

GOBIERNO DE CHILE
MINISTERIO DE AGRICULTURA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGROPECUARIAS



CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACION CARILLANCA
TEMÚCO - IX REGION DE LA ARAUCANIA

FONDO DE MEJORAMIENTO DEL
PATRIMONIO SANITARIO

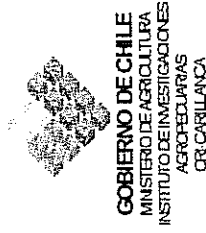
PROYECTO 58-14-100

Desarrollo de estrategias con vistas a la
erradicación del carbón de la papa
(*Angiosorus solani*) desde áreas
cuarentenadas y su control integrado en
áreas endémicas

INFORME FINAL

MAYO, 2005

TEMÚCO-CHILE



GOBIERNO DE CHILE
MINISTERIO DE AGRICULTURA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGROPECUARIAS
Y CARIANTINA



GOBIERNO DE CHILE
MINISTERIO DE AGRICULTURA
SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO

FONDO DE MEJORAMIENTO DEL PATRIMONIO SANITARIO

INFORME FINAL

PROYECTO:

Desarrollo de estrategias con vistas a la erradicación del carbón de la papa (*Angiosorus solani*) desde áreas cuarentenadas, y su control integrado en áreas endémicas.

Código: 58-14-100

EJECUTANTE:

Instituto de Investigaciones Agropecuarias

PERIODO DE EJECUCIÓN:

Enero 2001 – Diciembre 2004

PERSONAL PARTICIPANTE DEL PROYECTO

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN Y DE APOYO TÉCNICO Y ADMINISTRATIVO

RESPONSABILIDAD	NOMBRE	PROFESION	INSTITUCION
Director Proyecto	Orlando Andrade V.	Ing. Agrónomo, Ph. D.	INIA-Carillanca, Temuco
Director Alerno	Gastón Muñoz V.	Bioquímico, Dr.	INIA-Carillanca, Temuco
Investigador	Fernando Riveros B.	Ing. Agrónomo, M. Sc.	INIA-Intihuasi, La Serena
Investigador	Paulina Sepúlveda R.	Ing. Agrónomo, M. Sc.	INIA-La Platina, Santiago
Investigador	Horacio López T.	Ing. Agr., M. Sc.	INIA-La Platina, Santiago
Investigador	Rafael Galdames G.	Ing. Agrónomo, Dr.	INIA-Carillanca, Temuco
Investigador	Juan Inostroza F.	Ing. Agrónomo	INIA-Carillanca, Temuco
Investigador	María Inés Becker C.	Biólogo, Dr.	BIOSONDA S.A., Santiago
Investigador	Alfredo de Ioannes B.	Bioquímico	BIOSONDA S.A., Santiago
Investigador	Pablo de Ioannes B.	Bioquímico, M. Sc.	BIOSONDA S.A., Santiago
Apoio Técnico Control Químico	Benjamin Valiente V.	Ing. Agrónomo	Bayer CropScience S.A., Santiago
Apoio Administrativo	Alejandra Godoy I.	Ing. Civil Industrial	INIA-Carillanca, Temuco
Apoio Técnico	Eduardo Contreras F.	Ing. Ejec. Agrícola	INIA-Carillanca, Temuco
Apoio Técnico	Paola Durán C.	Ing. Ejec. Agrícola	INIA-Carillanca, Temuco
Apoio Técnico	Paola Andrade P.	Ing. Ejec. Agrícola	INIA-Carillanca, Temuco
Apoio Técnico	Boris Espinoza G.	Técnico Agrícola	INIA-Intihuasi, La Serena
Apoio Técnico	Manuel Gutiérrez M.	Técnico Agrícola	INIA-La Platina, Santiago
Apoio Técnico	Patricia Rebufel A.	Técnico en Microbiología	INIA-La Platina, Santiago
Apoio Contable	Claudio Paredes U.	Contador Auditor	INIA-Carillanca, Temuco
Apoio Contable	Mirtha Opazo S.	Contador Auditor	INIA-La Platina, Santiago
Apoio Secretaria	Maria Diaz R.	Secretaria	INIA-Carillanca, Temuco

EQUIPO DE PROSPECCIONES IX Y VIII REGIONES

RESPONSABILIDAD	NOMBRE	PROFESIÓN O ACTIVIDAD
Supervisor prospecciones IX Región	Juan Carlos Carrillo F.	Ing. Agrónomo
Supervisor prospecciones IX Región	Edgardo Flores A.	Adm. Predios Agric. Nivel Superior
Supervisor prospecciones IX Región	Maria Elena Sandoval H.	Ing. Agrónomo
Supervisor y evaluador, IX Región	Oswaldo Ercoli T.	Ing. Ejec. Agrícola
Evaluador prospecciones IX Región	Cecilia Albarrán N.	Técnico Agrícola
Evaluador prospecciones IX Región	Lorena Fernández A.	Técnico Agrícola
Evaluador prospecciones IX Región	Olga Luarte V.	Técnico Agrícola Nivel Superior
Evaluador prospecciones IX Región	Evelyn Riquelme F.	Lic. en Agronomía
Evaluador prospecciones IX Región	Lorena Sotomayor T.	Técnico Agrícola
Evaluador prospecciones IX Región	Oswaldo Arias	Técnico Agrícola
Evaluador prospecciones IX Región	Freddy Castro P.	Perito Agrícola
Evaluador prospecciones IX Región	Michell Claret A.	Egresado Agronomía, U. Católica Temuco
Evaluador prospecciones IX Región	Waldo Cuminato G.	Técnico Agrícola
Evaluador prospecciones IX Región	Rodrigo Honorato G.	Ing. Ejec. Agrícola
Evaluador prospecciones IX Región	Wilson Lagos T.	Técnico Agrícola
Evaluador prospecciones IX Región	Marcelo Maldonado F.	Técnico Agrícola
Evaluador prospecciones IX Región	Juan Carlos Mora Ch.	Egresado Agronomía, U. Católica Temuco
Evaluador prospecciones IX Región	Claudio Vega S.	Estudiante Agronomía, U. Católica Temuco
Evaluador prospecciones VIII Región	Jorge Cameron M.	Ing. Ejec. Agrícola
Evaluador prospecciones VIII Región	Enrique Tejo T.	Téc. Agrícola
Evaluador prospecciones VIII Región	Oswaldo Campos E	Téc. Agrícola
Evaluador prospecciones VIII Región	Henry Torres C.	Téc. Agrícola



INFORME FINAL

IDENTIFICACIÓN DEL PROYECTO : Fondo de Mejoramiento del Patrimonio Sanitario

NOMBRE DEL ADJUDICADO : Instituto de Investigaciones Agropecuarias

NOMBRE DEL PROYECTO : Desarrollo de estrategias con vistas a la erradicación del carbón de la papa (*Angiosorus solani*) desde áreas cuarentenadas, y su control integrado en áreas endémicas.

CÓDIGO : 58-14-100

Nº DE INFORME : 24

TRIMESTRE, SEMESTRE O ANUAL : Final

FECHA DE PRESENTACIÓN : 20 de Mayo de 2005

NOMBRE COORDINADOR DEL PROYECTO : Orlando Andrade Vilaró, Ing. Agr., Ph. D.

RESUMEN EJECUTIVO

Durante los cuatro años de ejecución del proyecto, éste se desarrolló de acuerdo a la programado originalmente en el mismo, con la consecución de prácticamente todos los compromisos, y con la incorporación además de numerosas actividades no presupuestadas inicialmente, todo lo cual generó la mayor cantidad de información existente sobre la enfermedad a la fecha en el mundo, productos únicos e inéditos de aplicación práctica para la identificación y estudios básicos del agente causal como son la metodología de detección por PCR, la metodología de detección por inmunología a través de anticuerpos monoclonales, el cultivo *in vitro* por primera vez de *Thecaphora solani*, la inducción artificial de agallas en plantas de papa, la detección de germoplasma resistente a la enfermedad, nuevos hospederos del patógeno, antecedentes preliminares sobre la población del organismo causal, pérdidas cuantificadas en las norte y sur de país, cuantificación de la transmisión y pérdidas causadas por el empleo de tubérculos infectados, la detección de fumigantes de suelo para su empleo en eventuales planes de erradicación, la detección de desinfectantes de semilla capaces de reducir hasta en un 90% la producción de inóculo, múltiples actividades de difusión a través de charlas técnicas días de campo

presentaciones en ferias, congresos científicos nacionales e internacionales, la publicación de un artículo científico en la más destacada revista internacional del ámbito fitopatológico, y la edición de un libro que reúne toda la información disponible a nivel mundial sobre la enfermedad, la mayor parte de la cual fue generada por el proyecto.

Respecto de las actividades desarrolladas durante los cuatro años de ejecución del proyecto, éstas se resumen en :

- Aspectos administrativos del proyecto:

- a) La compilación de la información, elaboración y entrega de 23 Informes Técnicos de Avance Trimestrales (11), Semestrales (8) y Anuales (4), y 8 Informes Administrativo-Contables.
- b) La realización de 10 reuniones de trabajo con los equipos de investigación del proyecto y empresas asociadas en La Serena, Santiago y Temuco, para presentar y analizar compromisos, actividades y resultados. En prácticamente todas estas reuniones participaron la Encargada Regional del Fondo SAG, IX Región, Supervisora Técnica del Proyecto, y profesionales del SAG de las distintas regiones.
- c) El arriendo de un sitio de 0,5 ha para los ensayos ejecutados en la IV Región, de propiedad del agricultor Sr. Herman Galleguillos C., ubicado en el sector Coquimbo, provincia de Elqui, a 12 km aproximadamente al noroeste de La Serena y la contratación de personal para la ejecución y mantención de los trabajos en esta misma IV Región.
- d) La contratación de una ayudante de laboratorio para los trabajos relacionados con los objetivos específicos 1, 2 y 3 del proyecto y la adquisición de los equipos computacionales, de oficina, de laboratorio y de campo definidos en el proyecto.
- e) La visita de los Dres. Ueli Merz, del Institute of Plant Sciences (ETHZ) de Zurich, Suiza, durante el año 2001, y Dominik Begerow de la Universidad Eberhard-Karl de Tübingen, Alemania, durante el año 2002, invitados por el proyecto para apoyar los trabajos de desarrollo de metodologías específicas de detección del patógeno, los estudios taxonómicos basados en biología molecular que se están desarrollando en el proyecto, y el empleo de los diferentes paquetes computacionales para analizar las secuencias de ADN.
- f) La realización de un Taller teórico-práctico de inmunología y empleo de anticuerpos en la detección del carbón de la papa, organizado por la empresa asociada BIOSONDA realizado en Santiago en enero de 2004. Este taller contó con la participación de profesionales del SAG de la región Metropolitana, VIII, IX y X regiones, y del equipo de investigación de INIA.
- g) La realización de dos reuniones de análisis de patentamiento de la metodología de identificación por PCR, efectuadas en las oficinas del SAG en Santiago durante el año 2004. Como resultado de estas reuniones se contrató a un experto en patentes y propiedad intelectual, se le envió la información solicitada, para la elaboración de la primera parte del estudio de patentabilidad. Se recibió el informe el cual concluye que tales productos pueden efectivamente ser patentados actividad que se encuentra en proceso.

