

FORMULARIO BV-II
INFORME TECNICO FINAL
SUBPROGRAMA CONTRATACION CONSULTORES CALIFICADOS

1. IDENTIFICACION DE LA PROPUESTA
--

1.1 Título de la Propuesta

Evaluación de la situación fitosanitaria del nogal en Chile

1.2 Especialidad

Fitopatología Frutal

1.2 Nombre Consultor

John Mircetich

1.4 Patrocinante : INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS

1.5. Contraparte nacional

1.6. Grupo que presentó la propuesta

Departamento de Fruticultura INIA La Platina

Gamaliel Lemus S.

Jorge Valenzuela B.

Mario Alvarez A.

Blancaluz Pinilla C.

Guido Herrera M.

CRI INTIHUASI : Fernando Riveros.

2. ASPECTOS TECNICOS

2.1. Itinerario desarrollado por el consultor.

Fecha 12/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) : Viaje Sacramento - Santiago

Actividad :

Fecha 13/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) : Santiago

Actividad : Presentación personal INIA - HOTEL

Fecha 14/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) : INIA LA PLATINA - SANTIAGO

Actividad : Recorrido por instalaciones y programación del trabajo. Toma de muestras desde huertos: Pirque: Huerto Sr. Otto Zeman. Evaluación sanitaria y toma de muestras sospechosas de Phytophthora.

Fecha 14/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) : Buin-Rancagua- INIA: Productores Particulares.

Actividad : Observación síntomas y condiciones de manejo del Nogal:

Centro Experimental Los Tilos : Juan Cortes T.

José Miguel Latuf

Jorge Soto K.

Fecha 16/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) :

Actividad : Descanso

Fecha 17/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) :

Actividad : Descanso

Fecha 18/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) : Los Andes - San Esteban

Actividad : Visita y evaluación sanitaria Proyecto INIA- FIA: Alternativas de frutos de nuez.

San Esteban : Huerto Sr. Rubén Briones

Calle Larga : Huerto Sr. Javier Krassemann

Calle Larga : Huerto Sr. Carlos Rivacoba

Fecha 19/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) : Los Andes

Actividad : Visita y evaluación sanitaria huerto Sr. Miguel Nenadovich.

Recomendaciones en manejo del riego

Fecha 20/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) : Santiago - Preparación charlas

Actividad :

Análisis de Laboratorio, reunión con fitopatólogos INIA

Fecha 21/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) : Santiago INIA - CRI LA PLATINA

Actividad : CHARLA: Phytophthora en frutales de hoja caduca, con especial énfasis en nogal.

CHARLA: "Blackline" en nogal. Un riesgo para Chile.

Fecha 22/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) : INIA CRI LA PLATINA

Actividad : Evaluación resultados Laboratorio de muestras de campo.

Fecha 23/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) : Descanso

Actividad :

Fecha 24/Enero/99

Lugar (Ciudad e Institución) : Regreso Santiago - Sacramento.

Actividad :

2.2. Cumplimiento del o los objetivos propuestos

A) Reconocimiento de problemas sanitarios en nogal.

Se estableció que la especie nogal esta expuesta a serios problemas sanitarios causados por diferentes especies de *Phytophthora*, tanto en las Regiones, V. Metropolitana y VI.

B) Monitoreos en diferentes huertos que podrían presentar problemas de "blackline" a través de las 3 Regiones.

C) Se establecieron contactos para el desarrollo de técnicas de diagnóstico tanto para virus como para *Phytophthora* a nivel de laboratorio.

D) Se pone en evidencia una carencia nacional que dice relación con la identificación de las especies de *Phytophthora* presentes en el país. Se establecen, en consecuencia, las bases para un Proyecto al respecto.

2.3. Descripción detallada de la tecnología capturada, capacidades adquiridas, productos, etc.

a) *Phytophthora*

Phytophthora es un género endémico en todo el mundo y afecta a muchas especies frutales, incluyendo al nogal. En California desde 1975 se ha estudiado la presencia de más de 14 especies de este género, utilizando medios específicos para los aislamientos, los cuales fueron traspasados al INIA (Anexo 1). Una misma especie de *Phytophthora* afecta a más de un frutal y, a su vez, un frutal puede verse afectado por una o más especies, simultáneamente. Esto es de suma importancia en el manejo y control de la enfermedad.

