ORD.: Nº 011 /

ANT.: BIP 30.482.000-0

MAT.: Envía Informe Técnico Final

CHILLÁN, 13 de enero de 2021.

DE : RODRIGO AVILÉS RODRÍGUEZ
DIRECTOR REGIONAL INIA QUILAMAPU

A : EDUARDO JARA NÚÑEZ
JEFE DIVISIÓN PRESUPUESTO E INVERSIÓN REGIONAL
GOBIERNO REGIONAL DEL MAULE

De acuerdo a lo indicado en el respectivo convenio, me permito hacer llegar a usted, la siguiente documentación referente a:

Código BIP **30.482.000-0 "TRANSFERENCIA ENDOFITOS NATIVOS PARA EL MANEJO DE PLAGAS"**, 502519-44, Investigadora Sra. Lorena Barra.

- Informe Técnico Final.

Sin otro particular, saluda atentamente,

CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACIÓN QUILAMAPU ★ INIA ★
DIRECTOR REGIONAL

RODRIGO AVILÉS RODRÍGUEZ
Director Regional INIA Quilamapu

adj. : lo indicado
c.c. : Encargado Regional UPSE, Sr. F. Garrido
arch. : 502519-44
RAR/CIV/sss.

RECIBIDO
Registro Nº 286
Fecha: 15 ENE 2021
Unidad Gestión de Documentos
Gobierno Regional del Maule

Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Ministerio de Agricultura

INFORME TÉCNICO

Avance	
Final	**X**

PROYECTO

Transferencia: Endófitos nativos para el manejo de plagas

ENTIDAD EJECUTORA

Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA)

Enero 2021

Código BIP	30.482.000-0
Título del Proyecto	Transferencia endófitos nativos para el manejo de plagas
Entidad responsable	Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA)
Jefe del Proyecto	Lorena Barra Bucarei
Montos asignados (M$)	$ 104.092.000
Montos ejecutados (M$)	$ 99.370.248
Informe al	31 de diciembre de 2020
Fecha elaboración	Enero 2021

INDICE

1. RESUMEN EJECUTIVO 4

2. OBJETIVOS 6

2.1 OBJETIVO GENERAL 6

2.2 OBJETIVOS Y ESPECÍFICOS 6

3. PRODUCTOS 7

4. RESULTADOS OBTENIDOS 8

5. INNOVACIONES O IMPACTOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS LOGRADOS 11

6. EJECUCIÓN DE ACTIVIDADES 12

7. CARTAGANTT (ACTUALIZADA) 14

8. BENEFICIARIOS 15

9. RESUMEN DE GASTOS 16

10. CONCLUSIONES 16

11. ANEXOS PRODUCTO/ RESULTADO 17

1. Formulaciones de endófitos desarrolladas 17

1.1 Formulación líquida: emulsión inversa 17

1.2 Formulación polvo: polvo mojable o polvo dispersable 18

1.3 Formulación líquida: suspensión concentrada 18

2. Método de producción artesanal de *Trichoderma* desarrollado y transferido a productores. 19

3. Productos en base a endófitos masificados por INIA y comercializados por los asociados. 21

4. Al menos dos cepas licenciadas para su comercialización. 24

5. Estrategia de manejo de plagas y enfermedades mediante el uso endófito elaborado y transferido. 24

6. Videos con animación digital de la tecnología desarrollada elaborados y difundidos. 29

7. Comunidad científica conoce la tecnología desarrollada en el proyecto. 32

8. Al menos 20 extensionistas conocen la tecnología a través de talleres. 36

9. Al menos 50 productores conocen la tecnología desarrollada mediante talleres. 37

10. Unidades Prodesal de la región conocen la estrategia de manejo de plagas y enfermedades mediante el uso de endófitos nativos a través de videos 39

11. Profesionales INIA y asociados adquieren conocimiento técnico de producción masiva de bioinsumos y modelos de trabajo con productos. 40

12. Seminario de avance y cierre de proyecto ejecutado. 41

1. RESUMEN EJECUTIVO

Durante el último periodo de ejecución de proyecto se realizaron actividades de difusión y transferencia tecnológica, destacando la vista a productos, municipalidades, talleres y la realización del seminario de cierre del proyecto. Cabe mencionar que el presente informe entrega los antecedentes generales de la ejecución del proyecto, el detalle y respaldo de la mayoría de los productos obtenidos y actividades realizadas se encuentran en los informes entregados semestralmente. Para el caso de las actividades realizadas y que no fueron reportadas en informes previos como el Seminario Final se entrega los antecedentes de respaldo de las actividades. Con lo anterior, se termina la ejecución el proyecto cumpliendo en un 100% los objetivos.

Actualmente el sector hortícola de la Región del Maule está pasando por una reconversión que implica apostar por sistemas más sustentables para responder con las demandas de los consumidores. En un levantamiento de información realizado a las unidades del Programa de Desarrollo Local (Prodesal) de las comunas de Maule, Talca, Pencahue, Hualañe, Río Claro y Retiro, relacionada con los manejos productivos aplicados a los cultivos intensivos de tomate, pepino, pimiento y lechuga, el 100% de los agricultores informó haber basado el manejo fitosanitario de los cultivos en el uso de plaguicidas (insecticidas y fungicidas) de síntesis química; sin embargo, los equipos técnicos tenían la intención de promover el uso de herramientas más sustentables para las hortalizas y más del 50% de las unidades técnicas ya habían empezado a implementar algunas de estas herramientas. Los extensionistas tenían conciencia del efecto negativo de los químicos a nivel social, ambiental y económico. Una de las brechas detectadas fue la escasa oferta de productos biológicos para hacer sustitución de insumos químicos y falta de capacitación en el ámbito del control biológico. Por otro lado, la empresa I+D+i Agroecología, informó que una de las dificultades en la implementación de la producción orgánica de hortalizas era la oferta de productos biológico de calidad y la necesidad de validar estas nuevas tecnologías a nivel de campo.

Con la ejecución de la presente iniciativa INIA y el Gobierno Regional pudieron contribuir con el desarrollo, promoción y uso de una herramienta de control biológico que permitirá a los productores de la Región del Maule disponer de una alternativa sustentable para el manejo de plagas y enfermedades que afectan a un importante número de cultivos hortícolas. Durante el desarrollo del proyecto se evaluaron más de 50 cepas de hongos benéficos con potencial para el control de plagas y enfermedades que son parte de la Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos (CChRGM) de INIA, las cuales fueron colectadas en el territorio nacional en proyectos ejecutados con anterioridad a la presente iniciativa. Gracias al levantamiento de información realizada al inicio del proyecto se pudo focalizar el trabajo en cuatro cultivos hortícolas de importancia económica y que son producidos en sistemas altamente intensivos (la mayoría bajo invernaderos) que basan su

manejo fitosanitario en plaguicidas químicos, estos fueron: tomate, pimiento/ají, pepino y lechuga. Se evaluó la capacidad de colonización endófita de los hongos nativos sobre los cultivos priorizados y se realizó una selección de 11 cepas de hongos con el mejor porcentaje de colonización endófita. Se hicieron los ensayos a nivel de laboratorio y campo para determinar su actividad biocontroladoras de plagas (mosquitas blancas de los invernadero y pulgón verde del duraznero) y enfermedades (*Botrytis*, *Fusarium* y *Sclerotinia*).

Aquellas cepas que presentaron los mejores índices de control fueron seleccionadas para hacer el escalamiento a nivel piloto (cinco), es decir, investigar sobre la cinética de crecimiento de las cepas para determinar los parámetros que permiten obtener un alto rendimiento industrial a menores costos. Se elaboraron protocolos de masificación, uno a nivel semindustrial piloto y otro artesanal, el que fue transferido los productores a través de dos talleres.

Con la información obtenida se elaboró una estrategia de manejo de plagas y enfermedades basadas en el uso de hongos endófitos, dicha estrategia entrega los elemento para usar de manera eficaz los hongos endófitos evaluados en la producción de hortalizas. Se determinó el modo de acción, forma de aplicación, momento de aplicación y recomendaciones para el almacenamiento y transporte de los productos. La estrategia se orientó principalmente a agricultores convencionales que usan plaguicidas químicos y fue ampliamente difundida mediante videos, talleres, charlas y capacitación orientados principalmente a pequeños productores y extensionistas de la Región, con cobertura en las provincias de Curicó, Talca, Linares y Cauquenes (inicialmente Cauquenes no estaba considerado pero a solicitud del CORE se incorporó). Gran parte de los beneficiarios formaban parte del Prodesal (INDAP-Municipalidad), en segundo lugar SAT (servicios de Asesorías Técnicas – INDAP) y productores orgánicos asociados a la empresa I+D Agroecología. El material técnico elaborado (videos, fichas técnicas y afiches) fueron entregados a los beneficiarios en las actividades de formación, enviados por correo electrónico y están disponibles de manera digital para ser descargados. Además se desarrollaron tres productos en base a hongos endófitos cuyo nombre es Endomix los cuales están siendo escalados de manera pre-comercial por INIA y se entregaron muestras a los productores para su evaluación e introducción en el manejo del cultivo.

Para contribuir con la difusión del avance en la ejecución y los resultados del proyecto se elaboró una página web (www.endofitos.com). En la página que además de informar de los alcance del proyecto, deja a disposición información técnica desarrollada como: afiches fichas, videos, publicaciones divulgativas, notas de prensa y publicaciones divulgativas, además de permitir que los agricultores puedan acceder a los productos desarrollados (Endomix T1, Endomix B1 y Endomix B4). Finalmente se puede concluir que el proyecto contribuyó con una alternativa concreta para disminuir el uso de los plaguicidas químicos en los sistemas de producción de hortalizas que está disponible para los productores de la región.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar y transferir a los pequeños productores de la región del Maule una estrategia para el manejo de plagas y enfermedades de hortalizas mediante el uso de hongos endófitos nativos.

2.2 OBJETIVOS Y ESPECÍFICOS

- Evaluación de cepas de endófitos nativos para el control de plagas y enfermedades de importancia económica de la región que afectan a tomate, lechuga y choclo.

- Determinación del modo de acción, forma de aplicación y persistencia de los hongos endófitos en tomate, lechuga y choclo.

- Desarrollo de protocolos de masificación industrial y artesanal de los endófitos seleccionados para el control de plagas y enfermedades.

- Diseño de una estrategia de manejo de plagas y enfermedades incorporando hongos a variedades comerciales y tradicionales.

- Transferencia y difusión de la estrategia de manejo de plagas y enfermedades a productores y extensionistas de la región.

3. PRODUCTOS

Producto ofrecido (según proyecto aprobado)	Productos obtenidos	Justificación de diferencias (si las hay)	Fecha de obtención
2 formulaciones de endófitos desarrollados.	Tres formulaciones desarrolladas: Emulsión inversa. Polvo efervescente. Suspensión concentrada.		Noviembre 2018
Método de producción artesanal de *Trichodermas* desarrollado y transferido a productores.	Método desarrollado a nivel de laboratorio. Protocolo de masificación transferido a los productores mediante talleres.		Abril de 2019
2 productos en base a endófitos masificados por INIA y comercializados por los asociados.	Se desarrollaron 3 productos en base a cepas endófitas. Endomix T1: Hongos de suelo Endomix B1: *Botrytis cinerea* Endomix B4: Mosquita blanca de los invernadero.		Octubre 2019
Al menos dos cepas licenciadas para su comercialización.	cinco cepas disponibles para ser licenciadas.		Marzo 2019
Estrategia de manejo de plagas y enfermedades mediante el uso endófito elaborado y transferido.	Estrategia desarrollada y validad con productores hortícolas en cultivo de tomate, pepino, ají-pimiento y lechuga.		Octubre 2020

4. RESULTADOS OBTENIDOS

Resultado esperado (según proyecto aprobado)	Resultado obtenido	Justificación (si las hay)	Fecha de obtención
Manual con estrategia de manejo de plagas y enfermedades elaborado y transferido.	Manual "Estrategia de Manejo de Plagas y Enfermedades con Hongos Endófitos".		Diciembre 2020
2 Videos con animación digital de la tecnología desarrollada elaborados y difundidos.	Video 1: Hongos Endófitos Nativos, tecnología sustentable. Video 2: Hongos endófitos (animación digital). Además se elaboran capsulas: Cómo funcional los hongos endófitos. Mecanismos de control de insectos. Mecanismos de control de enfermedades. Experiencias de uso de hongos endófitos.		Noviembre 2020
Comunidad científica conoce la tecnología desarrollada en el proyecto.	100% , participación con exposiciones orales y/poster: Congreso Iberoamericano de Fitopatología 2017. Sustain: endophytes for a growing world 2017. XXVI Congreso de Fitopatología de Chile, 2018. Congreso de fitopatología, Valdivia en 2018. XXVIII Congreso de fitopatología en 2019. Primer Simposio Latinoamericano de Control Biológico. 2019 I Workshop de Jóvenes Investigadores en Ciencias Agronómicas. 2020 47 Congreso de Socolen Colombia. Octubre 2020. **Capítulo de libro internacional:** Barra-Bucarei, L., France, A., & Millas, P.		Diciembre 2020

Resultado esperado (según proyecto aprobado)	Resultado obtenido	Justificación (si las hay)	Fecha de obtención
	(2019). Crossing Frontiers: Endophytic Entomopathogenic Fungi for Biological Control of Plant Diseases. Endophytes for a Growing World, 67. Lorena Barra-Bucarei and Javiera Ortiz. (2020). Biological Control in Capsicum with Microbial Agents. In Capsicum. IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.93509. Artículos científicos: Barra-Bucarei, L., France Iglesias, A., Gerding González, M., Silva Aguayo, G., Carrasco-Fernández, J., Castro, J. F., & Ortiz Campos, J. (2020). Antifungal Activity of Beauveria bassiana Endophyte against Botrytis cinerea in Two Solanaceae Crops. Microorganisms, 8(1), 65. Barra-Bucarei, L.; González, M.G.; Iglesias, A.F.; Aguayo, G.S.; Peñalosa, M.G.; Vera, P.V. Beauveria bassiana Multifunction as an Endophyte: Growth Promotion and Biologic Control of Trialeurodes vaporariorum, (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Tomato. Insects 2020, 11, 591.		
Al menos 20 extensionistas conocen la tecnología a través de talleres.	120 profesionales y técnicos (extensionistas capacitados).		Diciembre 2020
Al menos 50 productores conocen la tecnología desarrollada mediante talleres.	152/2009 agricultores conocen la tecnología de hongos endófitos mediante talleres y charlas.		Diciembre 2020
100 de las unidades Prodesal de la región conocen la estrategia de manejo de plagas y enfermedades mediante el uso de endófitos	103 unidades Prodesal y 2 SAT Unidades Prodesal contactadas directamente (27): Vichuquén (1), Hualañe (4), Río Claro (2), Pencahue (4), Talca (2), Maule (3), Retiro (4),		Diciembre 2020