- Actividades y logros relacionadas con el Objetivo Específico 1:

- a) Se logró por primera vez el cultivo *in vitro* de *Thecaphora solani*, a partir de la germinación de teliosporas, con el desarrollo de micelio y masa micelial del hongo en medios sólidos artificiales y en medios líquidos, corroborándose la identificación genética del patógeno por PCR. Este logro representó uno de los aspectos significativos del proyecto, tanto por tratarse de la primera referencia sobre el cultivo artificial del hongo en el mundo, como para la consecución de parte importante de los objetivos del proyecto como era el desarrollo de los métodos de identificación a través de PCR e inmunología. Se corroboró la identidad genética de *T. solani* obtenida en laboratorio, a través de programas computacionales empleados por el Dr. Dominik Begerow, investigador alemán invitado por el proyecto para colaborar en aspectos moleculares y taxonómicos. Posteriormente, se tuvo éxito en la inducción artificial de agallas en plántulas de papa inoculadas con *A. solani* desarrollado *in vitro*, lográndose por primera vez la reproducción de la enfermedad. Otro aspecto significativo relacionado con este objetivo específico fue la optimización del procedimiento de obtención de teliosporas de *A. solani* a partir de agallas, lográndose la germinación de las teliosporas colectadas y conservadas. Finalmente, se obtuvieron las primeras microfotografías de teliosporas y masa micelial de *A. solani* bajo microscopía electrónica de barrido y de transmisión.
- b) Se logró en una primera etapa la amplificación, purificación, clonación y secuenciación completa de la región ribosomal ITS1-5.8S-ITS2 de *T. solani*, la cual resultó ser bastante similar a otros hongos Ustilaginales, orden taxonómico al cual pertenece el agente causal del carbón de la papa. Esto permitió que la secuencia pudiera ser utilizada con fines de identificación y diagnóstico. Luego se diseñaron varios sets de primers para amplificar específicamente la región ribosomal de *T. solani*. Paralelamente se secuenció y analizó la región 5' LSU de *T. solani* y se evaluó su empleo potencial con fines taxonómicos y de identificación molecular, obteniéndose una alta homología con otras especies de *Thecaphora*, confirmando la identidad genética de los aislados de *T. solani* evaluados generando una información relevante para fines de taxonómicos. Al inicio del segundo año se disponía de un ensayo de amplificación por PCR constituido por 2 pares de primers, denominados TS-P3 y TS-P6, los cuales identifican específicamente la secuencia ribosomal ITS1-5.8S-ITS2 de *T. solani*. Luego se evaluaron metodologías rápidas para extraer DNA de teliosporas, así como de purificación rápida de las mismas mediante centrifugación. Estas actividades se tradujeron finalmente en la exitosa concreción del desarrollo de la metodología de identificación específica de *T. solani* a través de PCR, con las pruebas de especificidad del método, las cuales fueron altamente efectivas en la identificación exclusiva del patógeno. Hacia fines del segundo año se logró incrementar la sensibilidad del método a través de una reacción de PCR anidada, permitiendo detectar hasta 0,006% de teliosporas en suelo, representando un logro de gran significado para el proyecto, tanto en el aspecto científico, en el avance hacia la obtención de una herramienta de gran aplicación práctica, como en el cumplimiento de uno de los compromisos importantes del proyecto. Durante los años 2003 y 2004 los trabajos estuvieron enfocados a la optimización de la metodología de PCR con pruebas en suelos.

sanas, plantas aparentemente sanas y enfermas, pruebas con suelo infestado y sano, y con plantas y suelo provenientes de los nuevos focos detectados durante el desarrollo del proyecto en el área de riesgo primario de la IX Región. Se logró un salto importante en la extracción de ADN del hongo desde muestras de suelo, a través de un kit comercial importado, resolviendo además problemas de reproducibilidad del método de detección de *T. solani* por PCR y la cuantificación de la sensibilidad del método, concluyéndose finalmente con la disponibilidad de un método altamente sensible y específico para la detección del patógeno tanto en suelo, como en planta y tubérculos. La metodología fue validada durante el año 2004 con numerosas pruebas realizadas mayoritariamente con suelo natural y artificialmente infestado y con suelo provenientes de los nuevos focos detectados durante los últimos años en las actividades de prospección del área de riesgo primario de la IX Región.

- c) Otras actividades y logros obtenidos hacia fines de la ejecución del proyecto, relacionados con este mismo objetivo específico, fueron la conclusión de los estudios filogenéticos de *T. solani*, los cuales corroboraron la cercanía taxonómica de este patógeno con otras especies de *Thecaphora* y validaron su identificación original como *Thecaphora solani*, y los trabajos relacionados con el estudio de diferentes aislamientos de *T. solani* obtenidos desde distintas regiones del país, los cuales permitieron obtener las secuencias completas de las regiones ribosomales nucleares ITS1-5.8S-ITS2 de los 8 aislamientos disponibles.
- d) En relación al desarrollo de una metodología de detección de *T. solani* a través de inmunología, actividad a cargo de la empresa asociada BIOSONDA S.A., los primeros trabajos consistieron en la inducción de reacciones inmunológicas en ratas inyectadas con teliosporas purificadas, obteniendo anticuerpos policlonales por medio de la inmunización de conejos con teliosporas de *T. solani*, anticuerpos monoclonales por medio de la inmunización de ratones, 52 hibridomas que reaccionaron contra proteínas de teliosporas y 8 hibridomas que reaccionaron con componentes superficiales de teliosporas. Luego se efectuaron las primeras pruebas con los anticuerpos policlonales de conejo, los que presentaron reacción cruzada con antígenos presentes en otros hongos aislados desde suelos de la zona de Carahue y otros provistos desde diferentes laboratorios de INIA. Paralelamente, se obtuvieron y analizaron proteínas asociadas a la superficie de las teliosporas de *T. solani*, las cuales son potencialmente útiles con fines de inmunodetección, observándose que la mayoría de estas proteínas son solubles en agua, y que una fracción de estas proteínas tiene características similares a hidrofobinas de tipo I y II. Hacia mediados del año 2002, la empresa BIOSONDA S.A. logró la obtención de 14 anticuerpos de alta especificidad contra *T. solani*, los cuales no tuvieron reacción cruzada con antígenos presentes en organismos causantes de carbones como *U. tritici* y *T. caries*, especies que se comportaron como las más antígenicamente relacionadas con los monoclonales obtenidos previamente. Producto de los trabajos efectuados con tales anticuerpos, se obtuvieron finalmente anticuerpos monoclonales los que, a través del re-clonamiento de los hibridomas secretores de anticuerpos monoclonales, junto con la evaluación de su especificidad y crecimiento, resultó en la identificación de dos líneas, denominados 3A7 y 3B4,

ambos perteneciente a la clase IgM. Los trabajos desarrollados hacia fines del año 2002 estuvieron enfocados a la evaluación de procedimientos para la extracción y solubilización del antígeno desde las teliosporas de *T. solani*, lo cual permitiría su posterior detección con los anticuerpos en un ensayo tipo ELISA. Además, se logró el desarrollo de un ensayo de inmunofluorecencia indirecta para *T. solani*, utilizando los anticuerpos monoclonales de alta especificidad, el desarrollo de un test ELISA para *T. solani*, utilizando anticuerpos policlonales contra el hongo para capturar el antígeno, y anticuerpos monoclonales altamente específicos para revelar el antígeno, obteniéndose resultados promisorios en la evaluación realizada con un panel de muestras de suelo contaminadas con el patógeno y finalmente, la realización de pruebas preliminares para aplicar los anticuerpos monoclonales en una prueba rápida, utilizando esferas magnéticas recubiertas con suero de cabra anti-inmunoglobulina de ratón, pruebas que resultaron promisorias con uno de los anticuerpos, restando determinar la sensibilidad del ensayo y los tiempos mínimos. Todas estas actividades se tradujeron hacia fines del año 2002 en la exitosa obtención de una metodología de identificación de *T. solani* basada en inmunología, con anticuerpos poli y monoclonales de alta especificidad, logrado por la empresa asociada BIOSONDA S.A., cumpliendo así con uno de los objetivos importantes de este proyecto. Hacia futuro se deberá afinar el método en cuanto a sensibilidad y la toma de muestras de suelo para adecuarlo a un sistema práctico y efectivo de identificación del patógeno en suelo. Se dio término al exitoso desarrollo de este método de detección inmunológico, con la entrega por parte de BIOSONDA S.A. a INIA-Carillanca en el mes de abril de 2004, de los materiales generados como compromisos del proyecto consistentes en suero policlonal de conejo anti-*T. solani*, hibridomas anti-*T. solani* 1, 2 y 3, y un manual de uso del material.

e) Otras actividades y logros relacionadas con este objetivo específico, referidas a las prospecciones del área de riesgo primario de la IX Región, consistieron en la contratación y preparación técnica de equipos conformados por Técnicos Agrícolas. Ing. de Ejec. Agrícola y estudiantes avanzados de la carrera de Agronomía, para la identificación de agallas y tubérculos afectados por *T. solani*. Las contrataciones se basaron esencialmente en la experiencia en este tipo de actividades, y la capacitación se efectuó en sala, con adecuado material audiovisual, y en terreno practicando la metodología de prospección y analizando plantas y tubérculos infectados del sitio de ensayos de Carahue. Lo mismo se realizó para el equipo de prospección que trabajó en la zona de Cañete, VIII Región. Producto de estas actividades se prospeccionaron en los cuatro años de ejecución del proyecto un total de 2.011,7 ha en el área de riesgo primario de la IX Región, en 1.379 predios o potreros, detectándose 23 nuevos focos de carbón de la papa que involucran aproximadamente 34 ha. El SAG había detectado hasta el año 2000 un total de 37 focos de infección en esta misma área, con una superficie comprometida de 152,6 ha. Respecto de la zona de Cañete, VIII Región, durante estos cuatro años se prospeccionó un total de 489,9 ha, en 166 predio o potreros, sin detectarse focos de infección en esa zona. Todos los predios prospectados durante estos cuatro años en el área de riesgo primario de la IX Región, fueron georeferenciados lo cual permitió confeccionar los mapas con los predios positivos y negativos.