En Chile los trabajos de los investigadores Adriana Pinto y de Bernardo Latorre han identificado algunas especies presentes en nuestros huertos, pero se requiere un trabajo sistemático para la identificación de la flora completa de este Ficomicete en nuestras condiciones.

La importancia de *Phytophthora* radica en que es un habitante normal del suelo, asociado al agua de riego y favorecido por las condiciones de laboreo del suelo: Presencia de malezas, daños mecánicos en troncos, períodos de anegamiento, uso excesivo de fertilizantes nitrogenados, entre otros. El manejo del riego, en consecuencia, es fundamental para prevenir o convivir con la enfermedad

Existe daño de especies de *Phytophthora* tanto en condiciones de riego superficial como en condiciones de riego mecanizado. Se asocia un ataque de *Phytophthora syringae* en troncos y ramas madres de árboles que se riegan por microaspersión. Problema que se confundió durante mucho tiempo con el ataque de la bacteria *Pseudomonas syringae* en California y otras zonas del mundo. Este ejemplo revela que no sólo por cambiar el método de riego se solucionan los problemas que este hongo ocasiona.

No existe un control químico absolutamente seguro para la enfermedad. Sólo el uso de Bromuro de Metilo elimina el hongo del suelo, con todas las restricciones que este producto presenta; además, la reinfestación es rápida. El control con Fosetil aluminio o Metalixilo se basa en que estos productos sólo retardan el proceso de deterioro de la planta al darle mayor resistencia a los tejidos contra la invasión de la enfermedad. En todo caso la eliminación total del hongo, con los medios químicos actuales, no es posible.

La enfermedad está asociada a suelos fértiles, pesados y con exceso de humedad, pero en la visita realizada por el Dr. Mircetich a nuestros huertos, se observó que debido al laboreo, en Chile todos los suelos presentan incidencia del hongo en los cultivos frutícolas visitados.

Los portainjertos resistentes son la solución a los problemas de *Phytophthora*, siempre que previamente se conozca cuáles son las especies presentes en un suelo, ya que no existe un patrón resistente a todas las especies del hongo. Por ejemplo, nogal negro puede resistir *Phytophthora cactorum* y no *P. cinamomi*. Esta situación exige una evaluación agronómica y sanitaria de los portainjertos introducidos al país, para poder recomendar qué especie y sobre cuál portainjerto se puede replantar luego de levantar un huerto afectado por una determinada especie de este hongo. Las confusiones en la literatura especializada, son frecuentes debido a problemas de identificación de especies de *Phytophthora*.

El país necesita un Programa de identificación de especies de *Phytophthora* presentes en las diferentes áreas de cultivo de frutales de hoja caduca. Los laboratorios deben ofrecer una capacidad de diagnóstico a los productores, A los esfuerzos ya realizados se debe agregar mayor actividad.

b) Blackline

“Blackline” o el mal de la línea negra del nogal, es el síntoma ocasionado en un huerto de nogal corriente injertado en patrón de nogal negro o Paradox, debido a la presencia del virus “Cherry leaf roll Virus” (CLRv). Este síntoma está acompañado de la producción de brotes desde el patrón, decaimiento del vigor y falta de brotación. Cancros en la unión patrón-injerto, pérdida de la producción y calidad de la nuez. Esta enfermedad se reportó en Oregón en 1924, por primera

vez. y en California posteriormente en 1929, en principio se describió como una incompatibilidad fisiológica entre la unión patrón - injerto.

En el caso de nogal injertado en portainjerto franco no se observa el síntoma de la línea negra, pero se puede presentar el resto de los síntomas descritos.

El único control que existe para esta enfermedad es propagar material libre de virus ya que este se transmite tanto por polen como por injertación. Dado que en Chile el nogal se propaga sobre patrón franco, es indispensable un permanente diagnóstico del problema, sólo a través de pruebas serológicas, las cuales se implementan en el Laboratorio de Virología del CRI La Platina, a través de la tecnología que desarrolló el Dr. Mircetich.

En la visita realizada por el Dr. Mircetich no se encontró alguna planta con el síntoma, pero grados de incompatibilidad y presencia de rebrotes del patrón hacen necesario ulteriores análisis que serán llevados a cabo por el Laboratorio de Virología del INIA-CRI La Platina.