Resultado esperado (según proyecto aprobado)	Resultado obtenido	Justificación (si las hay)	Fecha de obtención
nativos a través de videos.	Parral (3) y Pelluhue (4). Unidades Prodesal link videos enviados (web) (76): Cauquenes (6), Chanco (6), Curepto (5), Curicó (2), Molina (3), Rauco (3), Romeral (3), Sagrada Familia (3), Teno (4), Licanten (1), Colbún (3), Linares (3), Villa Alegre (3), Yerbas Buenas(4), Longaví (6), San Clemente (6), Constitución (3), Empedrado (2), San Javier (6), Pelarco (2), San Rafael (2) SAT : Maule y San Clemente		
Profesionales INIA y asociados adquieren conocimiento técnico de producción masiva de bioinsumos y modelos de trabajo con productos.	100% Gira tecnológica con asociados I+D Agroecología y Nutrifer. Pasantía Lorena Barra en masificación/calidad de bioinsumos.		Marzo 2018
1 seminario de cierre de proyecto ejecutado.	Seminario de avance: Seminario Internacional "Nuevas alternativas de control biológico de plagas y enfermedades en hortalizas para la región del Maule". 4 de octubre de 2019. 175 participantes. Seminario de cierre: Seminario Internacional "Herramientas de control biológico para la horticultura regional basadas en el uso de microorganismos. 16 de Diciembre de 2020. 177 participantes.		Diciembre 2020

5. INNOVACIONES O IMPACTOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS LOGRADOS

Innovación o impacto contemplado (según proyecto aprobado)	Innovación o impacto obtenido	Justificación de diferencia (si las hay)	Fecha de obtención
Cepas de hongos nativos evaluadas en su capacidad de colonización endófito	50 cepas evaluadas de 4 géneros de hongos nativos. Cinco cepas forman parte de productos precomerciales.		Noviembre 2017
Dos formulaciones en base a hongos endófitos desarrolladas.	Formulación 1: formulación líquida, emulsión inversa. Formulación 2: formulación polvo, polvo mojable de rápida dispersión y estabilización de los conidios en la solución. Formulación 3: formulación líquida, suspensión concentrada, adición de tensioactivo vegetales de origen aniónico y no anióico para potenciar el efecto contra insectos.		Protocolos noviembre 2018 Optimización noviembre 2020
150 productores conocen las tecnologías de control biológico mediante uso de agentes microbianos	Tecnologías de control biológico como alternativas al control químico difundidas a 2.160 productores.		Diciembre 2021

6. EJECUCIÓN DE ACTIVIDADES

N°	Actividad	Estado	Justificación de diferencias	Fecha programada	Fecha ejecución
1	Determinar efecto cepas endófitas contra enfermedades *in vitro*.	Concluida		Noviembre 2017	Noviembre 2017
2	Determinar efecto de cepas endófitas contra enfermedades *in vivo*.	Concluida		Febrero 2019	Mayo 2018
3	Determinar efecto de cepas endófitas contra plagas seleccionadas mediantes bioensayos.	Concluida		Febrero 2019	Mayo 2019
4	Estudiar las condiciones de cultivo de las hortalizas seleccionada.	Concluida		Mayo 2018	Mayo 2018
5	Inocular mediante 3 métodos plantas	Concluida		Abril 2018	Abril 2018
6	Estudiar el modo de acción de las cepas de endófitos.	Concluida		Abril 2018	Abril 2018
7	Estudiar la persistencia de las cepas de endófitos.	Concluida		Abril 2018	Abril 2018
8	Elaboración de formulaciones comerciales	Concluida	Posterior a terminar los protocolos se continuó con un proceso de optimización y se elaboró una tercera formulación	Noviembre 2018	Diciembre 2020
9	Realizar pasantía de perfeccionamiento en metodologías de estudio de endófitos entomopatógenos	Concluida	Se cambió la fecha por disponibilidad de las empresas a visitar.	Febrero 2018	Marzo 2018
10	Curso de masificación artificial de *Trichoderma* endófita.	Concluida	Atraso debido a la coordinación de fechas con los productores por disponibilidad de ellos y sus equipos técnicos.	Enero 2019	Agosto 2019

N°	Actividad	Estado	Justificación de diferencias	Fecha programada	Fecha ejecución
11	Elaboración de la estrategia de manejo de plagas y enfermedades con endófitos.	Concluida	Con los ensayos de campo e invernadero se mantuvo una mejora continua de la estrategia agregando nuevos antecedente.	Diciembre 2018	Diciembre 2020
12	Elaboración y distribución de videos, manual y fichas técnicas.	Concluida	El proceso de elaboración material técnico fue permanente durante todo el periodo de ejecución del proyecto.	Enero 2019	Diciembre 2020
13	Coordinación y ejecución de talleres	Concluida	El proyecto fue extendido con el objetivo de realizar más actividades de formación los talleres concluyeron en diciembre de 2020.	Marzo 2019	Diciembre 2020
14	Participación en congresos	Concluida	Durante todo el periodo de ejecución del proyecto se participó en congresos.	Noviembre 2018	Diciembre 2020
15	Seminario final	Concluida	Se realiza en diciembre debido a que se solicitó la posibilidad de hacer la actividad on line producto del Covid-19	Abril 2019	Diciembre 2020
16	Informe final	Concluida	Se solicitó extensión del proyecto y el informe se elaboró una vez terminadas el 100% de las actividades del proyecto.	Mayo 2019	Diciembre 2020

7. CARTAGANTT (ACTUALIZADA)

Actividad	2017							2018												2019												2020											
	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Determinar efecto cepas endófitas contra enfermedades de tomate *in vitro*.			X	X	X	X																																				
Determinar efecto de cepas endófitas contra enfermedades de tomate *in vivo*.								X	X	X	X	X																															
Determinar efecto de cepas endófitas contra plagas seleccionadas mediantes bioensayos.		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X																		
Estudiar las condiciones de cultivo de las hortalizas seleccionada.	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X																															
Inocular mediante 3 métodos plantas.		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X																															
Estudiar el modo de acción de las cepas de endófitos.			X	X	X	X	X	X	X	X	X																															
Estudiar la persistencia de las cepas de endófitos.			X	X	X	X	X	X	X	X	X																															
Elaboración de formulaciones comerciales													X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Realizar pasantía de perfeccionamiento en metodologías de estudio de endófitos entomopatógenos										X																																
Curso de masificación artificial de Trichoderma endófita.																							X				X															
Elaboración de la estrategia de manejo de plagas y enfermedades con endófitos.															X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Elaboración y distribución de videos, manual y fichas técnicas.															X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Coordinación y ejecución de talleres.																	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Participación en congresos.					X													X											X	X										X		X
Seminario avance y final.																													X												X
Informe final.																																									X

8. BENEFICIARIOS

Los beneficiarios directos correspondieron a pequeños productores hortícolas y sus asesores (extensionistas) agrupados en unidades de asesorías técnicas de los programas de Instituto de desarrollo Agropecuario como el Prodesal (Programa de Desarrollo Local) y SAT (Servicio de Asesorías Técnicas). Además se incluye el socio de la empresa I+D Agroecología con productores que usan sistemas de producción orgánica.

El grupo con el que se realizó un vínculo directo a través de actividades de formación, realización de ensayo y/o entrega de productos se presenta en el siguiente cuadro.

Grupo	Comuna	Contacto	Email
Prodesal Maule	Maule	Cristian Mauricio Contreras Loyola	agrocivil.agro@gmail.com
Prodesal Retiro	Retiro	Luis Sanhueza H.	lsanhuez2005@gmail.com
Prodesal Parral	Parral	Marcelo León Rey	mleonrey29@hotmail.com
Prodesal Vichuquén	Vichuquén	Marta Soto Muñoz	martaluzsotom@gmail.com
Prodesal Hualañé	Hualañé	Paulo Arriagada Carrasco	parriagadagro@gmail.com
Prodesal Río Claro	Río Claro	Ana Orellana Soto	prodesal2rioclaro@hotmail.com
Prodesal Pencahue	Pencahue	Fabián Andrés Gutiérrez Campos	gutierrezfa@gmail.com
Prodesal Talca	Talca	Ricardo González Espinoza	randresgonza@gmail.com
SAT San Clemente	San Clemente	Nancy del Carmen Salgado Fuentes	atecnicas815@gmail.com
SAT Maule	Talca-Maule	Pablo Castillo	saeltda@gmail.com
I+D Agroecología	Curicó-Sagrada Familia	Carlos Pino	cpino@agroecologia.cl

Promedio de agricultores por Prodesal = 100; Beneficiarios directos Prodesal = 800
Promedio de agricultores por SAT = 20; Beneficiarios directo SAT = 40
Agricultores orgánico I+D= 10
Asesores técnicos Prodesal, SAT e I+D Agroecología= 27

Total de beneficiarios directos productores: 850
Total beneficiarios directos asesores técnicos: 25

9. RESUMEN DE GASTOS

Ítems	Gastos Aprobados	Gastos Ejecutados	Saldos
Recursos Humanos	30.452.040	30.452.040	0
Gastos de Operación	24.840.000	24.020.477	736.170
Gastos de Inversión	18.829.983	18.699.828	
Gastos de Difusión	21.476.000	17.912.463	3.986.005
Giras Tecnológicas	3.494.400	3.285.440	
Gastos de Administración	5.000.000	5.000.000	
Total	**104.092.423**	**99.370.248**	**4.722.175**

10. CONCLUSIONES

- Con la ejecución del proyecto de desarrolló y validó una innovadora alternativa para el manejo de plagas y enfermedades en hortalizas basada en el uso de hongos endófitos nativos. Se desarrolló una línea de productos (3 productos) denominado Endomix que son los únicos en el país y únicos a nivel latinoamericano con hongos endófito. Esta línea de productos destaca cumplir con los requerimientos de la pequeña agricultura.
- El proyecto se ejecutó en base a lo programado y se solicitó una extensión en un año para fortalecer las actividades de difusión y transferencia de los resultados, con lo cual se llegó a un universo de aproximadamente 2.236 agricultores y extensionista. Debido a la contingencia del Covid-19 se afectaron varias de las actividades planificadas para el 2020 y en algunos caso se pudieron ejecutar actividades on line y en otros presencial con aforos máximos de acuerdo a la normativa sanitaria vigente.
- El proyecto deja a disponible información técnica, divulgativa y científica que respalda el desarrollo tecnológico obtenido por INIA gracias al financiamiento del FIC Maule.

11. ANEXOS PRODUCTO/ RESULTADO

1. Formulaciones de endófitos desarrolladas

1.1 Formulación líquida: emulsión inversa

Se elaboró una emulsión inversa estable (agua en aceite) que permite una buena protección y germinación de los conidios de endófitos en aplicaciones foliares bajo condiciones de campo. El aceite es esencial como bioprotector contra la radiación ultravioleta que en altos niveles provocan importantes pérdidas de viabilidad en los conidios. La fórmula final contempla los ingredientes detallados en la Tabla 1. Para la homogenización de la emulsión se trabajó con 6.000 rpm x 1 minuto y se obtuvo una viscosidad a los 7 días posterior a la elaboración de entre 20 y 25 cps. La estabilidad de la muestra superó los 6 meses, además la viabilidad a los 6 meses fue 80,1%, la pureza de 98% (Figura 1).

Tabla1. Contenido de la formulación líquida en emulsión inversa.

Fase	Componente	Porcentaje	Observación
Acuosa 50%	Glicerina	5	Mantener la glicerina a 25°C
	Agua destilada estéril	44, 095	
	Goma de Xanthan	0,05	Disolver la goma primero en agua destilada estéril
Oleosa 50%	Aceite Vegetal (Oliva)	47,5	Recomendado de oliva.
	Tween 20%	2,5	Producto de calidad industrial.



Figura 1. Proceso de optimización de emulsión inversa de *Trichoderma* mediante el cambio en la temperatura de trabajo y emulsificante en fase continua.

1.2 Formulación polvo: polvo mojable o polvo dispersable

Esta formación utiliza insumos usados en la industria alimentaria. Se evaluaron cuatro alternativas de composición, obteniéndose la fórmula que permitió la mejor presentación en términos de homogenización de los ingredientes, menor tiempo de disolución en agua (1 m a 15°C), mayor estabilidad en el tiempo y menor cantidad de residuos, la formula fue optimizada se presenta en la Tabla 2. La estabilidad de la muestra superó los 6 meses, la viabilidad a los 6 meses fue de 78,8% y la pureza de 95% (Figura 2).

Tabla 2. Composición de la formulación sólida polvo mojable o polvo dispersable, para una dosis (1ha)

Ingrediente	Cantidad	Observación
Bicarbonato de sodio	100 mL	En combinación presentan un pH neutro.
Ácido cítrico	50 mL	
Agua destilada estéril Aceite de oliva (UV)	3 mL 10 mL	El aceite debe ser mezclado en primera instancia con las conidias
Conidios secos	26 gr	Se ajustó a 20 gramos de conidias.



Figura 2. Proceso de obtención de la formulación polvo mojable (efervescente).

1.3 Formulación líquida: suspensión concentrada

Esta formulación se desarrolló en el último periodo de ejecución del proyecto, el objetivo fue mejorar la eficacia en campo del producto para el control de áfidos (mosquitas y pulgones). La formulación contempla el uso de coadyuvante tensioactivo de origen vegetal aniónico y no aniónico, además de la incorporación de hidróxido de potasio (KOH) (Tabla 3). La estabilidad de la muestra superó los 3 meses (aún en proceso), la viabilidad a los 3 meses fue de 91% y la pureza de 98% (Figura 3).

Tabla 3. Composición de la formulación líquida, suspensión concentrada para 1 dosis (1 ha).

Ingrediente	Cantidad	Observación
Conidios	8 a 20 gr	Dependiendo de las cepas, en el caso de *Trichoderma* se agregan 20 gr y con *Beauveria* se usan 16 gramos.
Goma de Xanthan	0,25%	Se utiliza al final de la mezcla y se debe hacer homogenización en a 2.000 rpm
Co-formulantes de origen aniónicos y no aniónicos.	100 mL	Origen vegetal
Glicerina	200 mL	Se ajusta a 20 gramos de conidias.
Agua destilada estéril	680 mL	

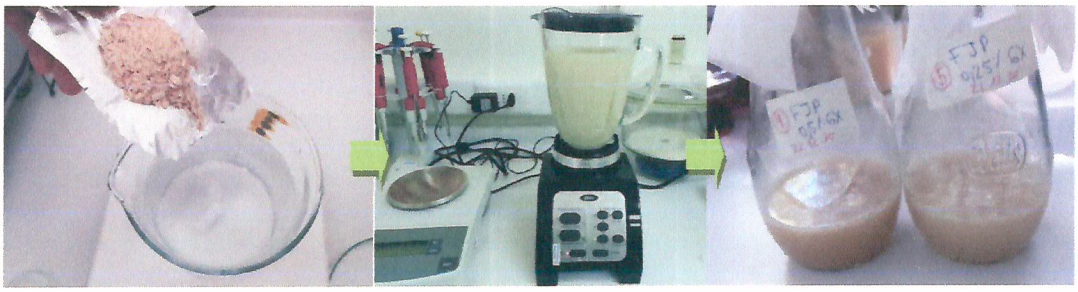


Figura 3. Proceso de obtención de la formulación líquida, suspensión concentrada.