- f) Otro logro de un estudio no contemplado originalmente en el proyecto fue la colecta de 26 aislamientos de teliosporas de *T. solani*, producto de prospecciones realizadas en diferentes localidades de las regiones IV, VI, VIII y IX, para analizar las poblaciones del patógeno basadas en RAPDs. De estos aislamientos, solo 7 generaron masa micelial *in vitro* razón por la cual se realizó el análisis sólo con esos 7 aislamientos. La conclusión de estos estudios de la estructura poblacional de *T. solani* fue que existía una alta homología en 6 de los 7 aislados, con la sola excepción del aislado de Pan de Azúcar, La Serena.
- g) Otra actividad no contemplada originalmente en el proyecto fue el desarrollo de tres pruebas de inoculación artificial de plantas de papa en distintos estados de desarrollo, con masa micelial y micelio de *T. solani* obtenido en laboratorio, con el propósito de poder establecer un sistema controlado de inducción artificial de la enfermedad. Sin embargo, estas actividades no resultaron exitosas.
- h) Finalmente, se debe destacar la obtención de crecimiento *in vitro* de micelio de *T. solani* proveniente de tomatillo (*Solanum firscatum* L.), un importante logro que permitirá corroborar molecularmente la identidad genética del aislamiento obtenido de este hospedero. Esta metodología podría terminar con la dependencia en las teliosporas y el problema de germinación de éstas para la obtención de micelio, a la vez que permitirá aislar y corroborar la identidad genética de aislamientos provenientes de otros hospederos como tomate y chamico.

- Actividades y logros relacionadas con el Objetivo Específico 2:

- a) Previo al establecimiento de los ensayos de validación de la efectividad de fumigantes de suelo en el control de la enfermedad en el sitio de ensayos de la localidad de Carahue, se efectuaron siembras de papas consecutivas, determinando la distribución y homogeneidad de la infección a través de la evaluación individual de plantas y la presencia de agallas y/o tumores en tubérculos. Se decidió adelantar información estableciendo un ensayo con dos fumigantes de suelo, dazomet (Basamid G) y Metam sodio, obteniendo un 100% de reducción de la enfermedad en ese suelo. Posteriormente, en la evaluación de ambos fumigantes de suelo en aplicaciones de tipo semi comercial, se corroboró la buena efectividad del esterilizante de suelo Basamid G, y la baja efectividad de metam sodio, en el control de la enfermedad. El primero registró solamente un 1,4% de plantas con agallas, contra un 9,2% de Metam sodio. En cuanto a tubérculos visiblemente infectados, Basamid G obtuvo un 1,4% contra un 11,2% de Metam sodio. Del análisis de la distribución de las plantas enfermas, se apreció que el tratamiento con Metam Sodio obtuvo plantas enfermas homogéneamente distribuidas en toda la parcela, mientras que el tratamiento con Basamid G sólo las obtuvo en forma localizada, en un sector de la parcela, sugiriendo en el caso de Basamid G una probable contaminación, problemas de dosificación, sellado del suelo u otro, más que una baja efectividad del tratamiento. Finalmente, se efectuó una evaluación de residualidad del tratamiento con Basamid G en un segundo año consecutivo con papa, observándose

un 1,36% de plantas enfermas, en un sector altamente infestado. Estos resultados señalan la existencia de a lo menos un fumigante de suelo efectivo para ser empleado en un eventual plan de erradicación de la enfermedad, desde el área de riesgo primario de la IX Región. Se enfatiza este último aspecto, puesto que la efectividad de los tratamientos con fumigantes de suelo son altamente dependientes de las condiciones físico-químicas del suelo, por lo cual deben ser evaluados bajo las condiciones de suelo y clima en que se aplicarán.

b) Relacionado igualmente con este objetivo específico, se debe destacar los resultados obtenidos en un evaluación de invernadero y dos ensayos de campo con desinfectantes de semilla, para evaluar su efectividad en la disminución del daño causado por el carbón de la papa. Estos indicaron que los productos flutriafol (Vincit Flo), fenbuconazole (Indar Flo) y benomyl (Benlate) lograron reducir en forma estadísticamente significativa tanto el número como el peso de agallas, con cifras de entre un 77 y 91% el primer año, y entre un 66 y 76% el segundo año. El primero de ellos, flutriafol, presentó en ambos ensayos de campo la mejor tendencia hacia una disminución de los indicadores de infección, logrando además en el primer año aumentar significativamente la productividad de las plantas. Si bien ninguno de estos tratamientos se tradujo en un consistente aumento de la productividad de las plantas, la paulatina disminución del potencial de inóculo de los suelos que se debiera obtener en el tiempo producto del tratamiento a la semilla, se debería traducir en un mejoramiento de la productividad y por tanto de las expectativas del cultivo de la papa en esas áreas. La evaluación de esto desinfectantes de semilla en la zona norte arrojaron resultados bastante diferentes, sin observarse diferencias significativas en la disminución de los indicadores de infección como tampoco en el aumento de la productividad de las plantas.

- Actividades y logros relacionadas con el Objetivo Específico 3:

a) Se logró cuantificar la expresión de la enfermedad sobre la productividad de las plantas en la zona de Carahue. En dos ensayos independientes realizados en dos temporadas agrícolas, se determinó pérdidas de productividad causado por suelo infestado que fluctuaron entre un 31 y 34% en el rendimiento total, y 50,9 a 52,5% en el rendimiento de la categoría consumo, resultados que fueron altamente consistentes en ambas temporadas. Estos antecedentes, los primeros que se obtienen debidamente cuantificados en el país, demuestran el potencial destructivo de la enfermedad en la zona sur y aportan una información de gran relevancia para la toma de decisiones respecto de la erradicación de la misma, justificación y magnitud de las inversiones para su control, manejo a futuro, entre muchas otras.

b) Se logró obtener otros antecedentes de gran relevancia en relación a la transmisión de la enfermedad vía tubérculos infectados y el efecto de éstos sobre la productividad de las plantas. En dos temporadas de ensayo se determinó que el porcentaje de transmisión de la enfermedad por tubérculos infectados, posible de verificar visualmente, varió entre un 30 y 8,5%, en el primer y segundo año, respectivamente. Sin embargo, producto de la determinación y corroboración vía

PCR que existen plantas asintomáticas que no expresan la infección en el primer año, pero sí en una segunda generación de plantas, se pudo constatar que la transmisión de la enfermedad vía tubérculos enfermos puede llegar a un 44%. Por otra parte, se verificó que el empleo de tubérculos infectados como semilla se traduce en una disminución de la productividad de las plantas que puede variar entre un 34 y 80% en la categoría consumo. Uno de los resultados significativos obtenidos en estos estudios, realizados en parte en la forma de tesis de pregrado, fue la verificación de la transmisión de la enfermedad a través de tubérculos asintomáticos, y también a través de plantas asintomáticas que producen tubérculos infectados, todo lo cual refuerza la necesidad de contar con herramientas sensibles y efectivas en identificar al patógeno en los diferentes sustratos en los que se puede encontrar.

c) Un estudio no contemplado originalmente en el proyecto, relacionado con este objetivo específico y que arrojó igualmente resultados significativos desde el punto de vista epidemiológico, fue la evaluación de malezas presentes en un suelo altamente infestado de la localidad de Carahue, para identificar la presencia de la enfermedad en otros hospederos. Producto de este estudio se determinó la presencia por primera vez en el país de agallas de carbón en la especie chamico (*Datura stramonium* L.) y por primera vez en el mundo en la especie tomatillo (*Solanum nigrum* L.). Estos resultados fueron corroborados a través de RAPDs y PCR, confirmando la identidad genética de *T. solani* en estos hospederos. Posteriormente, en otros estudios relacionados con este tema, se logró identificar y confirmar la presencia de *T. solani* en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* M.) desarrolladas en suelo naturalmente infestado bajo una condición de invernadero. Esta corresponde igualmente a la primera referencia demostrada en el mundo sobre la presencia de la enfermedad en este hospedero. Todos estos resultados constituyen antecedentes de gran significado para enfrentar la enfermedad en áreas endémicas, pero muy particularmente para áreas cuarentenadas, incorporando un factor que aumenta la complejidad de su manejo.

d) Otro estudio no contemplado originalmente en el proyecto relacionado con este objetivo específico, fue la evaluación de la expresión de la enfermedad a diferentes diluciones del inóculo presente en un suelo naturalmente infestado de la zona de Carahue. Se observó el desarrollo de agallas solamente en los suelos con 100 y 50% del inóculo. En los suelos diluidos a valores inferiores a 25% de inóculo no se produjeron plantas visiblemente enfermas. Por otra parte, se observó una significativa diferencia y relación inversamente proporcional entre el tamaño de las agallas y el porcentaje de inóculo del suelo: 61.6 cm³ en promedio en el suelo sin diluir y con 100% de inóculo, y 3.4 cm³ en el suelo con el inóculo diluido a un 50%. Los resultados obtenidos en esta evaluación son interesantes, toda vez que sugieren que tratamientos al suelo capaces de disminuir en más de un 50% el inóculo del suelo, se traducirían en una buena alternativa de control para evitar la expresión de la enfermedad de las plantas en suelos de áreas endémicas. Este estudio permitió igualmente realizar evaluaciones preliminares del método de detección por PCR, observándose que el método es significativamente más sensible en la detección del patógeno que la expresión del mismo.

el método permite detectar una concentración de inóculo que es insuficiente como para producir síntomas en las plantas.