2.4. Aplicabilidad en Chile

(Región o zona, campo de aplicación, beneficio esperado, requerimiento para su aplicación)

El aporte del especialista se aplica en toda la zona productora de nueces, desde la IV hasta la VI Región. El nuevo enfoque a la problemática sanitaria permitirá aumentar producción y calidad de la fruta producida en el país.

Para su apropiada aplicación, la tecnología requiere: Una puesta a punto, a nivel de laboratorios, de diagnóstico. La introducción de portainjertos resistentes a *Phytophthora*. La producción de plantas libres de virus y el control de la presencia de virus en los huertos en forma periódica.

2.5. Evaluación del Consultor por la Contraparte Nacional

El Dr. John Mircetich es el mejor fitopatólogo a nivel mundial, en los temas tratados. Esto se confirma por los premios internacionales que ha recibido, tanto en USA como en Europa.

El trabajo realizado en Chile y la actividad desplegada por el especialista deja satisfechos las expectativas del INIA:

2.6. Sugerencias

A partir de esta visita se puede desarrollar:

- a) Programas de detección y de identificación de *Phytophthora* en huertos frutales de hoja caduca.
- b) Evaluación de portainjertos respecto su sensibilidad a *Phytophthora*.
- c) programa de limpieza viral en material de propagación del nogal.

Nota: Adjuntar todo material escrito o audiovisual entregado o elaborado por el consultor en su estadía en el país, y en general toda documentación escrita o visual que acredite las actividades realizadas.

1. Protocolo Laboratorio Fitopatología
2. Protocolo Laboratorio Virología
3. Listado Asistentes Charla.

3. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

3.1. Organización antes de la visita del consultor

a. Contacto inicial con consultor realizado por:

☒ Patrocinante ☐ Investigador/profesional
☐ FIA ☐ Otro : _____

b. Apoyo de Institución Patrocinante:

☒ bueno ☐ regular ☐ malo.

c. Recomendaciones

3.2. Organización durante la visita

☒ buena ☐ regular ☐ mala

Recomendaciones:

Fecha: 22 Febrero 1999

Firma del responsable de la ejecución : _____

ANEXO 1

PROTOCOLO LABORATORIO FITOPATOLOGIA

MEDIOS PARA AISLACION DE *Phytophthora sp.* en CRI LA PLATINA

PVP Culture Medium

(Pimaricin-Vancomycin-PCNB)

Corn meal agar.....28.2 grams

Distilled water.....1,660 milliliters

Autoclave corn meal agar and water for full 45 minutes.

After removing from the autoclave let media stir on a magnetic stirrer until media has cooled to about 55 C.

Then add PCNB solution and antibiotics:

PCNB.....8.3 milliliters

Pimaricin.....0.66 milliliters

Vancomycin.....500 milligrams

Pour into sterile plastic Petri plates; approximately 18 milliliters per plate

Keep culture plates in dark as much as possible.

Solutions:

PCNB: Pentachloronitrobenzene. 5 milligrams per milliliter in 95% ethanol. Heat ethanol to permit all of PCNB to dissolve.
Can keep at room temperature.

Pimaricin: 2.5% sterile aqueous solution (Sigma P-0440); use a syringe and needle pre-sterilized with 70% ethanol. Wrap vial in aluminum foil to keep in the dark and refrigerate.

Vancomycin HCl – comes in sterile vials—500 milligrams per vial; readily water soluble. Refrigerate.

PARP Medium

1. Add:	1 Liter	2 Liters	3 Liters
Difco Corn Meal Agar	17.0g	34.0g	51.0g
Distilled water	950 ml	1950 ml	2850 ml

2. Autoclave 30 minutes, then place into water bath to cool to 50°C.

3. Prepare Antibiotics (while agar is cooling):

ALWAYS WEAR GLOVES WHEN HANDLING ANTIBIOTICS!

<u>Pimaricin</u>	0.4ml	0.8 ml	1.2 ml
------------------	-------	--------	--------

(2.5% formulation) Light sensitive. Stored in refrigerator. Use syringe to add to medium. Rinse syringe thoroughly with ETOH before and after use.