2. Método de producción artesanal de *Trichoderma* desarrollado y transferido a productores.

Se desarrolló un método artesanal de masificación de *Trichoderma* basado en materias primas de fácil disponibilidad y procesos alternativos a los de la masificación industrial que podrían ser desarrollados por productores y asesores técnicos sin necesidad de infraestructura y equipamiento específico (Tabla 4). Con el desarrollo del método de masificación se procedió a realizar la transferencia tecnológica mediante talleres dirigidos a técnicos, profesionales y agricultores realizados en las comunas de Villa Alegre y Maule (Figura 4).

Tabla 4. Método de masificación artesanal de *Trichoderma*

ACTIVIDAD	OBSERVACIONES
Desinfectar el área de trabajo y los elementos a utilizar con alcohol 70%	Preparación alcohol 70% (70 mL de alcohol puro y 30 mL de agua destilada)
Pesar 300 gr de arroz (idealmente pregraneado) y dejar remojar en 500 mL de agua durante 40 minutos.	
Colar el arroz y dejar escurrir el agua durante 40 minutos.	Alcanza una humedad aproximada de un 30%.
Poner el arroz en bolsas de polietileno. En la boca de la bolsa poner una copla de 50 mm de diámetro o un trozo de 5 cm de largo de un PVC (puede ser de 40 o 50 mm de diámetro). Tapar con una esponja amarilla (tipo danzarina) y fijar con elásticos (liga).	Idealmente bolsas de polietileno de alta densidad.
Poner las bolsas en una olla de presión con suficiente agua para permitir la cocción del arroz por una hora (contados desde que el agua está en ebullición). El agua no debería cubrir las bolsas, sólo proporciona vapor para permitir una esterilización adecuada.	Las bolsas no deben tapar la salida de vapor de la olla.
Una vez que ha terminado la esterilización dejar que la olla se enfríe por completo, abrir y sacar las bolsas. Secar las bolsas por fuera con papel absorbente.	Precaución al manipular la olla caliente.
Tomar la placa con *Trichoderma* y con un bisturí cortar trozados de 1 cm^2 (1 cm x 1 cm).	Tratar de usar mechero para mantener libre de contaminantes el lugar de trabajo.
Poner dos trozos de agar con *Trichoderma* dentro de la bolsa. Cerrar rápidamente y mover de tal forma que las esporas del hongo se distribuyan homogéneamente en el arroz. Tratar de evitar que queden acumulaciones de arroz.	
Ubicar las bolsas en un lugar donde pueda haber oscuridad y luz, a temperatura de 22 a 25°C durante 15 días. Se recomienda cada 5 días mover las bolsas de tal forma de homogenizar la producción de micelio y esporulación del hongo.	Es necesario el estímulo de la luz para promover la esporulación.
A los 15 días la bolsa deberá tener una tonalidad verde homogénea. En este punto es posible usar inmediatamente las esporas en los distintos tratamientos. Si necesita solo esporas puede lavar el arroz y colar.	En caso de que quiera almacenar realice las actividades del paso 11.
Almacenamiento: el contenido de las bolsas deberá ser extendido en una bandeja previamente desinfectada (alcohol). Las bandejas deberán ser puestas en un lugar seco a temperaturas de 25 a 28°C durante 5 días. Posteriormente guardar el arroz seco en bolsas e idealmente sellar al vacío.	Lo más importante en el secado es evitar la contaminación con otros microorganismos, es por eso que el lugar debe ser adecuado para este objetivo.



Figura 4. Talleres de producción a pequeña escala de hongos endófitos Villa Alegre y Maule.

3. Productos en base a endófitos masificados por INIA y comercializados por los asociados.

   Se desarrollaron tres prototipos de producto en base a endófitos orientados al manejo sustentable de las plagas y enfermedades que más pérdidas ocasionaban en los sistema de producción hortícola en le región del Maule (en base a la información primaria levantada, en el marco de la ejecución del proyecto, en la comuna de Maule y Colín). Los tres productos son mezcla de dos cepas de microorganismos endófitos del género *Trichoderma* o *Beauveria* que actúan como probiótico para promover el crecimiento de las plantas y por diversos mecanismos pueden protegerla frente a estreses bióticos ocasionados por plagas y enfermedades (Tabla 5). Además de los productos se desarrollaron formulaciones (3) y se diseñó un envase orientado a facilitar su uso por parte de los pequeños productores. La presentación es en dosis para una hectárea, dividida en 26 partes y envasadas en un sachet para que el productor pueda usarlo directamente en una bomba de espalda y se evite el proceso de dosificación, que en el caso de los productos biológicos es la puesta de entrada para los contaminantes (Figura 5, 6 y 7).

Tabla 5. Productos desarrollados en base a hongos endófitos

Nombre	Composición biológica	Función objetivo investigada y validada
Endomix T1	*Trichoderma harzianum (RGM 301)* y *Trichoderma* sp. (JFD-04)	Control de *Fusarium oxysporum, Phytophthora capsici, Rhizoctonia* sp. y *Sclerotinia sclerotiurum.* Enfermedades de suelo
Endomix B1	*Beauveria bassiana* cepas RGM 547 y RGM 644.	Control de *Botrytis cinerea* = Pudrición Gris.
Endomix B4	*Beauveria bassiana* cepas RGM 557 y RGM 644.	Control de Trialeurodes vaporariorum = mosquita blanca de los invernaderos, *Myzus persicae* = pulgón verde del duraznero.



Ficha Técnica

ENDOMIX B1

ENDOMIX B1, es un producto en base a una mezcla de dos cepas de microorganismos endófitos del género *Beauveria bassiana* que actúan como probiótico para promover el crecimiento de las plantas por diversos mecanismos (solubilización de fósforo y producción de sideróforos de hierro), además de protegerlas frente a estreses bióticos y abióticos. Ambas cepas de *Beauveria* son endófitas de raíces, tallos y hojas de tomate, pepino, pimiento y ají. Además han colonizado diversas estructuras de lechuga, arándanos, cerezos, avellanos, frambuesa y frutilla por lo que tienen una acción sistémica dentro de la planta. Adicionalmente estas cepas han demostrado controlar patógenos de suelo tales como *Botrytis cinerea* y *Fusarium*.

INGREDIENTE ACTIVO	*Beauveria bassiana*, cepas RGM-644 y RGM-547
INGREDIENTES ADITIVOS	Adherentes y surfactantes naturales
FORMULACIÓN	Polvo mojable (PW) Suspensión concentrada (SC)
VIDA ÚTIL	6 meses usando las recomendaciones de almacenamiento
PRESENTACIÓN	26 sobres de 15 g. Contenido neto envase 390 g. / PW 1 L Suspensión concentrada
DOSIS	Polvo mojable 390 gr por ha 1 L Suspensión concentrada por ha
ALMACENAMIENTO	Almacenar en su envase original en lugar fresco, seco y oscuro (evitar la incidencia de los rayos del sol de forma directa). Mantenga fuera del alcance de los niños
CARENCIA	No tiene carencia.
COMPATIBILIDAD	No mezclar con fungicidas (usar 7 días después de un fungicida) Se recomienda precaución en mezclas con compuestos alcalinos e insecticidas. No mezclar con hongos entomopatógenos

Ficha Técnica

RECOMENDACIONES DE USO:

Tomate, pepino, pimiento, ají, y lechuga	Inmersión de semillas. Inmersión de almaciguera. Se recomienda hacer una aplicación pre-trasplante al suelo. En desarrollo aplicar cada 15 días de preferencia mediante el sistema de riego o aspersión foliar.
Arándano y Frambuesa	Aplicación a inicio de temporada (crecimiento vegetal) y repetir cada 30 días. Última aplicación en postcosecha.
Cerezos/Avellanos	En desarrollo aplicar cada 30 días de preferencia mediante el sistema de riego o aspersión foliar.

PRECAUCIONES

El producto no es tóxico, sin embargo se deben tomar las precauciones necesarias y utilizar equipo de protección adecuado. Evitar el contacto con la piel, usar ropa impermeable que no permita el ingreso del producto hacia el cuerpo. Se recomienda el uso de antiparras, guantes de goma y mascarilla.

IMPORTANTE

- En la medida que Endomix B1 sea inoculado en etapas tempranas del desarrollo de las plantas se obtienen mejores resultados en la promoción del crecimiento.
- Para protección frente a patógenos Endomix B1 actúa como preventivo.
- Como producto biológico aplicar con humedad y temperaturas moderadas. Evitar aplicación en horas con alta radiación solar.
- Usar agua limpia para aplicación, evitar agua de canal por su alto contenido de microorganismos.

Fabricante: Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Av. Vicente Méndez N°515, Chillán. Región de Ñuble, Chile
Contacto: 56 422206773 / idelahoz@inia.cl

INIA BioInnia

INIA BioInnia

Figura 5. Ficha técnica de Endomix B1, producto elaborado en base a cepas de *Beauveria bassiana* para la prevención de pudrición gris.



Ficha Técnica

ENDOMIX T1

ENDOMIX T1 WP, es un producto en base a una mezcla de dos cepas de microorganismos endófitos del género *Trichoderma* que actúan como probiótico para promover el crecimiento de las plantas por diversos mecanismos y las protege frente a estreses bióticos y abióticos. Ambas cepas de Trichoderma son endófitas de raíces y hojas de lechuga, maíz, pimiento, pepino y tomate, por lo que tienen una acción sistémica dentro de la planta. Adicionalmente estas cepas han demostrado controlar patógenos de suelo tales como: *Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* y *Sclerotinia*. Los endófitos *Trichoderma sp.* utilizan distintos mecanismos de acción para el control de patógenos como la competencia por espacio y nutriente, micoparasitismo y estimulación de los mecanismos de defensa de las plantas. En su acción como saprofitos son excelentes descomponedores de la materia orgánica ayudando a la plantas en el proceso de nutrición.

INGREDIENTE ACTIVO	:	*Trichoderma harzianum* , cepa RGM 301 *Trichoderma sp.*, cepa JFD1_4
INGREDIENTES ADITIVOS	:	Polvo dispersante Adherentes y surfactantes naturales
FORMULACIÓN	:	Polvo mojable (PW) Emulsión agua en aceite (EO)
VIDA ÚTIL	:	6 meses usando las recomendaciones de almacenamiento.
PRESENTACIÓN	:	26 sobres de 15 g. Contenido neto envase 390 g. 1 L Emulsión agua en aceite
DOSIS	:	Polvo mojable 390 gr por ha Emulsión agua en aceite 1 L por ha
ALMACENAMIENTO	:	Almacenar en su envase original en lugar fresco, seco y oscuro (evitar la incidencia de los rayos del sol de forma directa) Mantenga fuera del alcance de los niños.
CARENCIA	:	No tiene carencia.
COMPATIBILIDAD	:	No mezclar con fungicidas (usar 7 días después de un fungicida) Se recomienda precaución en mezclas con compuestos alcalinos e insecticidas. No mezclar con hongos entomopatógenos
PREPARACIÓN	:	Puede agregar directo al equipo de aplicación. Agitar para homogenizar.

Ficha Técnica

RECOMENDACIONES DE USO:

Lechuga *Lactuca sativa*	:	Inmersión de semillas. Inmersión de almaciguera. Se recomienda hacer una aplicación pre-trasplante al suelo. En desarrollo aplicar cada 10 días de preferencia mediante el sistema de riego o aspersión foliar.
Maíz *Zea mays*	:	Pre-trasplante mediante aspersión al suelo. Inmersión de semillas.
Pepino *Cucumis sativus*	:	Inmersión de semillas. Inmersión de almaciguera. Se recomienda hacer una aplicación pre-trasplante al suelo. En desarrollo aplicar cada 15 días de preferencia mediante el sistema de riego o aspersión foliar.
Pimiento *Capsicum annuum*	:	Inmersión de semillas. Inmersión de almaciguera. Se recomienda hacer una aplicación pre-trasplante al suelo. En desarrollo aplicar cada 15 días de preferencia mediante el sistema de riego o aspersión foliar.
Tomate *Solanum lycopersicum*	:	Inmersión de semillas. Inmersión de almaciguera. Se recomienda hacer una aplicación pre-trasplante al suelo. En desarrollo aplicar cada 15 días de preferencia mediante el sistema de riego o aspersión foliar.

IMPORTANTE

En la medida que Endomix T1 sea inoculado en etapas tempranas del desarrollo de las plantas se obtienen mejores resultados en la promoción del crecimiento.

Para protección frente a patógenos Endomix T1 actúa como preventivo.

Como producto biológico aplicar con humedad y temperaturas moderadas. Evitar aplicación en horas con alta radiación solar.

Usar agua limpia para aplicación, evitar agua de canal por su alto contenido de microorganismos.

Figura 6. Ficha técnica de Endomix T1, producto elaborado en base a cepas de *Trichoderma* spp. para la prevención de enfermedades se suelo en hortalizas.



Figura 7. Presentación de los productos desarrollados, destaca el envasado en sachet para usar en bombas de espalda.

4. Al menos dos cepas licenciadas para su comercialización.

Se obtuvieron cinco cepas que presentan importante potencial para el control de plagas y enfermedades, estas cepas constituyen los tres productos obtenidos. Todas la cepas quedaron disponibles para licenciamiento y en primera instancia se conversó con las empresas Nutrifert, Basf y I+D Agroecología, quienes propusieron diversos modelos de negocio que permitían la comercialización de los productos. En el caso de Nutrifert requieren que INIA haga el escalamiento industrial debido a que no tiene capacidad productiva para este tipo de tecnología, ellos podrían hacer la distribución (solos en alianza con otras empresas) y comercialización bajo licenciamiento.

Por otro lado, la propuesta de Basf, con quién en 2018 se firmó un convenio de colaboración, fue desestimada debido a que en julio de 2019 informaron a INIA que no continuarían adelante con el convenio de colaboración para la I+D y escalamiento de las cepas debido a que cerraron operaciones de prospección de biocontroladores en Chile. Finalmente se mantienen las conversaciones con I+D Agroecología quienes al igual que Nutrifert esperan que INIA realice el escalamiento para ellos asumir la parte técnica (asesorías a productores) y comercial bajo licencia.

Actualmente la tecnología se encuentra en revisión por la Unidad de Gestión de la Innovación de INIA y se está pendiente la decisión si las cepas se entregarán bajo licencia o es INIA quien realizará su escalamiento, alternativa que fue presentada en la postulación del proyecto.

