeidiomasmaryland

www.maryland.cl

Nueva Tajamar 481-QF.1902 Torre Norte
Las Condes - Chile

16.3 ANEXO. NEGOCIOS TECNOLÓGICOS.

Carta de intención



Solicitud de patente.

Estimado Usuario: ESTUDIO VILLASECA Y CIA

INAPI - Solicitud Confirmada



N° Solicitud: 301802396.

Fecha Presentación: 22/08/2018 18:13:02.

Folio Pago Electrónico: 427451.

N° Atención: 180822181043332.

Nueva Solicitud de Patente - Patente Invención

SOLICITANTE(S)

Nombre/Razón Social: INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIA)
Email: vilaseca@vilaseca.cl
Teléfono: (562) 2363-3500

INVENTOR(ES)

Nombre/Razón Social: TAPIA RODRIGUEZ, Eduardo Andres
Rut: 14121808-2
Domicilio: Av. Viña Maipo 7735, Depto 1802-C, Santiago
Comuna: La Florida
País: CHILE
Email: vilaseca@vilaseca.cl
Teléfono: (562) 2363-3500

Nombre/Razón Social: ALTAMIRA PASSALACQUA, Fabiola Alejandra
Rut: 16007904-T
Domicilio: Dña. Gamero 1476, Santiago
Comuna: Independencia
País: CHILE
Email: vilaseca@vilaseca.cl
Teléfono: (562) 2363-3500

Nombre/Razón Social: DE LA BARRA MERCADO, Nathalia Maria
Rut: 18139015-9
Domicilio: Mario Kreutzberger 1558, Depto. 1112, Santiago
Comuna: Santiago
País: CHILE
Email: vilaseca@vilaseca.cl
Teléfono: (562) 2363-3500

Nombre/Razón Social: VITTA PALACIOS, Nancy del Carmen
Rut: 10380903-T
Domicilio: Herman Brios Cruz 1182, Santiago
Comuna: Maipo
País: CHILE
Email: vilaseca@vilaseca.cl
Teléfono: (562) 2363-3500

Nombre/Razón Social: ESTAY PALACIOS, Perioda
Rut: 6773204-6
Domicilio: Mataga 211, Depto. 61, Santiago
Comuna: Las Condes
País: CHILE
Email: estaypalacios@estaypalacios.cl
Teléfono: (562) 2362-3500

REPRESENTANTE(S)

Nombre/Razón Social: ESTUDIO VILLASECA Y CIA
Rut: 7616660-1
Domicilio: ALONSO DE CORDOVA 3131, PISO 8
Comuna: Las Condes
País: CHILE
Email: villaseca@villaseca.cl
Teléfono: (562) 2362-3500

PATENTE

Tipo Solicitud: Patente invención
Título: Composición biopesticida en base a hongos entomopatógenos nativos para el biocontrol y/o manejo integrado de Lobesia botrana en viñes, ciruelos y arándanos, y método de aplicación de dicha composición, en diapausa invernal, en pupas ubicadas en zonas posteriores/no expuestas del ródona de la planta.
Resumen: Composición biopesticida en base a hongos entomopatógenos nativos para el biocontrol y/o manejo integrado de Lobesia botrana en viñes, ciruelos y arándanos, y método de aplicación de dicha composición, en diapausa invernal, en pupas ubicadas en zonas posteriores/no expuestas del ródona de la planta.

DOCUMENTO(S)

Memoria: Description-799038_1.pdf
Piego: Claims-799038_2.pdf
Dibujo: Drawings-799038_3.pdf
Hoja Técnica: DataSheetForm-799038_5.pdf
Cert. depósito material biológico: BiologicalMaterial-799038_4.pdf

Oficina Internet
INAPI - INSTITUTO NACIONAL DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

Nota: Este e-mail ha sido enviado en forma automática, por lo cual usted no debe responderlo.
Cualquier consulta realícela directamente al teléfono (56 2) 2 867 5400

17. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.

Altimira, F., De La Barra, N., Rebufel, P., Soto, S., Soto, R., Estay, P., Vitta, N., Tapia, E. Potential biological control of the pupal stage of the European grapevine moth *Lobesia botrana* by the entomopathogenic fungus *Beauveria pseudobassiana* in the winter season in Chile. *BMC Res Notes* 12, 548 (2019) doi:10.1186/s13104-019-4584-6.

Bellon, M.R. 2002. Métodos de Investigación Participativa para evaluar tecnologías: Manual para científicos que trabajan con agricultores. México, D.F., México. CIMMYT, p.106.

Berdegúe, J.A. 2014. "La Agricultura Familiar en Chile", Serie Documento de Trabajo N° 152, Grupo de Trabajo Desarrollo con Cohesión Territorial, programa Cohesión Territorial para el Desarrollo. Rimisp Santiago Chile.

CEPAL/OCDE. 2005. Evaluaciones del desempeño ambiental: Chile. 246 p. Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos, Comisión Económica para América Latina y el Caribe, Santiago, Chile. Disponible en: https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/1288/S0500003_es.pdf (consultado abril 2020)

García-Huidobro V. Raimundo y otros. 2006. "Manual Operativo para Grupos GTT". Santiago, Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín INIA N° 146, p.84.

Henderson, C., F. & Tilton, E., W. (1955). Tests with acaricides against the brow wheat mite, *Journal of Economic Entomology*, 48,157-161.

Sitio Web SAG: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/lobesia_uvas_30-08-19_vf.pdf

Sitio Web SAG: <http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/control-predios-lobesia-botrana>

Hussain A, Rizwan-ul-Hag M, Al-Ayedh H, Al-Jabr AM. 2014. Mycoinsecticides: potencial and future perspective. *Recent Pat Food Nutr Agric* 6:45-53.

Ioriatti C, Anfora G, Angeli G, Mazzoni V, Trona F. 2009. Effect of chlorantraniliprole on eggs and larvae of *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae). 65:717-722.

Kolmans E. "La Educación popular, los Enfoques Educativos Modernos y la Metodología CaC".

http://www.pidaassa.org/mvertical/meto_herram/La_educacion_popular_y_CaC.pdf.

Martín-Vertedor D, Ferrero-García JJ, Torres-Vila LM. 2010. Global warming affects phenology and voltinism of *Lobesia botrana* in Spain. *Agr For Entomol*. 12:169–176.

Reineke A, Thiéry D. 2016. Grapevine insect pests and their natural enemies in the age of global warming, *Journal of Pest Science* 89: 313-328.

Tapia, E., Altimira, F., De La Barra, N., Vitta, N., Estay, P. (2018) composición biopesticida en base a hongos entomopatógenos nativos para el biocontrol y/o manejo integrado de *Lobesia botrana* en vides, ciruelos y arandos. Método de aplicación de la composición. INAPI (Chile) N°: 201802396.

Zolezzi V., Marcelo (ed). 2014. Fortalecimiento de las capacidades de innovación y de asociatividad de los productores hortícolas de la Región Metropolitana. 121p. Boletín N° 288. Instituto de investigaciones agropecuarias. Centro Regional de Investigación La Platina. Santiago.