<u>Ampicillin</u>	0.25g	0.50g	0.75g
-------------------	-------	-------	-------

Stored in freezer. Measure into test tube, add 10 ml of distilled water, vortex to dissolve, then add to media.

<u>Rifampicin</u>	0.01g	0.02g	0.03g
-------------------	-------	-------	-------

Stored in freezer. Measure into clean test tube. Add 1ml of DMSO for each 0.01g of solid Rifampicin, vortex until dissolved, add 10ml of distilled water for each 1ml of DMSO added and vortex again. Add to media.

<u>PCNB Solution</u>	5.0ml	10.0ml	15.0ml
----------------------	-------	--------	--------

Stored on lab shelf. Solution should be 5mg solid PCNB/1ml ETOH

- Mix antibiotics and media well, then pour into petri dishes on clean butcher paper or under hood.
- Store plates in refrigerator or cold room (keep out of light).
- Carefully rinse test tubes, weighing dishes, and spoons used for antibiotics with distilled water.

RECIPE/PROCEDURE FOR V-8/VERMICULITE INOCULUM

this recipe is for 1 pint canning jars, double recipe for quart jars.

1. Place jars in white Nalgene tubs.
2. Add 250ml of vermiculite to each jar
3. Add 20ml of untreated Montezuma oat seed to each jar.
4. Thoroughly mix vermiculite and oat seed with clean rod.
5. Prepare V-8 broth as follows.

for 1 liter of broth:	V-8 juice	200ml
	CaCO ₃	2.0g
	dH ₂ O	800ml

6. Add 175ml of broth to each jar, try not to spill.
7. Place lids over jars with clean holes in them. Discard any lids with cracked or torn holes in them.
8. Place fresh sponge plugs in lid holes. Do not use old plugs. Insert plugs half way and make sure the plug is secure.
9. Add about ¼ in. of tap water into the bottom of each tub, to prevent jars from cracking when removed from the autoclave.
10. Autoclave for 90 minutes.
11. Autoclave for another 90 minutes with a day between autoclavings.
12. After second autoclaving, cover jars immediately with clean butcher paper and tape down to prevent contamination before inoculation.
13. Allow jars to cool for 12 hours before inoculating.
14. Inoculate jars under hood.
15. Incubate jars at room temperature for 4 weeks in polyethylene bags to avoid mites.

TIPS FOR SUCCESSFUL INOCULATIONS OF V-8/VERMICULITE JARS

1. Do not wait too long to inoculate jars.
2. Keep jars covered or in bags before and after inoculating them.
3. Make sure cultures are clean by transferring from PARP to fresh V-8 plates at least a week before inoculating. Use only clean V-8 cultures to inoculate jars
4. Take medium-sized blocks of inoculum from area halfway between center and edge of colony.
5. Make sure that inoculum blocks do not stick to inside of jar, make sure they reach the vermiculite.
6. The sponge plugs and lid holes are the main source of contamination. Spray them with 70% ETOH (do not soak.) before opening the jars.
7. Use transfer tool to push sponge plug back into lid hole. Do not push the plug in farther in than it was originally.
8. Do not pre-label jars.
9. Place jars into polyethylene bags promptly after inoculation.

PREFERRED ORIGINAL RECIPE

CLEARED V-8 AGAR

	<u>1 Liter</u>	<u>1.5 liters</u>	<u>2 liters</u>
1. Cleared V-8 Juice*	50 ml	75 ml	100 ml
2. Beta Sitosterol	20 mg	30 mg	40 mg
3. Ca Cl ₂ .2H ₂ O	111 mg	166 mg	222 mg
4. Bacto Agar	17 g	25.5 g	34 g
5. Distilled Water	970 ml	1425 ml	1,900 ml

* Centrifuge V-8 juice in 50 ml Sorvall centrifuge tubes at 10,000 rpm for ten to twenty minutes. Discard pellets.

Combine clear supernatant with water in a clean beaker or flask. Adjust pH to 5.5 using 1N KOH or 1N HCl.

Add all ingredients, except the Beta Sitosterol, to a large flask for autoclaving.