5. Estrategia de manejo de plagas y enfermedades mediante el uso endófito elaborado y transferido.

La estrategia de manejo se basa en distintas recomendaciones que permiten el uso eficiente de los hongos endófitos. Contempla una parte en donde se establecieron los momentos oportunos para la aplicación y se realizaron las recomendaciones en cada uno de los momentos, las recomendaciones fueron genéricas de tal forma que puedan ser utilizadas en los cultivos de tomate, pimiento/ají, pepino y lechuga (Tabla 6). Además se estableció que el producto tiene un modo de acción sistémico, es decir, puede ser aplicado por las hojas y por la raíz colonizando toda la planta (Figura 8). Dado la experiencia obtenida del trabajo de campo, el producto debe ser usado como preventivo, es decir, de acuerdo a un programa que considera posibles momentos de aparición de las plagas y enfermedades consideradas en el proyecto. Se realizó evaluación curativa y la eficacia fue mínima, sobre todo en el caso de las mosquitas blancas de los invernaderos y el pulgón verde del duraznero.

Tabla 6. Fundamentos de la Estrategia de uso de hongos endófitos

Momento de aplicación	Recomendación
Aplicación pretrasplante (antes del establecimiento del cultivo).	Aplicar sobre los camellones, mesas o melgas, 3 a 5 días antes del trasplante, con baja radiación solar (idealmente en la tarde). El suelo debe estar mullido y húmedo. Una vez aplicado, se recomienda incorporarlo a 5-15 cm de profundidad. Esta aplicación permite disminuir la incidencia de hongos fitopatógenos causantes de enfermedades, muchos de los cuales producen estructuras de resistencia que permanecen en el suelo por bastante tiempo. También se puede aplicar por el sistema de riego.
Aplicación postrasplante (valido para uso de almácigos)	Aplicar con pulverizador (bomba de espalda) usando las boquillas correctas y bien calibradas. Esta aplicación debe realizarse con baja radicación solar, idealmente con temperatura moderada (16-25°C) y humedad relativa media (50 – 60%) para que el hongo germine, se desarrolle e ingrese a la planta. Se necesita un buen mojamiento de la planta, sobretodo en la base y en el suelo que rodea el cuello. No aplicar fungicida y/o insecticidas 5 días antes o después de la aplicación del endófito.
Aplicación según programa fitosanitario (en reemplazo de los productos químicos).	Se recomiendan aplicaciones cada 7 a 15 días, lo que permitirá aprovechar sus propiedades de promoción de crecimiento durante todo el ciclo del cultivo, además de entregar una protección permanente frente al ataque de microorganismos fitopatógenos e insectos. Alternar aplicaciones al follaje y al suelo. En pulverizaciones al follaje, aplicar con baja radicación solar, temperatura moderada (15-25°C) y con buen cubrimiento. No aplicar fungicida y/o insecticidas 5 días antes o después de la aplicación del endófito.
Aplicación a las semillas	Para la aplicación en semillas se recomienda en primera instancia lavar la semilla, sobre todo en el caso de semillas que vienen con algún tipo de tratamiento fitosanitario (fungicida y/o insecticida). Posteriormente se debe preparar la solución de hongos endófitos para poner la semilla a remojar durante 2 a 4 horas en la solución a temperatura ambiente. Posterior al remojo la semilla puede ser utilizada o secada durante 1 hora para su uso posterior. Es relevante usas agua que no contenga cloro.

La estrategia fue validada a nivel de campo durante las temporadas 2018-2019 y 2019-2020 (Tabla 7), para lo cual se realizaron diversos ensayos en predios de agricultores de la localidad de Colín y Maule de la comuna de Maule para el caso de los productores convencionales. Los productores convencionales seleccionados reportaron un alto e intenso uso de plaguicidas de síntesis química en sus sistemas productivos; sin embargo, con las evaluaciones de los endófitos se pudo obtener productos libres de insecticidas y fungicidas químicos. En el caso de sistemas de

producción orgánica de hortalizas, las evaluaciones se hicieron en el predio de I+D Agroecología en donde se usaron los productos de forma combinada con el manejo agroecológico del invernadero y hortalizas al aire libre, alcanzándose altos rendimientos y una excelente calidad.

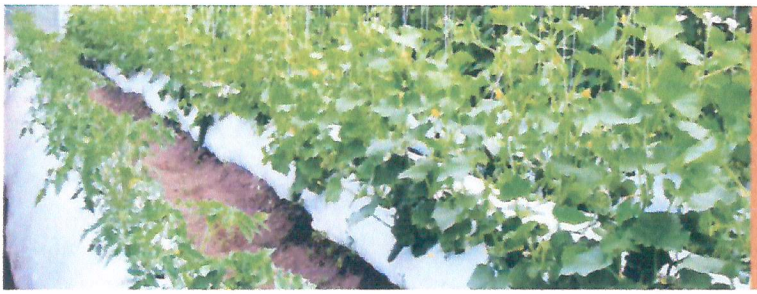
Tabla 7. Validación de estrategias de manejo de plaga y enfermedades.

Sistema	Cultivo	Tipo Explotación	Agricultor	Localidad	Estrategia evaluada
Convencional	Tomate y pimiento	Invernadero	Francisco Fuentes Patricio Vásquez	Colín Unihue	Convencional, MIP y Biológica
Convencional	Lechuga	Aire libre	Jorge Oyarzún	Duao	Convencional, MIP y Biológica
Convencional	Pepino	Invernadero	Héctor Concha	Colín	Convencional, MIP y Biológica
Orgánica	Tomate, pepino y lechuga	Invernadero Aire libre	Carlos Torres I+D Agroecología	Lontué	Orgánico Biológico

Además se realizaron recomendaciones generales al uso, transporte y almacenamiento de los endófitos como:

- No utilizar con alta incidencia de rayos UV debido a que disminuyen la viabilidad de los conidios.
- Aplicar en la mañana primera hora o en la tarde después de las 18 h, dependiendo de la estación de año. En el caso de días nublados se puede utilizar en cualquier momento del día. Se buscan condiciones de alta humedad relativa ambiental (> a 60%).
- Se recomienda aplicar con temperaturas de 10 a 28°C, las temperaturas inferiores afectan la germinación del hongo, cuyo conidio puede estar inactivo hasta que se presenten las condiciones de germinación. Por su parte, temperaturas superiores a los 28°C pueden afectar la viabilidad, es decir, los conidios pueden llegar a germinar pero el tubo germinativo y sus hifas están expuestas a una deshidratación irreversible.
- No utilizar en mezcla con productos fitosanitarios de síntesis química y distanciar las aplicaciones de productos químicos en 7 días antes y 7 días después de la aplicación de los endófitos. Bajo ningún punto de vista se recomienda la aplicación de fungicidas sistémico los cuales tienen incidencia negativa sobre la viabilidad y persistencia de los endófitos en el interior de las plantas.
- Para el trasporte se recomienda realizarlo sin exponer el producto a temperaturas superiores a los 22°C y sin que la luz llegue directamente sobre el envase.

- El almacenamiento se deberá realizar idealmente refrigerado a 3-5°C, sin embargo, igualmente puede ser almacenado en un lugar fresco, seco y en oscuridad.



FICHA TÉCNICA 88 2020

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS **INIA QUILAMAPU**

bioinsumos

Hongos Endófitos para sistemas hortícolas sustentables

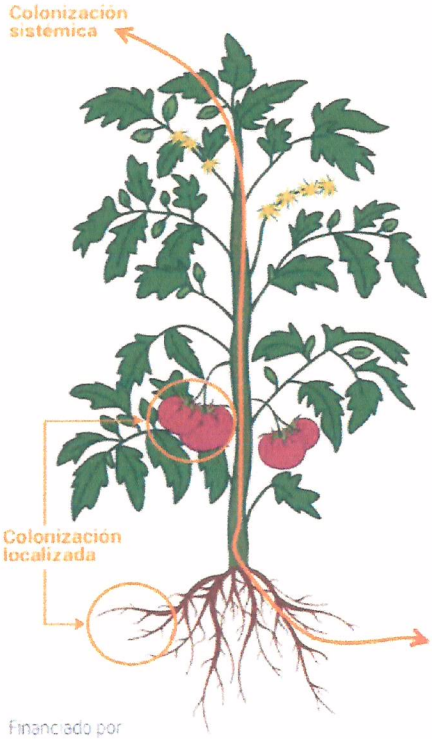
Lorena Barra Bucarei
Ingeniero Civil Industrial - Ingeniero Agrónomo, Mg. Dra.
INIA Quilamapu
lbarra@inia.cl

Los hongos endófitos crecen en el interior de las plantas, pudiendo pasar todo o parte de su ciclo de vida dentro de ellas, sin causarle un daño aparente.

Estos hongos establecen una asociación simbiótica de protocooperación con la planta, donde ambos salen beneficiados. Existen endófitos obligados, es decir no pueden vivir de forma independiente a la planta, y facultativos que pueden vivir sin problemas fuera de ella. En esta relación, las plantas le entregan al hongo endófito un lugar donde habitar y alimento, por su parte, el hongo le ayuda a resistir el estrés causado por las plagas y enfermedades, además de aumentar la tolerancia al estrés abiótico ocasionado, entre otros, por las altas temperaturas, falta o exceso de agua, pH extremos y deficiencias nutricionales.

Colonización. Estos hongos pueden ingresar a las plantas por las hojas, directamente a través de su cutícula (epidermis) como en el caso de los endófitos entomopatógenos; a través de sus estomas, lenticelas, cortes y heridas, y también por las raíces. Una vez dentro se mueven entre las células (vía apoplástica) o por el interior de ellas (vía simplástica) hasta llegar al sistema vascular (xilema y floema) que le permite acceder a los distintos tejidos de las plantas.

Inoculación. Los hongos endófitos pueden estar naturalmente en las plantas o pueden ser inoculados mediante pulverizaciones a las hojas y flores; inyecciones al tallo; por sistema de riego a las raíces; inmersión de las raíces o aplicados a las semillas.



Financiado por
GOBIERNO REGIONAL DEL MAULE
Descubre el Maule
El corazón de Chile



Figura 8. Ficha técnica N° 88 que contiene la recomendación de uso resumida para uso del agricultor y asesores técnicos.

6. Videos con animación digital de la tecnología desarrollada elaborados y difundidos.

Videos 1: Video completo compuesto de cuatro momentos. El primero hace una introducción a la problemática de los sistemas productivos dado el intenso uso de plaguicidas de síntesis química. El segundo asociado al desarrollo de tecnologías de control biológico de INIA, posteriormente un tercero 100% en animación digital, asociada específicamente al funcionamiento de los hongos endófitos en la plata y sus mecanismos de control de plagas y enfermedades. Finalmente se entrega la experiencia en el trabajo realizado en el marco del proyecto por parte de un productor de la comuna Maule. El video fue elaborado por la empresa Ambiado & Ambiado de Concepción.



Figura 9. Video donde se presentan 4 etapas de relevancia para el proyecto. https://www.youtube.com/watch?v=vNjG4vAw4xs

Video 2: Video que corresponde a la elaboración del contenido digital cuyo objetivo fue tener un video base para la generación de nuevo material audiovidual. El desarrollo del video contempla cuatro aspectos relevantes para que los productores y extensionistas puedan conocer cómo funcionan los hongos endófitos: formas de aplicación, colonización, mecanismos de control de enfermedades causadas por patógenos fúngicos y mecanismos de control de plagas. El video fue desarrollado por la empresa Gnomo de Concepción.



Figura 10. Video de animación digital usado como base para otros videos.

Cápsula 1: Este video presenta la explicación en imágenes y audio de cómo funcionan los hongos endófitos es la planta. Se utilizan imágenes en animación digital con etiquetas en cada hito relevante con una duración de 1.32 minutos. El video fue editado por la empresa Ambiado & Ambiado de Concepción.



Figura 11. Cápsula Cómo Funcionan los Hongos Endófitos
https://www.youtube.com/watch?v=enSz2nYzMCM

Cápsula 2: El video aborda los cuatro mecanismos que utilizan los hongos endófitos para el control de enfermedades causadas por microorganismos patógenos, específicamente hongos. Se utilizan imágenes en animación digital con etiquetas en cada hito relevante con una duración de 1.16 minutos. El video fue editado por la empresa Ambiado & Ambiado de Concepción.

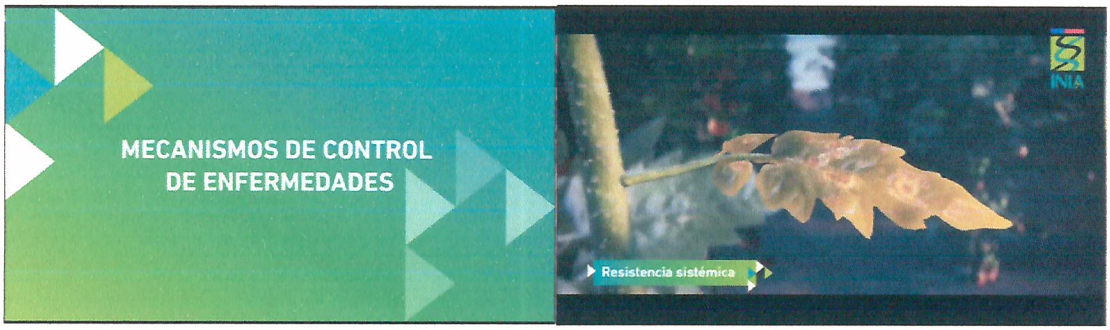


Figura 12. Cápsula Mecanismos de Control de Enfermedades
https://www.youtube.com/watch?v=Zrk5fqwGgbU

Cápsula 3: El video explica los cuatro mecanismos que utilizan los hongos endófitos para el control de plagas causadas por insectos como los áfidos. Se utilizan imágenes en animación digital con etiquetas en cada hito relevante con una duración de 1.12 minutos. El video fue editado por la empresa Ambiado & Ambiado de Concepción.

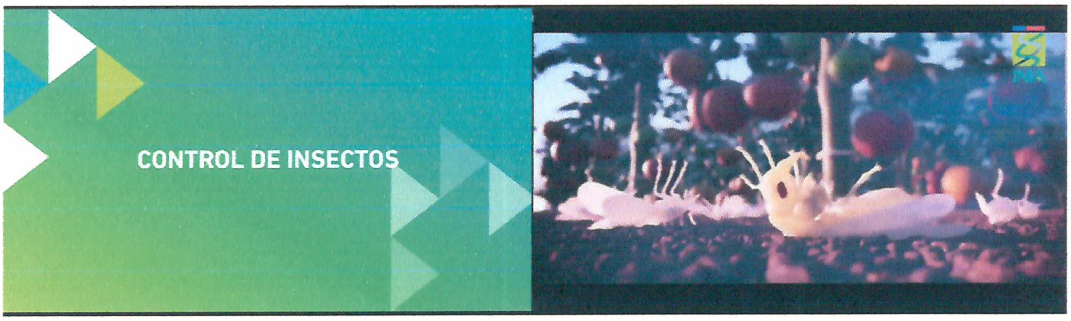


Figura 13. Cápsula Control de Insectos
https://www.youtube.com/watch?v=l_A7ksSUtpw

Cápsula 4: Este video entrega la experiencia en el uso de los hongos endófitos en el control fitosanitario del cultivo de hortalizas bajo plástico. En él el agricultor Francisco Fuente explica los problemas ocasionados por los productos químico y entrega las ventajas de trabajar con la tecnología desarrollada en el proyecto. Se utilizan imágenes en animación digital con etiquetas en cada hito relevante con una duración de 1.33 minutos. El video fue editado por la empresa Ambiado & Ambiado de Concepción.