- Actividades y logros relacionadas con el Objetivo Específico 4:

- a) Uno de los primeros y más consistentes resultados obtenidos de los ensayos efectuados durante estos cuatro años en la IV Región del país, en un suelo natural y altamente infestado seleccionado para los trabajos del proyecto, es que la siembra de verano es la más afectada por la enfermedad demostrando que factores como la temperatura del suelo parecen estar involucrados en la expresión del carbón de la papa. Por el contrario, consistentemente se observó que las siembras de otoño-invierno fueron escasamente afectadas, prácticamente con la ausencia de agallas en las plantas y sólo tubérculos visiblemente infectados.
- b) Diversos ensayos establecidos en invernadero y campo en la IV Región, en suelos naturalmente infestados, para conocer la efectividad de distintos ingredientes activos aplicados al suelo o a tubérculos semilla en disminuir el daño causado por el carbón de la papa, se tradujeron en la nula o bajísima capacidad para disminuir los indicadores de infección y/o incrementar los indicadores productivos. Si bien uno de los productos, Enzone (tetraiocarbamato de sodio), logró disminuir el número y peso de agallas por planta y aumentar el número y peso de tubérculos por planta cuando se evaluó en invernadero con suelo infestado sembrado con tubérculos sanos, la forma de aplicación requerida en campo por riego localizado, lo torna en un producto difícilmente adaptable al cultivo de la papa. Todos los demás productos, sulfato de cobre (Phyton-27), benomyl (Benlate), flutriafol (Vincit Flo), fenbuconazole (Indar Flo), triconazole (Real 200 SC), prochloraz + carbendazima (Sportak Alpha) y tebuconazole (Raxil 2% WS) resultaron inefectivos bajo condiciones de campo. Estos resultados manifiestan la complejidad del control químico de la enfermedad y las bajas expectativas de encontrar en el futuro inmediato en el mercado algún ingrediente activo que sea técnica y comercialmente adecuado. Por otra parte, estos resultados evidencian la necesidad de evaluar ingredientes activos y formulaciones bajo las condiciones de aplicación requeridas, ya que los resultados obtenidos en la zona sur difirieron significativamente de los obtenidos en la zona norte.
- c) Siempre en relación a este objetivo específico y a la detección de potenciales productos fumigantes al suelo con efectividad en disminuir la infestación del suelo, sólo dos de 4 ensayos establecidos y evaluados con este propósito obtuvieron resultados significativos. El primero correspondió a una siembra de invierno en la cual el fumigante Basamid G logró reducir significativamente el porcentaje de tubérculos infectados (0,28%) en comparación al testigo sin fumigante (20%), pero no así la producción total de tubérculos. Por el contrario, en una siembra de verano, la más afectada por la enfermedad, el tratamiento con Basamid G logró incrementar el rendimiento total en un 54,5% y disminuir el porcentaje de tubérculos infectados de un 12 a un 1,6%, lo que representa el primer antecedente sobre la efectividad de este fumigante en la IV Región.

- d) Otros resultados relacionados con este objetivo específico correspondieron a los obtenidos de las evaluaciones de la enfermedad en condiciones de almacenaje de la IV Región. Los resultados señalaron que existió a través del tiempo un aumento del tamaño de las agallas presentes en los tubérculos, independientemente del tamaño inicial de éstas. Además, se determinó que un 8.5% de los tubérculos seleccionados al inicio del trabajo como aparentemente sanos, desarrollaron agallas al cabo del almacenaje, con tamaños similares a los desarrollados por aquellos tubérculos visualmente infectados al inicio del estudio. No se detectó transmisión de la enfermedad entre tubérculos en condiciones de almacenaje. Los antecedentes obtenidos son relevantes puesto que la práctica corriente de los agricultores de esta zona, de dejar como semilla tubérculos aparentemente sanos cosechados por ellos mismos, no garantiza su sanidad al momento de la siembra, es decir luego de 3 o 4 meses de almacenaje.
- e) Otro resultado interesante de un estudio relacionado con este objetivo específico, pero no contemplado originalmente en el proyecto, fue la cuantificación de las pérdidas causadas por la enfermedad en suelos infestados de la IV Región. Si bien existían referencias previas sobre estimaciones de pérdidas en la zona norte, ninguna de ellas demostraba el empleo de una metodología científica en su obtención. Primeramente, se corroboraron los antecedentes que señalaban que la siembra de invierno era significativamente menos afectada que la siembra de verano, determinándose una pérdida de la productividad total de un 4,2%, contra un 35,3% de pérdida obtenida en la siembra de verano. En cuanto a la producción de tubérculos infectados, en la siembra de invierno se determinó en un 20% en base a peso, y en la siembra de verano un 12%. Los resultados obtenidos en esta actividad son los primeros de que se disponen, debidamente evaluados y cuantificados, en relación a las pérdidas producidas por la enfermedad en un suelo naturalmente infestado de la IV Región. Los antecedentes son de gran importancia para la evaluación económica del cultivo, en la toma de decisiones relacionado con la oportunidad de siembra, en el análisis de beneficio-costos del control de la enfermedad, entre muchas otras.
- f) Otra de las actividades relevantes por su envergadura, relacionada con este objetivo específico, fue el establecimiento y evaluación de un monocultivo de papa y dos rotaciones con distintos cultivos típicos de la IV Región, el cual fue llevado durante los cuatro años de ejecución del proyecto. Las rotaciones fueron papa cada dos y cuatro años, intercalando cultivos como maíz, arvejas, pimentón, tomate, poroto, cebada, apio y repollo. Desde el punto de vista técnico, ninguna de las rotaciones logró disminuir significativamente los indicadores de infección y aumentar los indicadores productivos, en relación al testigo monocultivo. Este resultado señala que en un suelo altamente infestado, la alta capacidad de supervivencia del patógeno torna insuficiente el cultivo de papa cada cuatro años para escapar del daño. Sin embargo, también es posible que exista una alta contaminación y re infección del suelo, por efecto de prácticas agrícolas comunes como el riego. A pesar de lo anterior, se determinó que ambas rotaciones sí lograron expresar una

significativa disminución en el ataque de nemátodo dorado. Por otra parte, desde el punto de vista económico, la secuencia de 6 cultivos de papa entre el invierno del 2001 y verano del 2004, generó un ingreso neto de \$ 2.293.000/ha, mientras que una secuencia de cultivos de papa, tomate, apio, pimiento, papa y maíz dulce durante el mismo período, generó un ingreso neto de \$ 7.576.874/ha demostrando la importancia de programar y establecer adecuadamente una rotación de cultivos.

g) Una sexta actividad muy importante y de grandes expectativas para el manejo futuro de la enfermedad fue la relacionada con la evaluación de materiales de papa de diversa procedencia para detectar resistencia al carbón de la papa. Los trabajos se centraron en la IV Región, con actividades paralelas en la VIII Región, en ambos casos en suelos altamente infestados con carbón de la papa. Las evaluaciones fueron realizadas en distintas épocas de cultivo durante todo el período del proyecto. Se evaluó un total de 67 segregantes provenientes de cruzamientos específicos para resistencia a Carbón de la papa y un ecotipo local, conocido como Doma, proveniente de Cobquecura en la VIII Región. Del total de segregantes evaluados, 41 correspondieron, en una primera etapa, a clones avanzados del Programa de Mejoramiento Genético de la Papa de INIA. Otros 26 clones de segunda generación fueron evaluados a partir del tercer año del proyecto, provenientes de cruzamientos en que alguno de los padres fueron las variedades Rosita o Revolución, material traído *in vitro* desde el CIP (Centro Internacional de la Papa) y conocidos por poseer características de resistencia genética a Carbón de la papa. Como resultado de estos estudios, 7 clones y el ecotipo local Doma presentaron total ausencia de síntomas de la enfermedad en plantas y tubérculos durante todas las evaluaciones realizadas. Los clones fueron: RG 107-3; RG 61-18; RG 108-6; RA 110-5; RD 11-1; RD 31-1 y RD 11-2. En los clones RG, algunos de los padres fueron los cultivares Revolución o Rosita, en tanto que en los cuatro clones restantes, uno de los padres fue Mirka y en dos de ellos el padre fue el clon R 82363-3. Los resultados obtenidos en estos cuatro años de estudio permiten concluir que hay efectivamente fuentes de resistencia a la enfermedad y que lo más probable es que la resistencia se transmita por genes mayores. Este mecanismo es de alta heredabilidad por tanto, intensificando el trabajo de mejoramiento genético, será posible en el futuro cercano contar con variedades resistentes.

h) Otra actividad relacionada con este objetivo específico, no contemplada originalmente en el proyecto, fue la evaluación de 6 cultivares comerciales de papa frente al carbón de la papa, en las localidades de Coquimbito y en Pan de Azúcar, en la IV Región. Los resultados obtenidos de este estudio fueron particularmente interesantes, puesto que se detectó lo que parece ser una alta resistencia en el cultivar Asterix, cuyos progenitores son Cardinal (madre) y VE 70-9 (padre). Este cultivar fue el único que en ambas localidades registró el 100% de sus tubérculos sanos. Por otra parte, se observó que el cultivar Pukara-INIA presentó entre un 97-99% de sus tubérculos con síntomas de carbón, comportándose como el más susceptible de los 6 cultivares evaluados. Los restantes cultivares, Desirée, Yagana, Cardinal y Karu-INIA tuvieron un comportamiento intermedio, aunque todos ellos registraron sobre un 50% de tubérculos enfermos en ambas localidades. Los resultados obtenidos en este estudio son los primeros antecedentes referidos a la

evaluación simultánea de cultivares comerciales de papa, en suelos con una alta infestación de carbón de la papa. El comportamiento del cultivar Asterix, el que en ambas localidades registró cero tubérculo infectado, tiene particular interés por representar el primer antecedente debidamente cuantificado y consistente, sobre un cultivar de la especie *tuberosum* resistente al carbón de la papa. Además, la detección de este material, cuyo comportamiento deberá ser corroborado, identifica un cultivar comercial de piel roja, semi tardío, con excelente propiedades para la industria de papas fritas y también para fresco, como potencial progenitor en un programa de mejoramiento con vistas al desarrollo de cultivares resistentes al carbón de la papa.