Dissolve the Beta Sitosterol in approximately 5 ml of boiling 95% ethanol. To boil the ethanol, add the ethanol to a long glass test tube and place the tube into a beaker of boiling water. (Caution! Never directly boil alcohols!) Stir the Beta Sitosterol in the hot ethanol with a glass stirring rod until it has dissolved. Then add dissolved solution to flask for autoclaving.

Autoclave for 30 minutes.

After autoclaving and cooling, add 5 ml to the smaller 50 mm size sterile plastic Petri plates. Can use an autoclaved 5 ml Tippet or automatic syringe pipettor.

Store the culture plates in the cold room. For ease of handling it is best to store them in stacks of 6 plates held together with two rubber bands.

Phytophthora Soil Assays Using Pear Fruit Baits

- For each soil sample to be assayed collect 500 to 1000 ml volume of soil. Soil can be dry or moist.
- Place soil in sturdy glass or plastic container. Add tap or distilled water to saturate soil and cover soil with about a half inch of water. No need to mix soil and water.
- Using only firm and hard green pear fruits (unripe), briefly soak the pears in a mild detergent solution to remove any possible pesticide residues. Rinse pears well. Let drain.
- With a black or blue Sharpe permanent marking pen write on one side of each pear the name and number of the soil sample to be assayed. Use two pears per sample.
- Carefully push each pear into the wet soil and water until the pear is about half immersed, leaving the labeled side up and out of the water.
- Let pears soak and stand at room temperature for two full days to permit any zoospores formed in the soil to be attracted to the pear baits.
- Remove pears and wash off any clinging soil and mud. Set pears on a paper towel or paper layer at room temperature to let any potential fungus cultures develop in the ripening pear fruits.
- Daily examine each fruit for developing lesions. Most of the Phytophthora lesions which form are usually round in shape, dark reddish brown in color, and are often leathery in texture.
- Other fungi may develop lesions on the pear fruits, including Rhizopus and Mucor. These fungi usually form colorless, soft, and watery lesions.
- From the edge of each developing lesion, tiny pieces of pear fruit tissue can be removed with a sterile scalpel or transfer needle. Place four or five such pieces onto PARP medium.
- Place PARP cultures into an 18 C incubator in the dark. Let grow for several days. Transfer developing colony types onto Corn Meal Agar and/or V-8 Agar. Pythium as well as Phytophthora isolates may be recovered.
- To identify Phytophthora species, it may be necessary to transfer small and thin culture discs from the V-8 agar cultures to a small plastic Petri plate and add Soil Water to just barely cover discs.

ANEXO 2

PROTOCOLO LABORATORIO VIROLOGIA

DETERMINACION "BLACKLINE"

CLRV ELISA - Indirect F(ab')₂-based ELISA

1. Add 200ul of CLRV-W specific F(ab')₂ at a 1:1000 dilution in coating buffer
 - a. 20ul F(ab')₂ per 20ml buffer per plate
2. Incubate plates at 37 C for 1.5-3 hours
 - a. do not stack plates
 - b. cover plates with previously used plates
3. Wash plate 3x3 times with PBS wash buffer
 - a. plates can be stored in refrigerator up to 1 week
 - b. place plates in crisper containing damp paper towel
4. Add 200 ul of antigen (blended plant tissue in grinding buffer) to each well
 - a. use approximately 1g tissue per 10ml buffer
5. Incubate plates overnight in refrigerator
 - b. place plates in crisper containing damp paper towel
6. Wash plate 3x3 times with PBS wash buffer
7. Add 200ul of CLRV-W specific IgG (1:1000) premixed with protein A - alkaline phosphatase (1:10,000) in conjugate buffer
 - a. 20ul IgG per 20ml buffer per plate
 - b. 2ul protein A per 20ml buffer per plate
8. Incubate plates at 37 C for 1.5-3 hours
9. Wash plate 3x3 times with PBS wash buffer
10. Add 200ul of p-nitrophenylphosphate in substrate buffer
 - a. 3 5mg tablets per 20ml buffer per plate
11. Incubate at room temperature and read plates at 1.5 hrs and 3hrs
12. When finished wash substrate down drain with running water and toss plates in garbage