Figura 14. Experiencias en el Uso de Hongos Endófitos
https://www.youtube.com/watch?v=nIqatu8LMUM

7. Comunidad científica conoce la tecnología desarrollada en el proyecto.

Se participó en varias actividades científicas en donde se fueron presentando los resultados obtenidos durante el desarrollo del proyecto los trabajos presentados. En el ámbito de la participación en congresos/seminario/simposio se realizaron 11 presentaciones por el equipo técnico del proyecto, tanto a nivel nacional como internacional partiendo en el año 2017 y terminando en el 2020. Además se elaboraron publicaciones científicas en revistas científicas de alto impacto (ISI), en donde quedó estipulado el aporte del Gobierno Regional de Maule a la iniciativa (Figura 15 y 16) y se escribieron dos capítulos de libro internacional donde se presentaron algunos de los resultados obtenidos en el proyecto (Tabla 8 y Figura 17).

Tabla 8. Participación en actividades científicas con avances y resultados del proyecto

TIPO	AÑO	CITA
Participación en congreso nacional.	2017	**Barra-Bucarei, L.**; Parra, K. & Burgos, E. *Beauveria bassiana*: Colonización endófita y control de *Botrytis cinerea* en ají. Congreso Iberoamericano de Fitopatología. Termas de Chillán 2017.
Participación en congreso internacional	2017	**Barra-Bucarei L.** & Burgos E. Specificity of endophytic *Beauveria bassiana* and its potential to control plant diseases. Sustain: endophytes for a growing world. Trinity College Dublin, the University of Dublín. 28 y 29 de Aug 2017.
Participación en congreso nacional.	2018	Millas, P.; Robles, & **Barra-Bucarei, L.** Control de la pudrición blanca con hongos endófitos en lechuga. XXVI Congreso de Fitopatología de Chile. Noviembre 2018.
Participación en congreso nacional.	2019	Chilian J., **Barra-Bucarei L.,** Millas P., Parra P., Parra K. & Ortiz J. Microorganismos endófitos y la modulación del sistema inmune de las plantas: modelo de estudio *Botrytis*-tomate. Primer Simposio Latinoamericano de Control Biológico. Octubre 2019.
Participación en congreso nacional.	2019	Parra K., **Barra-Bucarei L.**, Ortiz J., Parra P. & Moreno N. Efecto de Endomix sobre plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Primer Simposio Latinoamericano de Control Biológico. Octubre 2019.
Participación en congreso nacional.	2019	Ortiz J., **Barra-Bucarei L.**, Gerding M., Parra K. & Parra P. Efecto antagónico del endófito *Beauveria bassiana* frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en ají. Primer Simposio Latinoamericano de Control Biológico. Octubre 2019.

TIPO	AÑO	CITA
Participación en congreso nacional.	2019	**Barra-Bucarei L.**, Gerding M., Silva G., Parra P., Ortiz J., Parra K. & Pino C. Control de mosquita blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) en tomate mediante el uso de cepas nativas de hongos endófitos. Primer Simposio Latinoamericano de Control Biológico. Octubre 2019.
Participación en congreso nacional.	2019	**Barra-Bucarei L.,** France A., Gerding M., Millas P. & Chilian J. Bioprotección de cepas nativas del endófito *Beauveria bassiana* frente a *Botrytis cinerea* en tomate. XXVIII Congreso de Fitopatología de Chile. Noviembre 2019.
Participación en congreso internacional.	2020	**Barra-Bucarei L.,** France A., Gerding M., Silva G. & Ortiz J. Potencial de los hongos entomopatógenos endófitos en el desarrollo de una agricultura sustentable. 47 Congreso de Socolen Colombia. Octubre 2020.
Participación en congreso nacional.	2020	J. Ortiz1, L. Barra-Bucarei, M. Gerding, K. Parra y P. Parra. Antagonism effect of endophyte Beauveria bassiana against *Fusarium oxysporum* and biocontrol of *Myzus persicae* in chili pepper. I WORKSHOP DE JÓVENES INVESTIGADORES EN CIENCIAS AGRONÓMICAS. Concepción 14 al 16 de diciembre de 2020.
Participación en congreso nacional.	2020	Lorena Barra-Bucarei, Andrés France, Macarena Gerding, Gonzalo Silva y Javiera Ortiz. Multifunction endophytic entomopathogenic fungi: bioprotection and growth promotion. I WORKSHOP DE JÓVENES INVESTIGADORES EN CIENCIAS AGRONÓMICAS. Concepción 14 al 16 de diciembre de 2021.
Publicación científica revista internacional (ISI)	2020	Barra-Bucarei, L., France Iglesias, A., Gerding González, M., Silva Aguayo, G., Carrasco-Fernández, J., Castro, J. F., & Ortiz Campos, J. (2020). Antifungal Activity of *Beauveria bassiana* Endophyte against *Botrytis cinerea* in Two Solanaceae Crops. *Microorganisms*, *8*(1), 65.
Publicación científica revista internacional (ISI)	2020	Barra-Bucarei, L., González, M. G., Iglesias, A. F., Aguayo, G. S., Peñalosa, M. G., & Vera, P. V. (2020). *Beauveria bassiana* multifunction as an endophyte: Growth promotion and biologic control of *Trialeurodes vaporariorum*, (westwood)(hemiptera: Aleyrodidae) in tomato. *Insects*, *11*(9), 591.
Capítulo de libro internacional	2019	Barra-Bucarei, L., France, A., & Millas, P. (2019). Crossing frontiers: Endophytic entomopathogenic

TIPO	AÑO	CITA
		fungi for biological control of plant diseases. *Endophytes for a Growing World; Cambridge University Press: Cambridge, UK*, 67.
Capítulo de libro internacional	20202	Barra-Bucarei, L., & Ortiz, J. (2020). Biological Control in Capsicum with Microbial Agents. *Capsicum*.



microorganisms

MDPI

Article

Antifungal Activity of *Beauveria bassiana* Endophyte against *Botrytis cinerea* in Two *Solanaceae* Crops

Lorena Barra-Bucarei [1,2,*], Andrés France Iglesias [1], Macarena Gerding González [2], Gonzalo Silva Aguayo [2], Jorge Carrasco-Fernández [1], Jean Franco Castro [1] and Javiera Ortiz Campos [1,2]

[1] Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) Quilamapu, Av. Vicente Méndez 515, Chillán 3800062, Chile; afranc@inia.cl (A.F.I.); jorge.carrasco@inia.cl (J.C.-F.); jean.castro@inia.cl (J.F.C.); javiera.ortiz@endofitos.com (J.O.C.)

[2] Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Vicente Méndez 595, Chillán 3812120, Chile; mgerding@udec.cl (M.G.G.); gosilva@udec.cl (G.S.A.)

* Correspondence: lbarra@inia.cl

Received: 11 December 2019; Accepted: 28 December 2019; Published: 31 December 2019

check for updates

Abstract: *Botrytis cinerea* causes substantial losses in tomato and chili pepper crops worldwide. Endophytes have shown the potential for the biological control of diseases. The colonization ability of native endophyte strains of *Beauveria bassiana* and their antifungal effect against *B. cinerea* were evaluated in *Solanaceae* crops. Root drenching with *B. bassiana* was applied, and endophytic colonization capacity in roots, stems, and leaves was determined. The antagonistic activity was evaluated using in vitro dual culture and also plants by drenching the endophyte on the root and by pathogen inoculation in the leaves. Ten native strains were endophytes of tomato, and eight were endophytes of chili pepper. All strains showed significant in vitro antagonism against *B. cinerea* (30–36%). A high antifungal effect was observed, and strains RGM547 and RGM644 showed the lowest percentage of the surface affected by the pathogen. Native strains of *B. bassiana* colonized tomato and chili pepper tissues and provided important levels of antagonism against *B. cinerea*.

Keywords: entomopathogenic fungi; biological control; antifungal activity; *Solanum lycopersicum*; *Capsicum annuum*

1. Introduction

Among the phytosanitary problems affecting crops in the *Solanaceae* family, such as tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and chili pepper (*Capsicum annuum* L.), fungal diseases that produce economic losses are highlighted. Intensive production systems, like greenhouse cultivation, high temperatures, and humidity, favor disease development and dissemination [1]. *Botrytis cinerea* is the etiological agent of grey mold, which affects more than 200 plant species and is the most frequent disease in the cultivation of tomato and chili pepper worldwide. This fungus can penetrate wounds and colonize the whole aerial part of the plant [2], affecting the whole growing cycle and postharvest [1] and reducing fruit yield and quality. In greenhouse conditions, *B. cinerea* enters the tissue through pruning cuts, leaves, and flowers. In turn, damage to the fruits occurs largely at postharvest [2,3].

Botrytis cinerea is difficult to control because it can infect using different strategies and use different hosts as its inoculum source because it can survive as mycelia, conidia, and/or sclerotia for long periods of time in crop residues and in the soil. Chemical fungicides are intensively used for its control; however, there is scientific evidence that highlights their detrimental effects on human health, the environment, and the economy [4,5]. Moreover, their effectiveness has been affected by the appearance of resistant strains [6]. In this context, the biological control of diseases using microbial agents has advantages

Microorganisms 2020, 8, 65; doi:10.3390/microorganisms8010065 www.mdpi.com/journal/microorganisms

Microorganisms 2020, 8, 65 12 of 15

Author Contributions: Conceptualization: A.F.I., G.S.A., M.G.G. and L.B.-B.; methodology, J.C.-F., J.O.C. and L.B.-B.; formal analysis, L.B.-B.; investigation L.B.-B., J.C.-F. and J.O.C.; manuscript writing, editing, and review: A.F.I., G.S.A., M.G.G., J.F.C. and L.B.-B.; supervision and project administration: L.B.-B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Fund of Innovation for the Competitiveness of Maule Region Chile, through the project: Native Endophytes for the Control of Pests and Diseases.

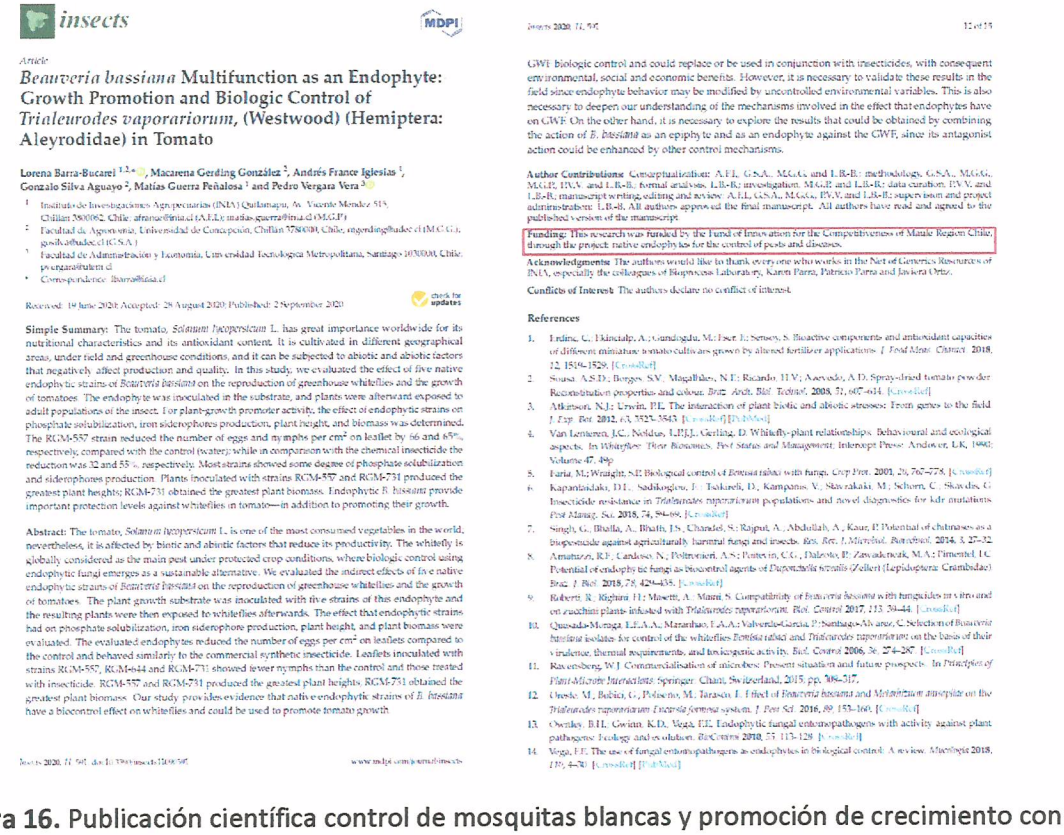
Acknowledgments: The authors would like to thank everyone who works in the Genetic Resources Network of INIA and especially to the colleagues of Banco de Recursos Genéticos Microbianos.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Punja, Z.K.; Rodriguez, C.; Brajch, A. Effects of *Bacillus SubTis* strain QST 713 and storage temperatures on post-harvest disease development on greenhouse tomatoes. *Crop Prot.* **2016**, *84*, 98–104. [CrossRef]
2. Williamson, B.; Tudzynski, B.; Tudzynski, P.; van Kan, J.A. *Botrytis Cinerea*: The cause of grey mould disease. *Mol. Plant Pathol.* **2007**, *8*, 561–580. [CrossRef] [PubMed]
3. Droby, S.; Lichter, A. Post-harvest *Botrytis* infection: Etiology, development and management. In *Botrytis: Biology, Pathology and Control*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2007; pp. 349–367.
4. Carisse, O.; Tremblay, D.-M.; Jobin, T.; Walker, A.S. Disease decision support systems: Their impact on disease management and durability of fungicide effectiveness. *Fungicides* **2010**, 177–200. [CrossRef]
5. Kanonga, C.C.; Chidya, R.C.G.; Kosamu, I.B.M.; Abdel-Dayem, S.M.; Mapoma, H.W.T.; Thole, B.; Mbewe, R.; Sakugawa, H. Trends in usage of selected fungicides in Japan between 1962 and 2014: A Review. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **2015**, *13*, 1801–1814. [CrossRef]
6. Leroux, P.; Gredt, M.; Leroch, M.; Walker, A.-S. Exploring mechanisms of resistance to respiratory inhibitors in field strains of *Botrytis cinerea*, the causal agent of grey mold. *Appl. Environ. Microbiol.* **2010**, *76*, 6615–6630. [CrossRef]
7. Bailey, K.L.; Boyetchko, S.M.; Langle, T. Social and economic drivers shaping the future of biological control: A Canadian perspective on the factors affecting the development and use of microbial biopesticides. *Biol. Control* **2010**, *52*, 221–229. [CrossRef]
8. Glare, T.; Caradus, J.; Gelernter, W.; Jackson, T.; Keyhani, N.; Köhl, J.; Marrone, P.; Morin, L.; Stewart, A. Have Biopesticides come of age? *Trends Biotechnol.* **2012**, *30*, 250–258. [CrossRef]
9. Lovano-Tovar, M.D.; Ortiz-Urquiza, A.; Garrido-Jurado, I.; Trapero-Casas, A.; Quesada-Moraga, E. Assessment of entomopathogenic fungi and their extracts against a soil-dwelling pest and soil-borne pathogens of olive. *Biol. Control* **2013**, *67*, 409–420. [CrossRef]
10. Lovano-Tovar, M.D.; Garrido-Jurado, I.; Quesada-Moraga, E.; Raya-Ortega, M.C.; Trapero-Casas, A. *Metarhizium brunneum* and *Beauveria Bassiana* release secondary metabolites with antagonistic activity against *Verticillium Dahliae* and *Phytophthora Megasperma* olive pathogens. *Crop Prot.* **2017**, *100*, 186–195. [CrossRef]
11. Bassompierre, C.A.; Arnold, A.E.; Strobel, S.A. Student-directed discovery of the plant microbiome and its products. *Science* **2012**, *338*, 485–486. [CrossRef]
12. Hallmann, J.; Quadt-Hallmann, A.; Mahaffee, W.F.; Kloepper, J.W. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* **1997**, *43*, 895–914. [CrossRef]
13. Arnold, A.E.; Maynard, Z.; Gilbert, G.S.; Coley, P.D.; Kursar, T.A. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecol. Lett.* **2000**, *3*, 267–274. [CrossRef]
14. Aly, A.H.; Debbab, A.; Kjer, J.; Proksch, P. Fungal endophytes from higher plants: A prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. *Fungal Divers.* **2010**, *41*, 1–16. [CrossRef]
15. Quesada-Moraga, E.; Muñoz-Ledesma, F.J.; Santiago-Alvarez, C. Systemic protection of *Papaver Somniferum* L. against *Spodoptera Littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) by an endophytic strain of *Beauveria Bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Environ. Entomol.* **2009**, *38*, 723–730. [CrossRef] [PubMed]
16. Ownley, B.H.; Gwinn, K.D.; Vega, F.E. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: Ecology and evolution. *BioControl* **2010**, *55*, 113–128. [CrossRef]
17. Kauppinen, M.; Saikkonen, K.; Helander, M.; Pirttilä, A.M.; Wäli, P.R. Epichloë grass endophytes in sustainable agriculture. *Nat. Plants* **2016**, *2*, 15224. [CrossRef]