- Actividades y logros relacionadas con el Objetivo Específico 5:

- a) En relación a la difusión del proyecto, durante estos cuatro años de ejecución se organizaron y realizaron 18 charlas técnicas en la IV, IX y VIII regiones, con agricultores, técnicos y profesionales en las cuales se presentaron los objetivos, actividades, avances y logros del proyecto a nivel regional y nacional. En estas 18 charlas técnicas participaron alrededor de 570 personas. Además se efectuaron 3 presentaciones con las actividades y resultados del proyecto en 3 seminarios y ferias regionales.
- b) En relación al mismo objetivo, durante estos cuatro años se organizaron y efectuaron además 3 días de campo en la IV Región y 1 seminario en la IX Región, con la participación de alrededor de 240 personas.
- c) Respecto de la presentación de algunos de los trabajos de investigación en congresos científicos y seminarios, durante estos cuatro años se presentaron en forma oral 11 trabajos de investigación en los congresos de la Sociedad Chilena de Fitopatología, 2 presentaciones orales y 3 póster en el congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa.
- d) En cuanto a publicaciones y difusión en medios de comunicación audiovisuales, durante los cuatro años de ejecución del proyecto se publicaron dos artículos divulgativos en la revista Tierra Adentro, se editaron dos cartillas divulgativas y 1 boletín técnico para el reconocimiento y prevención de la enfermedad, se dieron 3 entrevistas radiales, dos publicaciones en periódicos, y un reportaje en Televisión Nacional sobre la enfermedad y el proyecto.
- e) Respecto de publicaciones científicas, se editó y publicó el artículo científico "Characterization, *in vitro* culture, and molecular analysis of *Thecaphora solani*, the causal agent of potato smut" en el número del mes de agosto de 2004 de la revista Phytopathology, una de la más prestigiosas revista científica del ámbito fitopatológico, el cual contiene resultados de algunos de los compromisos del proyecto..
- f) Finalmente, coincidiendo con el término del proyecto y producto de una modificación de uno de los compromisos en acuerdo con el Fondo SAG, se concretó una

importantísima actividad como fue la edición y publicación del libro “El Carbón de la papa, Avances en la etiología y control de la enfermedad” el que en sus 13 capítulos y 200 páginas contiene prácticamente toda la información existente a la fecha en el mundo sobre esta enfermedad y su agente causal, de la cual más del 75% corresponde a conocimiento generado por el proyecto

En relación a la consecución del objetivo final del proyecto, esto es el desarrollo de metodologías de mayor sensibilidad en la detección del agente causal del carbón de la papa, para apoyar su erradicación desde el área actualmente infestada en la IX Región, y generar información para establecer una estrategia de control integrado de la enfermedad en las áreas endémicas de la IV Región, las actividades y resultados obtenidos en estos cuatro años de ejecución del proyecto señalan que se logró concretar con total éxito el cumplimiento de cada uno de sus objetivos específicos, incluso mucho más allá de lo presupuestado originalmente producto de numerosas actividades que fueron incorporadas en el transcurso del mismo, como queda evidenciado en los veinte y tres Informes Técnicos de Avance emitidos.

La mayor parte de la información generada es inédita a nivel mundial, transformando a este proyecto en el de mayor contribución científica al conocimiento de esta patología y su agente causal. Todos los resultados obtenidos durante estos cuatro años apuntaron directamente tanto a resolver aspectos críticos planteados en el proyecto original, como para el establecimiento de las condiciones adecuadas para los trabajos de laboratorio, invernadero y campo definidos, permitiendo un significativo avance en cada una de las temporadas, finalizando con el cumplimiento de cada uno de los objetivos propuestos.

Respecto del grado de cumplimiento de los compromisos contraídos con el proyecto, éste fue total desarrollando incluso muchas más actividades de las originalmente presupuestadas. El haber concretado la obtención de dos metodologías de alta sensibilidad en la detección del agente causal de la enfermedad, una relacionada con la metodología basada en PCR, y la segunda metodología basada en inmunología; los estudios de la estructura poblacional de *T. solani* a través del análisis genético de 7 de los 26 aislamientos provenientes de las principales zonas productoras de papas, desde la IX Región al norte; la determinación de los niveles de pérdidas causadas por la enfermedad en las zonas norte y sur del país, pérdidas que por primera vez son debidamente cuantificadas en el país; la determinación del nivel de daño causado por el empleo de tubérculos semillas infectados y los avances en el estudio de la transmisión de la enfermedad a través de los tubérculos; la comprobación de la transmisión de la enfermedad a través de tubérculos asintomáticos; la detección por primera vez en el país de la presencia de la enfermedad en dos malezas comunes del sur de Chile, como son el chamico y el tomatillo, la demostración por primera vez en el mundo de su presencia en tomate, y la corroboración de *T. solani* como agente causal de las dos primeras patologías a través de análisis genéticos; la efectividad demostrada por a lo menos dos fumigante de suelo, particularmente dazomet, con potencial para ser empleado en un programa de erradicación en las zonas de riesgo primario de la IX Región; la evaluación de un total de 2.077 ha en los suelos del área de riesgo primario de la IX Región, en 1.379 potreros o predios, con la detección de 23 nuevos focos de infección en suelos de vega que totalizan aproximadamente 34 ha; la evaluación de un total de 490 ha

en la localidad de Cañete, VIII Región, en 166 potreros o predios, sin detectarse focos de infección; la identificación y selección de a lo menos 7 clones de papa y un ecotipo local de la zona de Cobquecura, como material promisorio por la ausencia de síntomas de carbón al sembrarlos por cuatro años consecutivos en un suelo altamente infestado de la zona norte; los interesantes resultados obtenidos con los desinfectante de semilla flutriafol, fenbuconazole y benomyl, en reducir los indicadores de infección con carbón en la zona sur, productos que surgen como una alternativa para reducir el inóculo en el suelo; la evaluación de la expresión de la enfermedad en almacenaje; la evaluación de dos rotaciones y un monocultivo durante cuatro años en la zona norte, demostrando la baja efectividad de la rotación de dos años, e incluso la de cuatro años cuando se trata de suelos altamente infestados; la realización de numerosas actividades de difusión sobre las investigaciones y resultados del proyecto, tanto técnicas como científicas; la publicación de un artículo científico en una de las más prestigiosas revistas del área fitopatológica a nivel mundial, como es *Phytopathology*; y la edición del libro "El carbón de la papa, avances en la etiología y control de la enfermedad", el que en sus trece capítulos describe la situación histórica y actual del carbón de la papa incorporando todo el conocimiento existente a la fecha sobre esta enfermedad, del cual más del 75% fue generado por el proyecto, son todos elementos que sustentan la apreciación anterior y demuestran el exitoso cumplimiento de todos los compromisos del proyecto en sus cuatro años de ejecución.

En relación a la idoneidad de la metodología aplicada en las diferentes actividades del proyecto, ésta respondió de acuerdo a lo esperado en todos los trabajos realizados, salvo modificaciones propias a toda actividad de investigación, las cuales permitieron obtener los resultados ampliamente descritos en los 23 Informes Técnicos de Avance. No existieron cambios radicales en las metodologías generales aplicadas a los trabajos realizados, excepto la incorporación de aquellas requeridas en las nuevas actividades complementarias definidas por el equipo de trabajo, y los mejoramientos requeridos en algunos procesos como es el caso del desarrollo de la metodología de PCR.

Los equipos de trabajo organizados en torno al proyecto ejecutaron sus compromisos de acuerdo a lo esperado, incluso bastante más allá de lo presupuestado originalmente en el proyecto y a lo programado en las reuniones de trabajo conjunto y comunicaciones mantenidas durante los cuatro años. Los integrantes del equipo de investigación actuaron con un alto sentido de responsabilidad, compromiso y motivación por los objetivos del proyecto, lo cual queda de manifiesto en las actividades y logros obtenidos en todas las actividades efectuadas durante su desarrollo, incorporando actividades no contempladas en el proyecto original, con el propósito de complementar y corroborar resultados de interés. Las actividades desarrolladas por todos los grupos de trabajo se encuentran amplia y detalladamente descritas en los 23 informes entregados durante estos cuatro años.

INFORME FINAL DE LAS ACTIVIDADES Y LOGROS DEL PROYECTO

a) Situación del proyecto al inicio del período que se informa.-

No corresponde por ser éste el Informe Final.

b) Detalle de las tareas y actividades realizadas.-

Las actividades realizadas en el contexto del proyecto, en sus cuatro años de ejecución, se encuentran amplia y detalladamente descritas en los 23 Informes Técnicos de Avance entregados.

En el presente Informe Final se describirán y analizarán los resultados obtenidos en cada objetivo específico, en base a los indicadores de éxito establecidos originalmente.

OBJETIVO ESPECIFICO 1.-

Determinar en forma precisa los predios y sectores actualmente afectados en las áreas cuarentenadas de la VIII y IX regiones, a través de herramientas desarrolladas con el apoyo de técnicas inmunológicas y de biología molecular.

Resultado Intermedio 1.1.-

Metodología de alta especificidad y sensibilidad en la detección del agente causal de la enfermedad, a través de técnicas inmunológicas y/o PCR.

Resultado 1.1.1.-

Cultivo *in vitro* de *Angiosorus solani*.

1.1.1.1.- Este resultado intermedio del Objetivo Específico 1 fue exitosamente cumplido durante los primeros tres trimestres del año 2001.

Las actividades y resultados se encuentran descritos en los Informes Técnicos N°1, 2 y 3.

Se logró por primera vez en el mundo el cultivo *in vitro* de *Thecaphora solani*, a partir de la germinación de teliosporas, con el desarrollo de micelio y masa micelial del hongo en medios sólidos artificiales y en medios líquidos. Posteriormente, se corroboró la identidad genética de *T. solani* obtenida en laboratorio, a través de la comparación de la secuencia obtenida con las bases de datos disponibles en el NCBI (National Center for Biotechnological Information, USA)* y con programas computacionales empleados por el Dr. Dominik Begerow, investigador alemán invitado por el proyecto para colaborar en aspectos moleculares y taxonómicos. Luego, se tuvo éxito en la inducción artificial de agallas en plántulas de papa inoculadas con *T. solani* desarrollado *in vitro*, lográndose por primera vez la reproducción de la enfermedad. Otro aspecto significativo relacionado con

este objetivo específico fue la optimización del procedimiento de obtención de teliosporas de *A. solani* a partir de agallas, lográndose la germinación de las teliosporas colectadas y conservadas. Además, se obtuvieron las primeras microfotografías de teliosporas y masa micelial de *A. solani* bajo microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Finalmente, se logró el desarrollo de la fase sexual completa del patógeno *in vitro*, aspecto de particular interés científico por existir escasísimos antecedentes del desarrollo de la fase sexual de este tipo de hongos fuera de sus hospederos.