CLRV ELISA - Buffer Recipes

10X PBS

	1L	4L
NaCl	80g	320g
KH ₂ PO ₄	2g	8g
Na ₂ HPO ₄	11.5g	46g
KCl	2g	8g

- adjust to pH 7.2 using KOH pellets
- store in refrigerator
- usually make 4L

PBS Wash Buffer

	1L	20L
10X PBS	100ml	2L
Tween 20	0.5ml	10ml
dH ₂ O	900ml	18L

Grinding/Conjugate Buffer

	1L	2L
10X PBS	100ml	200ml
Tween 20	0.5ml	1ml
PVP 40	20g	40g
BSA	2g	4g
dH ₂ O	900ml	1800ml

- adjust to pH 7.2 using KOH pellets
- store in refrigerator
- usually make 2L

Coating Buffer

	1L
Na ₂ CO ₃	1.59g
NaHCO ₃	2.93g

- adjust to pH 9.6 using KOH pellets
- store in refrigerator

Substrate Buffer

	1L
Diethanolamine	97ml
dH ₂ O	100ml

- adjust to pH 9.8 using full strength HCl
- store in refrigerator
- check and adjust pH before use if necessary

ANEXO 3

LISTADO ASISTENTES CHARLAS DR. J. MIRCETICH

LISTA DE ASISTENTES CHARLA SR. J. MIRCETICH

NOMBRE	DIRECCION	FONO
Adolfo Galarce	Camino Lonquén 16240	5371751
Manuel Orellana	San Bernardo	8572981
Lorena Fernández S.	SAG. Lo Aguirre	6010953
Monica Madariaga	INIA CRI LA PLATINA	
María Nidia González	Vivero El nogal	8111019
Carlos Rojas M.	Vivero El Nogal	8111019
Evaldo Pape C.	La Florida	2858243
Teresa Vergara	Navidad 2492 PAC	5211835
Pablo Díaz de Valdés Castro	Santo Domingo 157 of 4 San Felipe	34-516741
Alvaro Contador	Camino El	2872230
Carla Paz Miranda Astorga	Av. Colombia 9242 La Florida	2813741
Renato Nordetti C.	Casilla 20 Isla de Maipo	8193242
María Eugenia Murillo S.	SAG Lo Aguirre	8193242
Juan Carlos Espinosa m.	SAG Lab. Aguirre	6010439
Angel Lara Bustamente	INIA Los Tilos	8212225
Francisco García-Huidobro	Exp. Anakena Casilla 148 Talagante	8243702- 8243703
Juan Cortes T.	INIA Los Tilos	8212225
Paula Hidalgo González	Los Ingenieros 624 Macul	2219525
Pedro González Rojas	SAG Lo Aguirre	6010453 A. 241.
Judith Seymour Suazo	Cuevas 1344 Stgo.	5553534
Nathalie Lolic	Brow Norte 1331 Dpto. 401	3639069
Antonio Lobato	CRI La Platina	2655497
Juan Pablo Mujica	Casilla 197 Pte. Alto	8547166
Fernando Riveros	Casilla 36 B La Serena	51-223290
Jaime Montealegre	Casilla 1004 Santiago	6785714
Alicia Bruna	Platina	5417223
Rodrigo Herrera Cid	Casilla 1004 Stgo.	6785714
Francisco Herrera D.	Casilla 1004 Stgo.	6785714
Pedro Sandoval Lorenzen	Román Díaz 1140 Providencia	4340596
Pedro Halcarte-Garay	Casilla 21 Isla de Maipo	8192215
Isabel Weiss Pay	Irrazabal 4951 Dp. 25	2262499
Waldo Venegas Figueroa	Pat 27 San Felipe	34-512715
Humberto Ríos	Camino El milagro 257 Maipu	5356021
Paulina Erdmann	Sta. María 2120	3317261
Nicolas Ionnuzzi M.	Edo. San Juan casilla 206 Pirque	8546404
Edgardo Palma A.	San Luis de Macul 5832 Stgo.	2846902
Claudia Morales Sch.	San Vicente, Lo Arcaya, Casilla 104 Colina	8448109

Christian Miranda	Av. Portugal torre 4 Apto. 83. Piso 8	2224150
Mabel Canales	La Platina	7343440
Gloria Tobar C	La Platina	8741873
Solange Cea	La Platina	7373120
Erika Briceño	Agronómica UCV.Casilla 4-D	32 - 274522
Ximena Besoain	Quillota	
Luis Macchiavello Valle	Parcela Aconcagua-Nogales	33-221589