Figura 15. Publicación científica control de *Botrytis cinerea* con hongos endófitos en tomate y ají. https://www.mdpi.com/2076-2607/8/1/65



insects

MDPI

Article

Beauveria bassiana Multifunction as an Endophyte: Growth Promotion and Biologic Control of *Trialeurodes vaporariorum*, (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Tomato

Lorena Barra-Bucarei [1,2,*], Macarena Gerding González [2], Andrés France Iglesias [1], Gonzalo Silva Aguayo [2], Matías Guerra Peñalosa [1] and Pedro Vergara Vera [3]

[1] Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) Quilamapu, Av. Vicente Méndez 515, Chillán 3800062, Chile; afranc@inia.cl (A.F.I.); matias.guerra@inia.cl (M.G.P.)

[2] Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillán 3780000, Chile; mgerding@udec.cl (M.G.G.); gosilva@udec.cl (G.S.A.)

[3] Facultad de Administración y Economía, Universidad Tecnológica Metropolitana, Santiago 1070000, Chile; pvergara@utem.cl

* Correspondence: lbarra@inia.cl

Received: 19 June 2020; Accepted: 28 August 2020; Published: 2 September 2020

check for updates

Simple Summary: The tomato, *Solanum lycopersicum* L. has great importance worldwide for its nutritional characteristics and its antioxidant content. It is cultivated in different geographical areas, under field and greenhouse conditions, and it can be subjected to abiotic and abiotic factors that negatively affect production and quality. In this study, we evaluated the effect of five native endophytic strains of *Beauveria bassiana* on the reproduction of greenhouse whiteflies and the growth of tomatoes. The endophyte was inoculated in the substrate, and plants were afterward exposed to adult populations of the insect. For plant-growth promoter activity, the effect of endophytic strains on phosphate solubilization, iron siderophores production, plant height, and biomass was determined. The RGM-557 strain reduced the number of eggs and nymphs per cm^2 on leaflet by 66 and 85%, respectively, compared with the control (water); while in comparison with the chemical insecticide the reduction was 32 and 55 %, respectively. Most strains showed some degree of phosphate solubilization and siderophores production. Plants inoculated with strains RGM-557 and RGM-731 produced the greatest plant heights; RGM-731 obtained the greatest plant biomass. Endophytic *B. bassiana* provide important protection levels against whiteflies in tomato—in addition to promoting their growth.

Abstract: The tomato, *Solanum lycopersicum* L. is one of the most consumed vegetables in the world, nevertheless, it is affected by biotic and abiotic factors that reduce its productivity. The whitefly is globally considered as the main pest under protected crop conditions, where biologic control using endophytic fungi emerges as a sustainable alternative. We evaluated the indirect effects of five native endophytic strains of *Beauveria bassiana* on the reproduction of greenhouse whiteflies and the growth of tomatoes. The plant growth substrate was inoculated with five strains of this endophyte and the resulting plants were then exposed to whiteflies afterwards. The effect that endophytic strains had on phosphate solubilization, iron siderophore production, plant height, and plant biomass were evaluated. The evaluated endophytes reduced the number of eggs per cm^2 on leaflets compared to the control and behaved similarly to the commercial synthetic insecticide. Leaflets inoculated with strains RGM-557, RGM-644 and RGM-731 showed fewer nymphs than the control and those treated with insecticide. RGM-557 and RGM-731 produced the greatest plant heights. RGM-731 obtained the greatest plant biomass. Our study provides evidence that native endophytic strains of *B. bassiana* have a biocontrol effect on whiteflies and could be used to promote tomato growth.

Insects 2020, 11, 591; doi:10.3390/insects11090591 www.mdpi.com/journal/insects

Insects 2020, 11, 591 12 of 15

GWF biologic control and could replace or be used in conjunction with insecticides, with consequent environmental, social and economic benefits. However, it is necessary to validate these results in the field since endophyte behavior may be modified by uncontrolled environmental variables. This is also necessary to deepen our understanding of the mechanisms involved in the effect that endophytes have on GWF. On the other hand, it is necessary to explore the results that could be obtained by combining the action of *B. bassiana* as an epiphyte and as an endophyte against the GWF, since its antagonist action could be enhanced by other control mechanisms.

Author Contributions: Conceptualization: A.F.I., G.S.A., M.G.G. and L.B.-B.; methodology, G.S.A., M.G.G., M.G.P., P.V.V. and L.B.-B.; formal analysis, L.B.-B.; investigation, M.G.P. and L.B.-B.; data curation, P.V.V. and L.B.-B.; manuscript writing, editing and review: A.F.I., G.S.A., M.G.G., P.V.V. and L.B.-B.; supervision and project administration: L.B.-B. All authors approved the final manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Fund of Innovation for the Competitiveness of Maule Region Chile, through the project: native endophytes for the control of pests and diseases.

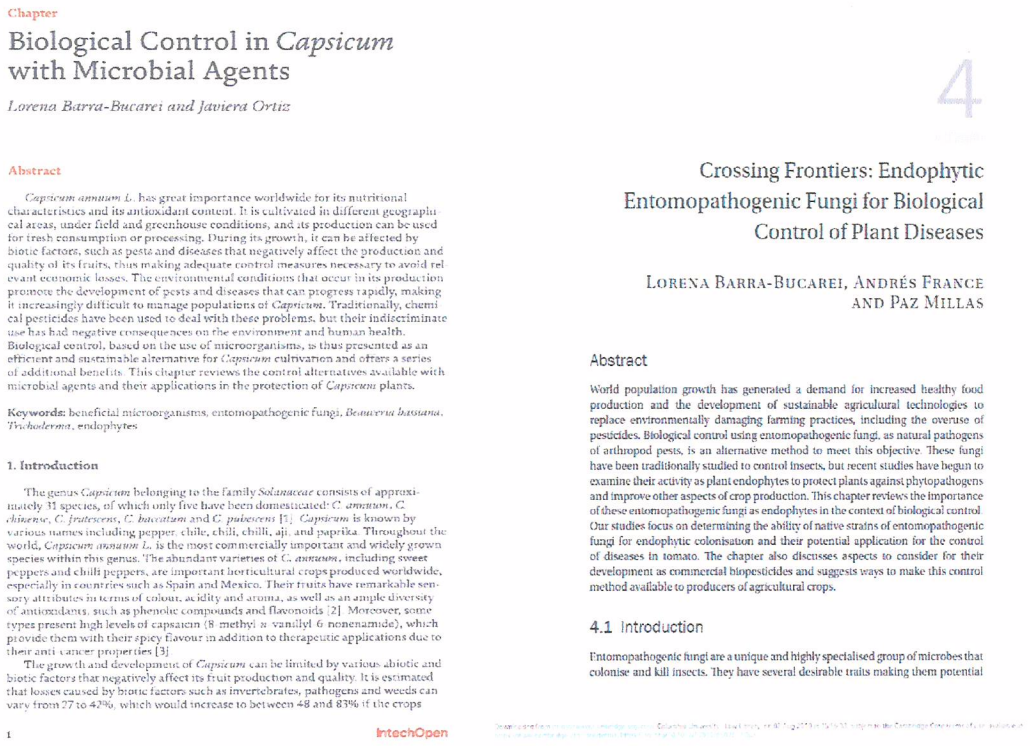
Acknowledgments: The authors would like to thank every one who works in the Net of Genetics Resources of INIA, especially the colleagues of Biopreseas Laboratory, Karen Parra, Patricio Parra and Javiera Ortiz.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Erdinç, C.; Dikmetaş, A.; Gündoğdu, M.; Ersoy, B.; Sensoy, S. Bioactive components and antioxidant capacities of different miniature tomato cultivars grown by altered fertilizer applications. *J. Food Meas. Charact.* **2018**, *12*, 1519–1529. [CrossRef]
2. Sousa, A.S.D.; Borges, S.V.; Magalhães, N.F.; Ricardo, H.V.; Azevedo, A.D. Spray-dried tomato powder: Reconstitution properties and colour. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **2008**, *51*, 607–614. [CrossRef]
3. Atkinson, N.J.; Urwin, P.E. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: From genes to the field. *J. Exp. Bot.* **2012**, *63*, 3523–3543. [CrossRef] [PubMed]
4. Van Lenteren, J.C.; Noldus, L.P.J.J.; Gerling, D. Whitefly-plant relationships: Behavioural and ecological aspects. In *Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*; Intercept Press: Andover, UK, 1996; Volume 47, 49p.
5. Faria, M.; Wraight, S.P. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Prot.* **2001**, *20*, 767–778. [CrossRef]
6. Kapantaidaki, D.E.; Sadikoglou, E.; Tsakireli, D.; Kampanis, V.; Stavrakaki, M.; Schorn, C.; Skavdis, G. Insecticide resistance in *Trialeurodes vaporariorum* populations and novel diagnostics for kdr mutations. *Pest Manag. Sci.* **2018**, *74*, 84–88. [CrossRef]
7. Singh, G.; Bhalla, A.; Bhath, J.S.; Chandel, S.; Rajput, A.; Abdullah, A.; Kaur, P. Potential of chitinases as a biopesticide against agriculturally harmful fungi and insects. *Res. Rev. J. Microbiol. Biotechnol.* **2014**, *3*, 27–32.
8. Amatuzzi, R.F.; Cardoso, N.; Poltronieri, A.S.; Poltronieri, C.O.; Dalzoto, P.; Zawadneak, M.A.; Pimentel, I.C. Potential of endophytic fungi as biocontrol agents of *Duponchelia fovealis* (Zeller) (Lepidoptera: Crambidae). *Braz. J. Biol.* **2018**, *78*, 429–435. [CrossRef]
9. Roberti, R.; Righini, H.; Masetti, A.; Mazzi, S. Compatibility of *Beauveria bassiana* with fungicides in vitro and on zucchini plants infested with *Trialeurodes vaporariorum*. *Biol. Control* **2017**, *113*, 39–44. [CrossRef]
10. Quesada-Moraga, E.; A.A., Mazarrabeitia, E.A.A.; Valverde-García, P.; Santiago-Alvarez, C. Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements, and toxigenic activity. *Biol. Control* **2006**, *36*, 274–287. [CrossRef]
11. Ravensberg, W.J. Commercialisation of microbes: Present situation and future prospects. In *Principles of Plant-Microbe Interactions*; Springer: Cham, Switzerland, 2015; pp. 507–517.
12. Oreste, M.; Bubici, G.; Poliseno, M.; Tarasco, E. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium Anisopliae* on the *Trialeurodes vaporariorum Encarsia formosa* system. *J. Pest Sci.* **2016**, *89*, 153–160. [CrossRef]
13. Ownley, B.H.; Gwinn, K.D.; Vega, F.E. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: Ecology and evolution. *BioControl* **2010**, *55*, 113–128. [CrossRef]
14. Vega, F.E. The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: A review. *Mycologia* **2018**, *110*, 4–30. [CrossRef] [PubMed]

Figura 16. Publicación científica control de mosquitas blancas y promoción de crecimiento con hongos endófitos en tomate. https://www.mdpi.com/2075-4450/11/9/591



Chapter

Biological Control in *Capsicum* with Microbial Agents

Lorena Barra-Bucarei and Javiera Ortiz

Abstract

Capsicum annuum L. has great importance worldwide for its nutritional characteristics and its antioxidant content. It is cultivated in different geographical areas, under field and greenhouse conditions, and its production can be used for fresh consumption or processing. During its growth, it can be affected by biotic factors, such as pests and diseases that negatively affect the production and quality of its fruits, thus making adequate control measures necessary to avoid relevant economic losses. The environmental conditions that occur in its production promote the development of pests and diseases that can progress rapidly, making it increasingly difficult to manage populations of *Capsicum*. Traditionally, chemical pesticides have been used to deal with these problems, but their indiscriminate use has had negative consequences on the environment and human health. Biological control, based on the use of microorganisms, is thus presented as an efficient and sustainable alternative for *Capsicum* cultivation and offers a series of additional benefits. This chapter reviews the control alternatives available with microbial agents and their applications in the protection of *Capsicum* plants.