Este logro representó uno de los aspectos significativos del proyecto, tanto por tratarse de la primera referencia sobre el cultivo artificial del hongo en el mundo, como para la consecución de parte importante de los objetivos del proyecto como era el desarrollo de los métodos de identificación a través de PCR e inmunología, metodologías que requieren de estructuras vegetativas puras del microorganismo. Este logro abre además nuevas líneas de trabajo relacionadas con estudios de la biología del hongo, requerimientos nutricionales y ambientales, análisis poblacionales, inducción artificial de síntomas en programas de mejoramiento, evaluaciones de alternativas de control biológico, químico y físico entre muchos otros.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del Resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Período de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.1.1 Cultivo <i>in vitro</i> de <i>Angiosporus solani</i>	Cultivo puro del patógeno en medio de cultivo determinado	Biomasa fúngica en cantidad suficiente que induzca la producción de anticuerpos en animales y de donde pueda extraerse ADN	2.4.1	Se observa el crecimiento del hongo libre de contaminantes	Marzo 2001 a Diciembre 2001

De acuerdo a los indicadores de éxito definidos en el proyecto, este compromiso fue total y exitosamente cumplido dentro del plazo establecido.

Resultado 1.1.2.-

Obtención de esporas de *Angiosporus solani* desde tumores de papa.

Este resultado intermedio del objetivo específico 1, fue completamente cumplido en el primer semestre del año 2001.

Las actividades y resultados se encuentran descritos en los Informes Técnicos N° 2 y 3.

Las actividades relacionadas con este resultado intermedio del objetivo específico 1, estuvieron enfocadas a la optimización del proceso de obtención de teliosporas de *A. solani* en laboratorio, aspecto importante para el apoyo de las metodologías de detección del patógeno por PCR e inmunología. El sistema de obtención y purificación de teliosporas

resultó efectivo logrando un alto grado de purificación, lo que permitió su adecuada conservación en frío y su posterior germinación en medios sólidos.

La obtención de teliosporas de *T. solani* viables y libres de contaminantes fue una actividad relevante para los trabajos de desarrollo *in vitro*, estudios de biología del patógeno, análisis de variación poblacional que se incorporaron posteriormente como otra actividad del proyecto, y para el desarrollo de las metodologías de detección por PCR e inmunología.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Período de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.1.2 Obtención de esporas <i>A. solani</i> desde tumores de papa	Obtención de preparaciones de esporas libres de contaminantes	Gran cantidad de esporas capaces de inducir la producción de anticuerpos en animales y de donde pueda extraerse ADN	2.4.1	Esporas al cultivarlas en medios específicos solo desarrollan crecimiento de micelio de <i>A. solani</i>	Marzo 2001 a Agosto 2001

A pesar del éxito obtenido en este resultado intermedio, persistió durante el desarrollo del proyecto el problema de la muy baja y lenta germinación de las teliosporas, observándose que tal proceso depende aparentemente del estado de desarrollo o "madurez" de las agallas.

De acuerdo a los indicadores de éxito definidos en el proyecto, este compromiso fue total y exitosamente cumplido dentro del plazo establecido.

Resultado 1.1.3.-

Angiosorus solani identificado mediante una reacción de PCR.

1.1.3.1.- Este resultado intermedio del objetivo específico 1, fue completamente cumplido en el segundo semestre del año 2002

Las actividades y resultados se encuentran descritos en los Informes Técnicos N°3, 5, 6, 8, 10 y 11. Posteriormente, las actividades tendientes a optimizar y evaluar el método fueron descritas en los Informes Técnicos N° 13 al 23.

Se realizó en una primera etapa la amplificación, purificación, clonación y secuenciación completa de la región ribosomal ITS1-5.8S-ITS2 de *T. solani*, la cual resultó ser bastante similar a otros hongos Ustilaginales, orden taxonómico al cual pertenece el agente causal del carbón de la papa, de acuerdo a los análisis de homología realizados con la secuencia obtenida. Esto permitió que la secuencia pudiera ser utilizada con fines de identificación y diagnóstico. Luego se diseñaron varios set de partidores para amplificar específicamente la región ribosomal de *T. solani*. Paralelamente se secuenció y analizó la región 5' LSU de *T.*

solani y se evaluó su empleo potencial con fines taxonómicos y de identificación molecular, obteniéndose una alta homología con otras especies de *Thecaphara*, confirmando la identidad genética de los aislados de *T. solani* evaluados y generando de esta forma una información relevante para fines de taxonómicos. Al inicio del segundo año se disponía de un ensayo de amplificación por PCR constituido por 2 pares de partidores, denominados TS-P3 y TS-P6, los cuales identifican específicamente la secuencia ribosomal ITS1-5.8S-ITS2 de *T. solani*. Luego se evaluaron metodologías rápidas para extraer DNA de teliosporas, así como de purificación rápida de las mismas mediante centrifugación.

Estas actividades se tradujeron finalmente en la exitosa concreción del desarrollo de la metodología de identificación específica de *T. solani* a través de PCR, con las pruebas de especificidad del método, las cuales fueron altamente efectivas en la identificación exclusiva del patógeno. Hacia fines del segundo año se logró incrementar la sensibilidad del método a través de una reacción de PCR anidado, permitiendo detectar hasta 0,006% de teliosporas en suelo, representando un logro de gran significado para el proyecto, tanto en el aspecto científico, en el avance hacia la obtención de una herramienta de gran aplicación práctica, como en el cumplimiento de uno de los compromisos importantes del proyecto. Durante los años 2003 y 2004 los trabajos estuvieron enfocados a la optimización de la metodología de PCR, con pruebas en plantas sanas, plantas aparentemente sanas y enfermas, pruebas con suelo infestado y sano, y con plantas y suelo provenientes de los nuevos focos detectados durante el desarrollo del proyecto en el área de riesgo primario de la IX Región. Se logró un salto muy importante en el proceso de extracción de ADN del hongo desde muestras de suelo, a través de un kit comercial importado, resolviendo además problemas de reproducibilidad del método de detección de *T. solani* por PCR y la cuantificación de la sensibilidad del método. Se concluyó finalmente en base a todos los resultados obtenidos en las diferentes pruebas, que se dispone de un método altamente sensible y específico para la detección de *T. solani* tanto en suelo, como en planta y tubérculos.

La metodología fue validada durante el año 2004, con numerosas pruebas realizadas mayoritariamente con suelo natural y artificialmente infestado y con suelo proveniente de los focos detectados en las actividades de prospección del área de riesgo primario de la IX Región.

Los resultados obtenidos constituyen un logro de gran significado para el proyecto tanto por haber logrado la concreción de uno de sus principales compromisos, como por el hecho de ser ésta la primera vez que se logra la identificación de un patógeno de suelo en el país a través de una herramienta molecular, y la primera metodología molecular existente a nivel mundial en la identificación del agente causal de esta patología. Las múltiples aplicaciones de este método de detección en prospecciones, estudios de diseminación y distribución, control fitosanitario en los puntos de acceso y salida de los países y regiones, en estudios poblacionales, estudios epidemiológicos en plantas y suelo, programas de mejoramiento genético, entre muchos otros, y el carácter del carbón de la papa de enfermedad cuarentenaria, hacen de esta herramienta uno de los aportes más significativas del proyecto al conocimiento y lucha contra esta severa enfermedad.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Período de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.1.3 <i>A. solani</i> identificado mediante una reacción de PCR	Disponer de las secuencias de genes ribosomales (región ITS1-5.8S-ITS2) o secuencias anónimas (bandas de RAPD) específicas de <i>A. solani</i>	Comparación de las secuencias con bancos de datos genéticos evidencia diferencias y por lo tanto especificidad para <i>A. solani</i>	2.4.1	Diseño de partidores de PCR para dichas secuencias amplifican DNA solo desde <i>A. solani</i>	Septiembre 2001 a Diciembre 2002

De acuerdo a los indicadores de éxito definidos en el proyecto, este compromiso fue total y exitosamente cumplido dentro del plazo establecido.

Se encuentra en proceso de tramitación, con acuerdo del INIA y del SAG, la inscripción de la patente de esta metodología y sus posibles aplicaciones.

1.1.3.2.- Un tema relacionado con este mismo objetivo específico y no considerado en el proyecto original, referido al estudio complementario para conocer la diversidad genética de *T. solani* a partir de una colección de teliosporas provenientes de 26 sitios de colecta, fue realizado durante los años 2002 y 2003.

Las actividades realizadas para cumplir con este estudio complementario y sus resultados, fueron detalladamente descritas en los Informes de Avance N°8, 10, 11, 13 y 14.

La metodología contempló el análisis a través de RAPD, complementado con el análisis de dos regiones de ADN ribosomal conocidas como ITS (espaciador transcrito interno) e IGS (espaciador ribosomal intergénico). Los resultados obtenidos en este estudio, realizado finalmente con sólo 7 aislamientos que pudieron ser desarrollados *in vitro*, señalaron una alta homología entre la mayoría de ellos, con una disimilitud inferior al 10%. Sólo uno de los siete aislamientos presentó diferencias más marcadas con el resto y correspondió al obtenido en el sector de Pan de Azúcar, IV Región. De esta forma se logró dar exitoso cumplimiento a sus objetivos.

Este estudio es el primero a nivel mundial y constituye un paso importante en el análisis de la diversidad genética del hongo. Disponer de una colección mas amplia en número, origen y distribución geográfica, permitirá obtener conclusiones mas categóricas así como obtener información que permita determinar la existencia de razas del hongo, inferir la necesidad de ampliar a otras zonas geográficas las evaluaciones de materiales resistentes o bien coleccionar aislamientos para su evaluación controlada, conocer su grado de especificidad en relación a otros hospederos, entre muchas otras líneas de investigación.