11.- COSTO TOTAL Y APOORTE SOLICITADO (En Pesos) (*)

ITEM	Costo Total	Aporte Propio	Aporte Solicitado
PASAJES AEREOS	612,480	-	612,480
TASAS DE EMBARQUE	29,696	-	29,696
SEGUROS DE VIAJE	53,824		53,824
VIATICOS	126,000		126,000
HONORARIOS CONSULTOR	2,320,000	2,320,000	
HONORARIOS INTERPRETE	300,000	300,000	
ARRIENDO VEHICULO	192,000		192,000
GASTOS DE BENCINA	40,000		40,000
GASTOS DE PEAJES	10,200		10,200
Total	3,684,200	2,620,000	1,064,200

INIA LA PLATINA

Fia N° B-027

ANEXO C

291-03 Evaluación Fitosanitaria del Nogal

Periodo, Diciembre 98- Febrero 99

3.- CUADRO COMPARATIVO DE GASTOS PROGRAMADO / REAL APORTES FIA

ASIG.	DETALLE	Aporte Fia		Aporte Proponentes		COSTO TOTAL	
		Programado	Real	Programado	Real	Programado	Real
117-06	PASAJES AEREOS	612,480	674,911			612,480	674,911
117-11	TASAS DE EMBARQUE	29,696				29,696	-
117-11	SEGUROS DE VIAJE	53,824	-			53,824	-
105-01	VIATICOS	126,000	82,200			126,000	82,200
101-01	HONORARIOS CONSULTOR		-	2,320,000	> -	2,320,000	-
101-01	HONORARIOS INTERPRETE		-	300,000	> -	300,000	-
117-11	ARRIENDO VEHICULO	192,000	96,726			192,000	96,726
112-01	GASTOS DE BENCINA	40,000	24,800			40,000	24,800
117-06	GASTOS DE PEAJES	10,200	13,200			10,200	13,200
	GASTOS NO CONSIDERADOS	-	896,524				896,524
						-	-
TOTALES		1,064,200	1,788,361	2,620,000	-	3,684,200	1,788,361
PORCENTAJES					-		49

1,788,361

INIA LA PLATINA

291-03 Evaluación Fitosanitaria del Nogal

Periodo, Diciembre 98- Febrero 99

Anexo D: DETALLE DE GASTOS APORTES FIA N° B-027

ITEM	Aporte Fia Detalle	Fecha Voucher	N° de Bol. o Documento	N° de Voucher	N° Foto copia	Monto Moneda Extrrang	Tipo de Cambio	\$ Monto	Total Item
Pasajes aéreos Internacionales	Sacramento Stgo.Sacramento		137016	0	1	1.325	479	674,911	
Total Item									674,911
Seguro de viaje									
Total Item									-
Viático	Gamaliel Lemus	18.01.99	2804	247	2	-	-	69,600	
	Gamaliel Lemus	21.01.99	2758	184	3	-	-	12,600	
Total Item									82,200
Honorarios Consultor									
Total Item									-
Honorarios Interprete									
Total Item									-
Arriendo Vehículo	Arriendo	22.02.99	2225	687	4			96,726	
Total Item									96,726
Gastos Bencina	Gasolina	22.02.99	6351	686	5			15,800	
	Gasolina	19.01.99	544967	685	6			9,000	
Total Item									24,800
Gastos Peajes	Peajes y estacionamientos	15.01.99	415678	685	7			2,500	
	Peajes y estacionamientos	18.01.99	1189365	685	8			10,700	
Total Item									13,200
Gastos No considerados	Gastos Notariales	08.01.99	614849	445	9			3,500	
	Gastos Notariales	21.01.99	2401862	445	10			5,321	
	Servicio de Café	21.01.99	1700	322	11			7,500	
	Almuerzo Especial	21.01.99	679	438	12			67,100	
	Hotel	24.01.99	19362	735	13			769,333	
	Hotel	19.01.99	565719	685	14			43,770	
Total Item									896,524
Total								1,788,361	1,788,361

Listado 31 INIA

1,113,450

Comprado por FIA

674,911

1,788,361