Keywords: beneficial microorganisms, entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Trichoderma*, endophytes

1. Introduction

The genus *Capsicum* belonging to the family *Solanaceae* consists of approximately 31 species, of which only five have been domesticated: *C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* and *C. pubescens* [1]. *Capsicum* is known by various names including pepper, chile, chili, chilli, aji, and paprika. Throughout the world, *Capsicum annuum L.* is the most commercially important and widely grown species within this genus. The abundant varieties of *C. annuum*, including sweet peppers and chilli peppers, are important horticultural crops produced worldwide, especially in countries such as Spain and Mexico. Their fruits have remarkable sensory attributes in terms of colour, acidity and aroma, as well as an ample diversity of antioxidants, such as phenolic compounds and flavonoids [2]. Moreover, some types present high levels of capsaicin (8-methyl-*n*-vanillyl-6-nonenamide), which provide them with their spicy flavour in addition to therapeutic applications due to their anti-cancer properties [3].

The growth and development of *Capsicum* can be limited by various abiotic and biotic factors that negatively affect its fruit production and quality. It is estimated that losses caused by biotic factors such as invertebrates, pathogens and weeds can vary from 27 to 42%, which would increase to between 48 and 83% if the crops

1 IntechOpen

4

Crossing Frontiers: Endophytic Entomopathogenic Fungi for Biological Control of Plant Diseases

LORENA BARRA-BUCAREI, ANDRÉS FRANCE AND PAZ MILLAS

Abstract

World population growth has generated a demand for increased healthy food production and the development of sustainable agricultural technologies to replace environmentally damaging farming practices, including the overuse of pesticides. Biological control using entomopathogenic fungi, as natural pathogens of arthropod pests, is an alternative method to meet this objective. These fungi have been traditionally studied to control insects, but recent studies have begun to examine their activity as plant endophytes to protect plants against phytopathogens and improve other aspects of crop production. This chapter reviews the importance of these entomopathogenic fungi as endophytes in the context of biological control. Our studies focus on determining the ability of native strains of entomopathogenic fungi for endophytic colonisation and their potential application for the control of diseases in tomato. The chapter also discusses aspects to consider for their development as commercial biopesticides and suggests ways to make this control method available to producers of agricultural crops.

4.1 Introduction

Entomopathogenic fungi are a unique and highly specialised group of microbes that colonise and kill insects. They have several desirable traits making them potential

Figura 17. Capítulos de libros en publicaciones internacionales que incluyen algunos resultados del proyecto.

8. Al menos 20 extensionistas conocen la tecnología a través de talleres.

Durante todo el periodo de ejecución del proyecto se realizó un trabajo de formación de los equipos técnicos, se organizaron actividades exclusivas para extensionistas y en otros casos los extensionistas asistieron con agricultores (Tabla 9). Se realizaron dos talleres (Maule y Sagrada Familia) con demostraciones prácticas en terreno que incluían dos estaciones demostrativas, una para ver el funcionamiento de los hongos endófitos bajo condiciones controladas, conocer los hongos endófitos y patógenos mediante el uso de lupa estereoscópica. En el otro modulo se hizo una demostración práctica de aplicación de endófitos con bombas de espalda, también se incluyó un recorrido por los ensayos en cuejecución.

Tabla 9. Actividades de formación realizadas dirigidas a extensionistas.

ACTIVIDAD	FECHA	EQUIPO TECNICO	N° TECNICOS
Taller "Aplicación de hongos endófitos en cultivos de hortalizas bajo plástico para el control de plagas y enfermedades",	17 de enero de 2019	Prodesal Maule Presencial con agricultores	4
Taller "Incorporación de hongos endófitos en sistema hortícola orgánico para el control de plagas y enfermedades"	27 de enero de 2019	I+D Agroecología Presencial con agricultores	3

ACTIVIDAD	FECHA	EQUIPO TECNICO	N° TECNICOS
Taller "Estrategia de Uso de Hongos Endófitos para el Control de Plagas y Enfermedades en Hortalizas".	26 de julio de 2019	Municipalidad de Pencahue	7
Taller "Producción a pequeña escala de hongos endófitos"	29 de agosto de 2019	Prodesal Talca Presencial	4
Taller "Estrategia de Uso de Hongos Endófitos para el Control de Plagas y Enfermedades en Hortalizas".	25 de octubre de 2019	Prodesal Río Claro Presencial	4
Taller "Estrategia de Uso de Hongos Endófitos para el Control de Plagas y Enfermedades en Hortalizas".	5 de agosto de 2019	Prodesal Retiro Presencial	7
Taller "Estrategia de Uso de Hongos Endófitos para el Control de Plagas y Enfermedades en Hortalizas".	4 de diciembre de 2020	Prodesal Parral Presencial	6
Taller "Estrategia de Uso de Hongos Endófitos para el Control de Plagas y Enfermedades en Hortalizas".	18 de noviembre de 2020	Prodesal Hualañé On line, entrega de productos presencial	6
Taller "Estrategia de Uso de Hongos Endófitos para el Control de Plagas y Enfermedades en Hortalizas".	20 de noviembre de 2020	Prodesal Vichuquén, on line	3
Total asesores capacitados directamente			**44**
Total capacitados indirectamente (asistieron a charlas)			**76**

9. Al menos 50 productores conocen la tecnología desarrollada mediante talleres.

Desde el primer año de ejecución del proyecto se organizó y participó en actividades de formación de productores con el objetivo de transferir y difundir el uso de herramientas de control biológico para el manejo de plagas y enfermedades en hortalizas. Se puedo observar el creciente interés de los productores por incorporar herramientas más sustentables en los distintos sistemas productivos y especialmente en la producción de hortalizas. A las actividades en las cuales participó el equipo del proyecto como organizadores asistieron 141 agricultores, mientras que en las invitaciones a charlas, en el marco de actividades organizadas fuera del equipo, se contó con una participación aproximada de 2.009 personas (Tabla 10).

Una de las cosas que se puedo observar, casi al final del periodo de ejecución del proyecto, fue que los productores ya habían escuchado del producto desarrollado en el proyecto elaborado en base a hongos endófitos y estaban destacaron el trabajo de INIA con la pequeña agricultura ya que normalmente, según lo comentado, el foco era la fruticultura. Otra cosa que destacaron dentro de las actividades en las cuales se participó, fue la formulación y envase del producto Endomix, el contar con una dosis para 15 litros de agua es una alternativa muy valorada por los productores.

Tabla 10. Actividades de formación realizadas dirigidas a productores

ACTIVIDAD	FECHA	LUGAR	ASISTENCIA
Charla "Agentes Microbianos de Control Biológico" en Seminario de Hortalizas (Feria de la Cebolla).	2 de mayo de 2018	Municipalidad Maule	120
Charla Potencial de uso de hongos endófitos en hortalizas en Seminario Producción hortalizas.	24 de agosto de 2018	Centro Evento Maule	110
Taller "Aplicación de hongos endófitos en cultivos de hortalizas bajo plástico para el control de plagas y enfermedades",	17 de enero de 2019	Villa Tres Hermanos Colín, Talca	61* con extensionistas
Taller "Incorporación de hongos endófitos en sistema hortícola orgánico para el control de plagas y enfermedades"	27 de febrero de 2020	Modulo ensayos I+D Agroecología, Sagrada familia	31* con extensionistas
Charla " Estrategia de uso de hongos endófitos para el control de plagas y enfermedades en hortalizas". Día del Agricultor Prodesal INDAP Talca.	11 de abril de 2019	Lircay, Talca	200
Charla "Estrategia de uso de hongos endófitos para el control de plagas y enfermedades en hortalizas" en Día de Campo del Prodesal de Pencahue.	29 de abril de 2019	Municipalidad de Pencahue	150
Charla "Uso de microorganismos en el desarrollo de una agricultura sustentable" en día de Campo Hortisur.	08 de agosto de 2019	Predio Hortisur, Parral.	700
Charla "Uso de controladores biológicos en sistemas alimentarios sostenibles" en Seminario Inocuidad Alimentaria.	13 de agostos de 2019	INACAP, Talca	130
Taller "Estrategia de Uso de Hongos Endófitos para el Control de Plagas y Enfermedades en Hortalizas".	28 de agosto de 2019	Municipalidad de Retiro	24*
Charla "Uso de hongos endófitos para la protección de los cultivos". Actividad organizada por SAT San Clemente,	04 de septiembre de 2019	San Clemente	25

ACTIVIDAD	FECHA	LUGAR	ASISTENCIA
Charla " Uso de Microorganismos Benéficos en el desarrollo de una Agricultura sustentable".	12 de septiembre de 2019	Pelluhue	25
Charla " Hongos endófitos: una alternativa sustentable para el manejo de plagas y enfermedades" en Feria de Tecnologías Sustentables INIA.	26 de septiembre de 2019	Villa Alegre	150
Capacitación-Taller "Control Biológico de Plagas y Enfermedades en Hortalizas, con énfasis en el uso de endófitos".	26 de septiembre de 2020	Área INDAP, Talca	23*
Charla en día de Campo " Control biológico de plagas y enfermedades mediante el uso de microorganismos endófitos"	15 de octubre de 2019	INIA, Cauquenes	300
Charla " Uso de Microorganismos Benéficos en el desarrollo de una agricultura sustentable, con énfasis en microorganismos endófitos"	16 de octubre de 2019	Vivero Hortisur, Retiro	18
Charla "Uso de Hongos Endófitos para el Control de Plagas y Enfermedades en Hortalizas" en Seminario Agroecología	25 de octubre 2019	Sede social, Cumpeo, Rio Claro	40 con asesores
Charla "Estrategia de uso de hongos endófitos en hortalizas"	12 de noviembre de 2019	Lo Figueroa, Pencahue.	41
Taller "Estrategia de Uso de Hongos Endófitos para el Control de Plagas y Enfermedades en Hortalizas".	20 de noviembre de 2020	Vichuquén	12* con extensionistas
Total agricultores participan en Taller (*)			**151**
Total agricultores participan en otras actividades de formación y difusión			**2.009**

10. Unidades Prodesal de la región conocen la estrategia de manejo de plagas y enfermedades mediante el uso de endófitos nativos a través de videos.

Para la difusión de la estrategia desarrollada en el marco del proyecto no solo se hicieron videos sino que también fichas técnicas, dípticos y afiche. Se hizo entrega en las actividades presenciales de estos elementos y además se hizo difusión de la web (www.endofitos.com) donde se encuentran los videos y todo el material técnico del proyecto. Cabe mencionar que hay dos fichas técnicas que serán publicadas, junto con el Manual cuando hayan pasado por todo el proceso de revisión interna de INIA. Además se envió a unidades Prodesal la vía de acceso a los videos y actualmente se está coordinando el envío oficial a través de INDAP.

11. Profesionales INIA y asociados adquieren conocimiento técnico de producción masiva de bioinsumos y modelos de trabajo con productos.

Se realizó una pasantía y gira tecnológica que contempló la visita a entidades relacionadas con el control biológico en Colombia. El destino fue seleccionado por el importante número de empresas de control biológico de ese país y porque existe una normativa que regula la producción y uso de los bioinsumos. La gira duro 10 días y se visitaron entidades de investigación y empresas de producción de biocontroladores. Ningunas de las entidades visitadas habían trabajado específicamente con hongos endófitos por lo que quedó de manifiesto la innovación de los productos desarrollado en el marco del proyecto. En esta actividad participaron Manuel Calvo Gerente de la empresa asociada Nutrifert, Carlos Pino Director del Centro I+D Agroecología y Lorena Barra investigadora de INIA (Tabla 11).

Tabla 11. Reasumen da las actividades realizadas en la pasantía y gira tecnológica.

Actividad	Lugar	Resultados
Reunión del proyecto, avances y coordinación temporada 2018-2019.	Bogotá, Colombia	- Avances del proyecto socializados. - Acuerdos de ejecución colaborativa tomados.
Producción y control de calidad en bioinsumos. Departamento de Bioproductos, Centro de Investigación Tibaitata, Agrosavia.	Bogotá, Colombia	- Técnicas de control de calidad de biocontroladores en base a hongos adquiridas. - Métodos de masificación industrial de bioinsumos conocidos.
Visitas empresas productoras de bioinsumos Fungicol (www.fungicol.com) y Biocontrol (www.controlbiologico.com).	Palmira, Colombia	- Sistemas de masificación y comercialización de hongos conocidos. - Contactos empresariales realizados.
Visita sendero agroecológico Los Bolos.	Palmira, Colombia	- Sistema agroecológico con uso de diversos biocontroladores conocido.
Producción sustentable. Centro de Investigación La Selva, Agrosavia.	Medellín, Colombia	- Sistemas productivos sustentables de frutas y hortalizas conocidos. - Contactos con investigadores realizados.
Producción comercial de bioproductos. Empresa Bioquirama.	Medellín, Colombia	- Sistemas de masificación y comercialización de hongos conocidos. - Contactos empresariales realizados.

12. Seminario de avance y cierre de proyecto ejecutado.

Debido a la extensión de plazo de ejecución del proyecto se realizaron dos seminarios internacionales. El primer seminario de avance denominado "Nuevas alternativas de control biológico de plagas y enfermedades en hortalizas para la región del Maule", se realizó el 4 de octubre de 2019 en el auditórium de INACAP Talca. Contó con una participación de 175 personas y se realizaron cuatro ponencia por parte del Dr. Tiago Costa Lima, investigador de Embrapa (Brasil), la Dra. Alba Marina Cotes, investigadora de Agrosavia (Colombia), Dr. Boris Lucero de la Universidad Católica del Maule (Chile) y la Dra. Lorena Barra de INIA (Chile).

El segundo seminario fue de cierre del proyecto, se realizó el 16 de diciembre de 2020, debido a la contingencia sanitaria (Covid-19) se realizó on line mediante la plataforma Zoom. A la actividad asistieron 177 personas de diversos países destacando profesionales de diversas empresas e instituciones (Tabla 12). Se realizaron 3 exposiciones, la primera a cargo del investigador de Embrapa Dr. Wagner (Brasil), la segunda de la Dra. Lorena Barra de INIA (Chile) y la tercera del investigador de INIA Dr. Eduardo Tapia (Chile) (Figura 18 y 19).



Figura 18. Invitación y programa Seminario Internacional de avance y final.



Figura 19. Seminario final realizado on line el 16 de diciembre de 2020.