Las nuevas posibilidades de obtener aislamientos *in vitro* que se abren con uno de los últimos logros del proyecto, como es la obtención de masa micelial *in vitro* de *T. solani* proveniente de agallas de tomatillo, auguran buenas probabilidades de incrementar significativamente los aislamientos a evaluar en futuros estudios.

Este resultado se obtuvo en la modalidad de tesis de pregrado, la cual fue defendida y aprobada con muy buen resultado por parte del estudiante de la Universidad Católica de Temuco, Sr. Cristian Subiabre R., contribuyendo de esta forma el proyecto a la formación de recursos humanos especializados.

Esta actividad no tiene indicadores de éxito asociados, por no haber estado contemplada originalmente en el proyecto.

1.1.3.3.- Una tercera actividad relacionada con este objetivo específico, no contemplada en el proyecto original, realizada entre el año 2003 e inicios del 2004, fueron diferentes pruebas de patogenicidad con teliosporas, masa micelial y micelio obtenido en laboratorio, e inoculadas en brotes en diferentes estados de desarrollo de papas var. Desirée.

Las actividades y sus resultados se encuentran descritos en los Informes Técnicos N° 7, 8, 16 y 17.

Fuera de la exitosa prueba de patogenicidad obtenida durante el año 2001 (Informe Técnico N°2), no se logró obtener resultados similares. Si bien todas las plantas inoculadas se desarrollaron normalmente, ninguna de ellas manifestó síntomas de carbón en las zonas de inoculación. Lo anterior sugiere que aún se deben identificar las condiciones relacionadas con estados de desarrollo y tejidos de las plantas más susceptibles, así como las condiciones ambientales para poder reproducir la sintomatología.

Esta actividad no tiene indicadores de éxito asociados, por no haber estado contemplada originalmente en el proyecto.

1.1.3.4.- Otra actividad relacionada con este Objetivo Específico N°1, no contemplada originalmente y realizada durante el segundo semestre de este cuarto año de ejecución del proyecto, fue el exitoso aislamiento por primera vez de *T. solani*, desde agallas desarrolladas en plantas de tomatillo (*Solanum furcatum* L.).

La metodología y sus resultados fueron descritas en el Informe Técnico N° 22.

Este resultado representa un logro muy importante, puesto que significa prescindir de las teliosporas y el consiguiente problema de germinación, para la obtención de micelio puro de *T. solani*. Esto último ha sido un problema recurrente durante la realización de estos estudios, frenando el avance en el conocimiento de la biología del hongo, e impidiendo el desarrollo de pruebas de patogenicidad, análisis de poblaciones, identidad genética del patógeno presente en chamico, tomatillo y tomate, entre otros.

La metodología aplicable ahora para el aislamiento de *T. solani* desde papa y otros hospederos, abre innumerables líneas de investigación para avanzar en el conocimiento de esta severa patología y para el desarrollo de estrategias de control.

Esta actividad no tiene indicadores de éxito asociados, por no haber estado contemplada originalmente en el proyecto.

Resultado 1.1.4.- Sistema de detección inmunológico de *Angiosporis solani*.

1.1.4.1.- Este resultado intermedio del objetivo específico 1, fue completamente cumplido en el segundo semestre del año 2002.

Las actividades realizadas y sus resultados, las cuales fueron desarrolladas por la empresa asociada BIOSONDA S.A., se presentaron amplia y detalladamente descritas en los Informes de Avance N°7, 8, 10 y 11.

Los trabajos se iniciaron con la inducción de reacciones inmunológicas en ratas inyectadas con teliosporas purificadas, obteniendo anticuerpos policlonales por medio de la inmunización de conejos con teliosporas de *T. solani*, anticuerpos monoclonales por medio de la inmunización de ratones, 52 hibridomas que reaccionaron contra proteínas de teliosporas y 8 hibridomas que reaccionaron con componentes superficiales de teliosporas. Luego se efectuaron las primeras pruebas con los anticuerpos policlonales de conejo, los que presentaron reacción cruzada con antígenos presentes en otros hongos aislados desde suelos de la zona de Carahue y otros provistos desde diferentes laboratorios del INIA. Paralelamente, se obtuvieron y analizaron proteínas asociadas a la superficie de las teliosporas de *T. solani*, las cuales son potencialmente útiles con fines de inmunodetección, observándose que la mayoría de estas proteínas son solubles en agua, y que una fracción de estas proteínas tiene características similares a hidrofobinas de tipo I y II. Hacia mediados del año 2002, BIOSONDA S.A. logró la obtención de 14 anticuerpos de alta especificidad contra *T. solani*, los cuales no tuvieron reacción cruzada con antígenos presentes en organismos causantes de carbones como *U. tritici* y *T. caries*, especies que se comportaron como las más antigénicamente relacionadas con los monoclonales obtenidos previamente.

Producto de los trabajos efectuados con tales anticuerpos, se obtuvieron finalmente anticuerpos monoclonales los que, a través del re-clonamiento de los hibridomas secretores de anticuerpos monoclonales, junto con la evaluación de su especificidad y crecimiento, resultó en la identificación dos líneas, denominados 3A7 y 3B4, ambos perteneciente a la clase IgM. Los trabajos desarrollados hacia fines del año 2002 estuvieron enfocados a la evaluación de procedimientos para la extracción y solubilización del antígeno desde las teliosporas de *T. solani*, lo cual permitiría su posterior detección con los anticuerpos en un ensayo tipo ELISA. Además, se logró el desarrollo de un ensayo de inmunofluorecencia indirecta para *T. solani*, utilizando los anticuerpos monoclonales de alta especificidad, el desarrollo de un test ELISA para *T. solani*, utilizando anticuerpos policlonales contra el hongo para capturar el antígeno, y anticuerpos monoclonales altamente específicos para

revelar el antígeno, obteniéndose resultados promisorios en la evaluación realizada con un panel de muestras de suelo contaminadas con el patógeno y finalmente, la realización de pruebas preliminares para aplicar los anticuerpos monoclonales en una prueba rápida, utilizando esferas magnéticas recubiertas con suero de cabra anti-inmuglobulina de ratón, pruebas que resultaron promisorias con uno de los anticuerpos, restando determinar la sensibilidad del ensayo y los tiempos mínimos. Del empleo de esta metodología en el análisis de suelos infestados se observó que el anticuerpo monoclonal AMC 3A7 fue el que presentó el mejor resultado al detectar 4 muestras positivas de 10 muestras evaluadas en el test de inmunofluorescencia indirecta (IFI), tanto en suelo sano con 0,1 y 0,05% de esporas, como en suelo sano con 50, 25 y 13% de suelo infestado, resultado que debiera ser mejorado a través del tratamiento de la muestra a evaluar. Además, el desarrollo de un test de ELISA de captura, utilizando el suero policlonal de conejo para la captura, y el monoclonal específico 5F11 para revelar, permitió detectar 7 muestras positivas a *T. solani*, de las 10 evaluadas resultados que son muy promisorios. Finalmente, el test rápido de detección de *T. solani* en suelo utilizando partículas de látex magnético, logró igualmente resultados promisorios.

Todas estas actividades se tradujeron hacia fines del año 2002 en la exitosa obtención de una metodología de identificación de *T. solani* basada en inmunología, con anticuerpos poli y monoclonales de alta especificidad, logrado por la empresa asociada BIOSONDA S.A., cumpliendo así con uno de los objetivos importantes de este proyecto. Hacia futuro se deberá afinar el método en cuanto a sensibilidad y la toma de muestras de suelo para adecuarlo a un sistema práctico y efectivo de identificación del patógeno en suelo.

Se dio término al exitoso desarrollo de este método de detección inmunológico, con la realización de un Taller teórico-práctico de inmunología y empleo de anticuerpos en la detección del carbón de la papa, organizado por BIOSONDA S.A. y realizado en Santiago en enero de 2004. Este taller contó con la participación de profesionales del SAG de la región Metropolitana, VIII, IX y X regiones, y del equipo de investigación de INIA. Posteriormente, se hizo entrega por parte de BIOSONDA S.A. a INIA-Carillanca en el mes de abril de 2004, de los materiales generados como compromisos del proyecto consistentes en suero policlonal de conejo anti-*T. solani*, hibridomas anti-*T. solani* 1, 2 y 3, y un manual de uso del material.

Los resultados obtenidos en el cumplimiento de este compromiso, constituyen otro hito relevante en el conocimiento y en el desarrollo de herramientas de última generación para la aplicación a estudios del carbón de la papa y su agente causal. Al igual que lo mencionado para el caso del método de identificación de *T. solani* por PCR, este método de detección inmunológico es la primera y única herramienta desarrollada en el mundo para esta enfermedad, abriendo numerosas nuevas líneas de investigación en el campo de la epidemiología, biología del patógeno, prospecciones, resistencia genética, control químico y biológico y muchos otros, así como, para la aplicación práctica en la prevención y control de la enfermedad.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Período de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.1.4 Sistema de detección inmunológico de <i>A. solani</i>	Disponer de anticuerpos tanto poli como mono clonales específicos para <i>A. solani</i>	Ensayo tipo Elisa y/o tira reactiva para identificar presencia del hongo	2.4.1	Sistema produce señal específica solamente en presencia de <i>A. solani</i>	Julio 2001 a Diciembre 2002

De acuerdo a los indicadores de éxito definidos en el proyecto, este compromiso fue total y exitosamente cumplido dentro del plazo establecido.

Resultado Intermedio 1.2.-

Mapeo de la presencia del agente causal de la enfermedad en las áreas cuarentenadas de la VIII Región, y de riesgo primario de la IX Región.

Resultado 1.2.1.-
Equipo técnico especializado en evaluación visual de la enfermedad en campo.

1.2.1.1.- Este resultado intermedio del objetivo específico 1, por su carácter de actividad permanente durante la ejecución del proyecto, se terminó de cumplir junto con el término del proyecto, el segundo semestre del año 2004.

Los trabajos y resultados se presentaron amplia y detalladamente descritas especialmente en los Informes de Avance N°2, 5, 7, 8, 11, 13, 14 y 17.