Tabla 12. Listado de asistentes al Seminario Final del proyecto realizado el 16 de diciembre de 2020

Nombre	Apellido	Género	Correo electrónico	País
Sara	Alvear- DMC	MUJER	sara.alvear@dgac.gob.cl	Chile
Miriam	Teme	MUJER	miteme250379@hotmail.com	México
Karen	Janis Arana Dionisio	MUJER	karanad@unc.edu.pe	Perú
Olaya	Vidal Soto	MUJER	o.vidal01@ufromail.cl	Chile
Daniela	Zambrano	MUJER	danielazambrano20@hotmail.com	Ecuador
Carlos	Iglasias	HOMBRE	carlos@naturex.farm	Panamá
Carlos	Iglesia	HOMBRE	carlos@naturex.farm	Panamá
Francisca	Aguayo	MUJER	francisca.aguayo@biopacific.cl	Chile
Santiago	Puente Segura	HOMBRE	oscar_0361@hotmail.com	Perú
Carolina	Torres	MUJER	ctorresagronoma@gmail.com	Chile
Gustavo	Suarez	HOMBRE	gustavosuarezrojas@gmail.com	Perú
Marcia	Rodríguez	MUJER	marcia.monreal@gmail.com	Chile
Marcia	Espinoza	MUJER	piniespinoza@gmail.com	Chile
Valeria	Fariña R.	MUJER	valeriapfarinar@gmail.com	Chile
David	Ramos	HOMBRE	davramos31@yahoo.es	Panamá
Ricardo	Gómez-Avendaño	HOMBRE	ricardo_gamez@outlook.com	Perú
Deisy	Araujo	MUJER	deisyaraujo@fa.luz.edu.ve	Venezuela
Marcelo	Aranda	HOMBRE	marceloaranda@machali.cl	Chile
Marcelo	Aranda	HOMBRE	marceloaranda@machali.cl	Chile
José	Antonio Barreto Castro	HOMBRE	antoniobarrettt@gmail.com	Perú
Maria	Olga Buchheister	MUJER	mbuchheister@sjfarms.com	Chile

Nombre	Apellido	Género	Correo electrónico	País
José	Salgado N.	HOMBRE	jose.salgado@alu.ucm.cl	Chile
Leonelli	Catergiani	HOMBRE	ginalc@uct.cl	Chile
Ernesto	Cisternas	HOMBRE	ecistern@inia.cl	Chile
Jaime	carlos sanhueza Santos	HOMBRE	jaimesanhuezas@hotmail.com	USA
Ramon	Galdames	HOMBRE	ramon.galdames@gmail.cpm	Chile
Bertha	Gaviria	MUJER	sanidadveg.inv2@uco.edu.co	Colombia
Karina	Punschke	MUJER	kpunschke@mgap.gub.uy	Uruguay
Lorena	Font	MUJER	lorenaines.font@gmail.com	Argentina
Eduardo	Torres	HOMBRE	etorresi@indap.cl	Chile
Lourdes	Peralta	MUJER	lourdesperalta@gmail.com	Chile
Christian	Ananguz	HOMBRE	christiananguz@gmail.com	Chile
Norma	Mujica	MUJER	nmujica@lamolina.edu.pe	Perú
Juan	Antonio Castro Diego	HOMBRE	familia.de.castro100@gmail.com	México
Ninoska	Delgado	MUJER	ninoskadelgado@gmail.com	USA
José	Ríos Inces Cojedes	HOMBRE	riosjose116@gmail.com	Venezuela
José	Rios	HOMBRE	riosjose116@gmail.com	Venezuela
Rodrigo	Valenzuela	HOMBRE	rvalenzuelab@gmail.com	Chile
Carla	Valladares	MUJER	cvalladaressanhueza@gmail.com	Chile
Jessenia	Castro	MUJER	jrcastro@utm.edu.ec	Ecuador
Rosa	M	MUJER	rosamaria@cipnet.com.br	Brasil
Jean	Franco Castro	HOMBRE	jean.castro@inia.cl	Chile
Josefa	Gambaro	MUJER	josefa@agronubleresearch.cl	Chile
Lídice	García	MUJER	susanagarcia-2020@outlook.es	Ecuador
Patricio	Parra H	HOMBRE	patricioparrah77@gmail.com	Chile
María Jesus	Ortiz	MUJER	mariajesusortizcampos123@gmail.com	Chile
Edgar	Morales	HOMBRE	eamoralesa@hotmail.com	Perú
Jimena	De La Hoz	MUJER	jdelahoz@inia.cl	Chile
Salomé	Zaldúa	MUJER	szaldua@gmail.com	Chile
Bertha	Sánchez	MUJER	sanchezg.bm@gmail.com	México
Valeria	Fariña	MUJER	valeripfarinar@gmail.com	Chile
Evelyn	Rojas	MUJER	evelynyrojas@gmail.com	Chile
Esteban	Vega	HOMBRE	evega@indap.cl	Chile
Sofía	Flamarique	MUJER	soflamarique@gmail.com	Argentina
Maria	Ignacia Reyes	MUJER	maria-reyes-f@ug.uchile.cl	Chile
Hugo	Rodríguez	HOMBRE	hrodrigu@inia.cl	Chile
Isidora	Silva	MUJER	ibsilva@ucdavis.edu	Chile
Constanza	Seijas	MUJER	seijasconstanza@gmail.com	Argentina
Franklin	Alejandro Julián Gómez	HOMBRE	frankjugo@gmail.com	Perú
Andrea	Cruz	MUJER	andreacruzmendoza773@gmail.com	
Karen	Parra	MUJER	karen.parra@inia.cl	Chile
Victoria	Palma	MUJER	victoriapalm4@gmail.com	Chile
Alvaro	Gonzalez	MUJER	jet-lis19@hotmail.com	México
Hanna	Cáceres	MUJER	hannacaceres@gmail.com	Perú
Andrés	Díaz	HOMBRE	adiaz@agrosavia.co	Colombia
Oriana	Acevedo	MUJER	oacevedop@gmail.com	Chile
Pablo	Lobos	HOMBRE	parlobos@gmail.com	Chile
Macarena	Herrera	MUJER	macarena.herrera@sag.gob.cl	Chile
Rodrigo	Zuñiga	HOMBRE	rzuniga@indap.cl	Chile
Lucrecia	Augier	MUJER	luaugier@yahoo.com.ar	Argentina
Esli	Lobaina	MUJER	lobainalobaina@gmail.com	Chile
Yocelyn	Ocares	MUJER	yocares@inia.cl	Chile
Romulo	Oses Pedraza	HOMBRE	romulo.oses@uda.cl	Chile
Carlos	Minaya	HOMBRE	cminaya@pampabaja.com	Perú
Carolina	Romero Nuñez	MUJER	cpazromeron@gmail.com	Chile
Barbara	Silva	MUJER	barbara.silvarojas@gmail.com	Chile
Esther	Martinez	MUJER	esthermartz@yahoo.com	México
Martha	Yolanda Quezada Viay	MUJER	yolaqviay@gmail.com	México

Nombre	Apellido	Género	Correo electrónico	País
Pricila	Moraga	MUJER	priscilamoraga@gmail.com	Chile
Bioinsumos	El Leuse	MUJER	Bioinsumoselleuse@gmail.com	Colombia
Isabel	Barrera	MUJER	issabarrera1994@gmail.com	Chile
Danitza	Muñoz	MUJER	danitza.m.h@hotmail.com	Chile
KMSPerú	Mendoza	HOMBRE	kmendoza@lamolina.edu.pe	Perú
German	Flores	HOMBRE	german_biotec@hotmail.com	México
Álvaro	Silva	HOMBRE	a.silvacostello@gmail.com	Chile
Hugo	Bahamonde	HOMBRE	hugo.bahamonde@conaf.cl	Chile
Ruben	Casas	HOMBRE	r_casas@undc.edu.pe	Perú
Dennis	Navea	MUJER	naveadennis@gmail.com	Chile
Ivonne	Perez	MUJER	perezvillaseca.93@gmail.com	Chile
Olga	Hernández	MUJER	olga.hernandez@sag.gob.cl	Chile
Jaime	Julian	HOMBRE	jjullianp@gmail.com	Chile
Monika	Maltes	MUJER	monikamaltes@gmail.com	Chile
Elva	Mery Huaylla Gutierrez	MUJER	elhuayllagutierrez@gmail.com	Bolivia
Claudio	Miranda	HOMBRE	agro.cla87@gmail.com	Chile
Milissen	Cantin	MUJER	milissencantin@gmail.com	Chile
Francisca	Vera Soto	MUJER	fraan.verasoto@gmail.com	Chile
Josseling	Aguilar Maza	MUJER	jossyaguilarm@gmail.com	Perú
Partido	Ores	HOMBRE	partido.trabajadores.ecologia@gmail.com	Chile
Nancy	Leal	MUJER	nlealreyes@gmail.com	Chile
Ruth	y Mirza Cifuentes	MUJER	ruthy.cz17@gmail.com	Chile
Nancy	Moya	MUJER	nancycarolinamoyamallea38@gmail.com	Chile
Alcides	Cotrina Morales	HOMBRE	jesusalcides15@gmail.com	Perú
Epifanio	Castrol	HOMBRE	epifaniocastrodelangel@hotmail.com	México
Carol	Krausz	MUJER	ckrausz@userena.cl	Chile
Nuvia	Orduno	MUJER	norduno@uach.mx	México
Felicia	MK	MUJER	famk22@hotmail.com	México
Víctor	Lillo	HOMBRE	vlillo2@alumnosuls.cl	Chile
Ana	Bustos	HOMBRE	gestionlican@gmail.com	Chile
Humphrey	Crawford	HOMBRE	hcrawford@indap.cl	Chile
Viviana	Muñoz	MUJER	BARTO0011@GMAIL.COM	Chile
Marcela	Berrios	MUJER	MBERRIOS@INIA.CL	Chile
Francisca	Hernández	MUJER	hernandezcoby.fn13@gmail.com	Chile
Cecilia	Santelices	MUJER	csanteli@inia.cl	Chile
Bruno	Contreras	HOMBRE	bruno.contreras@ug.uchile.cl	Chile
Javiera	Vergara	MUJER	jvergara@indap.cl	Chile
Ruth	López	MUJER	rnlopezm67@gmail.com	Perú
Henry	Murillo	HOMBRE	henry.murillo@biobestgroup.com	Canadá
Ruth	Cifuentes	MUJER	rcifuentes@fdf.cl	Chile
Sandra	Aragón	MUJER	saragon@agrosavia.co	Colombia
José	Antonio	HOMBRE	latamfresh20@gmail.com	Chile
Jeny	Michua	MUJER	michua0206@gmail.com	México
Candelario	Serrano	HOMBRE	gomezerrano@gmail.com	México
Martha	Quezada	MUJER	viayy@yahoo.com	México
Lorena	Díaz A.	MUJER	ldiaz@inia.cl	Chile
Rafael	Mejias	HOMBRE	rafaelermh@gmail.com	Venezuela
Jose	Causadias	HOMBRE	jlcausadias04@gmail.com	Panamá
Danae	Riquelme	MUJER	danae.riquelme@inia.cl	Chile
Dominga	Yañez	MUJER	cgmalcayaga@gmail.com	USA
Max	Peragallo	HOMBRE	max.peragallo@sag.gob.cl	USA
Verónica	Cepeda Miranda	MUJER	vero.cepeda@gmail.com	Ecuador
José	Morales	HOMBRE	jose.morales@gmail.com	Chile
Carolina	Muñoz Osses	MUJER	caritoivette@gmail.com	Chile
María	Fernández	MUJER	mfernandez@agrojacaranda.cl	Chile
Lilian	Cartes	MUJER	liliancartesr@gmail.com	Chile
Lilian	Cartes	MUJER	liliancartesr@gmail.com	Chile

Nombre	Apellido	Género	Correo electrónico	País
Roxana	Gutiérrez	MUJER	roxana.gutierrez.lopez@gmail.com	Chile
Berta	González	MUJER	berosagon310491@sgmail.com	El Salvador
Magda	Gómez	MUJER	mrgomez@agrosavia.co	Colombia
Patricia	Fuentealba	MUJER	pviveross@gmail.com	Chile
Jorge	Betancourt	HOMBRE	jorgebetancourt193@gmail.com	Bolivia
Eduardo	Manriquez	HOMBRE	edumanriquezh@gmail.com	Chile
Karen	Ballestas	MUJER	kballesta@agrosavia.co	Colombia
Bizet	Turovsky	MUJER	bizeturovsky@gmail.com	Argentina
Kelis	Batista Gonzalez	MUJER	kepabago@hotmail.vom	Colombia
Genaro	Pizango Vargas	HOMBRE	genaro_pizango@hotmail.com	USA
Sara	Pérez	MUJER	saraperezvenegas@gmail.com	Chile
Eugenio	Smith	HOMBRE	smitheugenio@gmail.com	Chile
Jessica	Carodes	MUJER	jecarodes16@gmail.com	Colombia
Verónica	Felipe	MUJER	verifelipe@hotmail.com	Argentina
Karina	Coque	MUJER	karinapaolacoqueg@gmail.com	Ecuador
Arnoldo	Ficahuen	HOMBRE	arnoldoficahen@gmail.com	Australia
Viviana	Cisterna	MUJER	viviana.cisterna@inia.cl	Chile
Alvaro	Castro	HOMBRE	alvcastro@ucdavis.edu	Chile
Alexander	Acosta	MUJER	alexsophosvzla@gmail.com	Venezuela
Carlos	Torres	HOMBRE	ctorres@bionativa.cl	Perú
Jairo	Caza Barcia	HOMBRE	jairo.caza@yahoo.com	Ecuador
Yaninne	Torres	MUJER	yaninne.torres@gmail.com	Chile
Aura	García	MUJER	agarcias@inia.gob.pe	Perú
Katherine	Seitz	MUJER	kseitz@munilautaro.cl	Chile
Ashley	Lou	MUJER	ashley_lou_15@hotmail.com	Panamá
Paola	Bejar Rancagua	MUJER	ccacachapoal@gmail.com	USA
Wladimir	Avilés	HOMBRE	waviless@gmail.com	Chile
Florencia	Vianna	MUJER	mariaflorenciavianna@gmail.com	Argentina
Cristobal		HOMBRE	cristobal1234@gmail.com	Chile
José Luis	García	HOMBRE	zatu.ur@gmail.com	México
Edgar	Cruz	HOMBRE	asesagro@gmail.com	Guatemala
Diana	Gil	MUJER	dpgil@unicesar.edu.co	USA
Carlos	Alfaro Contreras	HOMBRE	agroalfaro@gmail.com	Chile
Juan Carlos	Álvarez Franco	HOMBRE	ingefranco@gmail.com	USA
Carlos	Quiroz	HOMBRE	cqe6061@gmail.com	Chile
Patricia	Martinez	MUJER	pmartinezvaldes06@gmail.com	Chile
Jorge	Olivares Gálvez	HOMBRE	jorge.o.galvez@gmail.com	Chile
Daniel	Salinas	HOMBRE	asoprocamor@gmail.com	Ecuador
Catalina	Valenzuela Coloma	MUJER	cvalenzuelac@it.ucsc.cl	Chile
Cecilia	Mónaco	MUJER	cecilia.monaco7@gmail.com	Argentina
Catalina	Andrea Rodríguez Rojas	MUJER	crodriguezr2@alumnosuls.cl	Chile
Moira	Maril Navarro	MUJER	mmariln@it.ucsc.cl	Chile