Las actividades y logros relacionadas con este objetivo específico, referidas a las prospecciones del área de riesgo primario de la IX Región, consistieron en la contratación y preparación técnica de equipos conformados por Técnicos Agrícolas. Ing. de Ejec. Agrícola y estudiantes avanzados de la carrera de Agronomía, para la identificación de agallas y tubérculos afectados por *T. solani*. Las contrataciones se basaron esencialmente en la experiencia previa en este tipo de actividades, y la capacitación específica se efectuó en sala, con adecuado material audiovisual, y también en terreno practicando la metodología de prospección y analizando plantas y tubérculos infectados del sitio de ensayos de Carahue. Lo mismo se realizó para el equipo de prospección que trabajó en la zona de Cañete, VIII Región, equipo que se mantuvo sin variación en sus integrantes durante todo el periodo de ejecución de esta actividad.

Los equipos técnicos contratados para las prospecciones, realizaron sus actividades con un muy buen grado de preparación y acuciosidad, cumpliendo en excelente forma con los compromisos adquiridos, destacando la responsabilidad y dedicación en el desarrollo de esta actividad.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Periodo de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.2.1 Equipo técnico especializado en evaluación visual de la enfermedad en campo	Equipo con la capacidad de diagnosticar en forma efectiva la enfermedad a campo	Equipo conformado por 2 supervisores y 10 evaluadores en conjunto con el SAG	2.4.1	Equipo de 12 personas capacitadas que han dado una evaluación en terreno en forma satisfactoria	5 Meses por año por los 4 años que dura el proyecto

Este compromiso se cumplió muy adecuadamente, habiéndose conformado un bien preparado y entusiasta grupo de prospectores, la mayoría de los cuales prestó sus servicios al proyecto hasta la finalización del mismo en diciembre de 2004.

Resultado 1.2.2.-

Mapeo con la presencia de la enfermedad en áreas cuarentenadas de la VIII y IX Regiones.

1.2.2.1.- Este resultado intermedio del objetivo específico 1, por su carácter de actividad permanente durante la ejecución del proyecto, se terminó de cumplir junto con el término del proyecto, el segundo semestre del año 2004.

Las actividades realizadas y sus resultados se encuentran descritas en los Informes Técnicos de Avance N°7, 8, 11, 13, 14, 17, 19, 20, y 23.

Las prospecciones realizadas en el área de riesgo primario de la IX Región, en suelos de vega y en altura del sector comprendido entre las ciudades de Carahue y Puerto Saavedra, estuvieron dirigidas a los predios registrados y vigilados por la oficina Imperial del SAG, en base a la información entregada por este mismo Servicio en cada uno de los cuatro años de duración de esta actividad.

La metodología consistió básicamente en la planificación del día en la oficina del SAG-Imperial, el traslado del equipo al primer predio a evaluar, el contacto con el dueño del predio o responsable de la siembra de papa, la presentación de las credenciales que los autorizaban a esa actividad, solicitar la autorización y explicar el porqué y cómo de las actividades a realizar, y distribuyendo al equipo de prospección en los potreros. El muestreo y evaluación consistió en recorrer 4 hileras de plantas simultáneamente por cada prospector, el arranque y evaluación de 1 planta cada 15 pasos en cada una de las cuatro hileras verificando la presencia o ausencia de agallas, colectando además 1 tubérculo de cada planta para detectar la presencia de tumores. De esta forma se cubría el 100% de las siembras, analizando aproximadamente 1.000 plantas y 1.000 tubérculos por ha. Sin embargo, esta metodología fue modificada a fines del año 2002, en base a los antecedentes

obtenidos en la segunda etapa. En acuerdo con la oficina Imperial de SAG, se decidió discontinuar con la colecta y lavado de tubérculos, debido al significativo tiempo requerido y a la baja efectividad en las determinaciones de carbón. Lo mismo se realizó con el equipo de prospección que trabajó en la zona de Cañete, VIII Región.

Producto de estas actividades se prospectaron en los cuatro años de ejecución del proyecto un total de 2.011,7 ha en el área de riesgo primario de la IX Región, en 1.379 predios o potreros, detectándose 23 nuevos focos de carbón de la papa que involucran aproximadamente 34 ha. El SAG había detectado hasta el año 2000 un total de 37 focos de infección en esta misma área, con una superficie comprometida de 152,6 ha. Todos los predios prospectados durante estos cuatro años en el área de riesgo primario de la IX Región, fueron georeferenciados lo cual permitió confeccionar los mapas con los predios positivos y negativos.

Respecto de la zona de Cañete, VIII Región, durante estos cuatro años se prospectó un total de 489,9 ha, en 166 predio o potreros, sin detectarse focos de infección en esa zona. No se confeccionaron mapas de la zona de Cañete por considerarse innecesario ante la ausencia de focos de carbón en la zona.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Periodo de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.2.2 Mapa con la presencia de la enfermedad en áreas cuarentenadas de la VIII y IX regiones	Mapa detallado con los predios infectados	4 predios en la VIII región, 65 en la IX	2.4.1	Mapa con la presencia/ausencia del patógeno para las áreas indicadas	Octubre 2001 a Julio 2004

Este compromiso se desarrolló y finalizó en forma muy exitosa, con un extraordinario trabajo por parte de los equipos de prospección, y una muy buena coordinación con las oficinas del SAG-Imperial y SAG-Cañete, cumpliendo mucho más allá de lo comprometido en el proyecto original.

OBJETIVO ESPECIFICO 2.- Validar la efectividad de fumigantes de suelo en la eliminación del patógeno en aplicaciones semi comerciales, sobre suelo infestado en la IX región.

Resultado Intermedio 2.1.-

Contar con al menos un fumigante de suelo de alta efectividad en la eliminación del hongo patógeno.

Resultado 2.1.1.-

Obtener a lo menos 1 producto fumigante de suelo con buena efectividad en eliminar el patógeno del suelo, en aplicaciones de tipo semi comercial (0,5 ha).

2.1.1.1.- Este resultado intermedio del objetivo específico 2, fue completamente cumplido en el primer semestre del año 2004.

Las actividades relacionadas con este resultado intermedio del objetivo N°2, se presentaron detalladamente descritas en los Informes de Avance N°7, 8, 11, 14, 17, 19 y 20.

Los resultados obtenidos en el cumplimiento de este compromiso concluyen que se dispone de a lo menos un fumigante de suelo con una probada y muy buena efectividad en reducir la expresión y desarrollo del carbón de la papa, en suelos infestados de la zona de Carahue, IX Región.

Todos los trabajos desarrollados en el sitio de ensayos de la IX Región, se realizaron bajo una condición de alta infestación natural del suelo, reflejado en la impresionante producción de inóculo de las plantas establecidas en los tratamientos sin fumigantes, equivalente a 2.28 ton de agallas/ha, en promedio. La primera evaluación en parcelas experimentales arrojó un 100% de control con los fumigantes dazomet (nombre comercial Basamid G) y metam sodio (BL-1480), eliminando completamente la expresión de la enfermedad. La efectividad de los tratamientos al suelo se reflejó igualmente en los indicadores productivos, donde el rendimiento total de papas aumentó en un 45% por efecto del control de la enfermedad. El mejor efecto se observó en el caso de los tubérculos categoría consumo, cuya producción total aumentó en un 103% en promedio, respecto del tratamiento testigo. La productividad de tubérculos categoría semilla aumentó en un 40,7% en promedio.

Posteriormente, en evaluaciones con aplicaciones de tipo semi comercial de ambos fumigantes de suelo, semejantes a las que se deberían realizar en un eventual plan de erradicación de la enfermedad, el tratamiento con Basamid G obtuvo un 1,4% de plantas con agallas, contra un 9,2% en el caso de metam sodio. En cuanto a tubérculos visiblemente infectados, Basamid G obtuvo un 1,4% contra un 11,2% de Metam sodio. Respecto de la distribución de las plantas enfermas, aspecto importante de considerar en esta evaluaciones, se apreció que el tratamiento con metam sodio obtuvo plantas enfermas homogéneamente distribuidas en toda la parcela, mientras que el tratamiento con Basamid G sólo las obtuvo en forma localizada, mayoritariamente en la 2ª hilera y otras pocas en la 3ª hilera, sugiriendo una probable contaminación, problemas de dosificación, sellado del suelo u otro, más que una baja efectividad del tratamiento con Basamid G. En un total de tres evaluaciones realizadas con Basamid G en este mismo suelo, el fumigante logró reducir la expresión de la enfermedad en un 99,8, 100 y 98,6%, respectivamente

Finalmente, en la evaluación de residualidad del tratamiento con Basamid, efectuada con una nueva siembra de papas en la parcela tratada la temporada anterior con este fumigante, para observar el efecto del tratamiento original en un segundo año, los resultados indicaron que el tratamiento de esterilización al suelo se prolongó por un segundo año, aún cuando se encontraron 19 plantas afectadas, lo que representó un 1.36%, cifra considerada baja en

comparación al 78% de plantas enfermas registrado a mediados del año 2003 en la misma parcela, y a los múltiples factores que pueden generar contaminación de este suelo, entre otros el anegamiento invernal. Por tanto, el 1,36% de plantas enfermas registradas en la segunda siembra consecutiva de papas, reflejan que la actividad del tratamiento al suelo con el fumigante perduró en un segundo año, aunque bajo el 100% de efectividad.

Por tanto es posible concluir que existe a lo menos un fumigante de suelo, Basamid G, con una probada y muy buena efectividad en reducir la expresión y desarrollo del carbón de la papa, en suelos infestados de la zona de Carahue, IX Región.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Período de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.3.1 Obtener a lo menos 1 producto fumigante de suelo con buena efectividad en eliminar el patógeno del suelo en aplicaciones de tipo semi comercial (0,5 ha)	Productos con alta efectividad en disminuir la infección en los tubérculos	Obtener sobre 90% de control de la enfermedad en las parcelas tratadas	2.4.2	Análisis estadísticos de las evaluaciones indican la ausencia de la enfermedad en los tratamientos aplicados	Octubre 2003 a Junio 2005 (tiempo real)

Las actividades relacionadas con este objetivo específico fueron total y exitosamente cumplidas dentro del plazo propuesto, disponiéndose de una excelente información que avala la existencia de a lo menos un fumigante de suelo de alta efectividad, como para ser considerado en un eventual programa de erradicación del carbón de la papa desde el área de riesgo primario de la IX Región.

2.1.1.2.- Otro estudio relacionado con este objetivo específico N°2, no contemplado originalmente en el proyecto, fue la evaluación de diferentes desinfectantes de semilla sobre la disminución del daño causado por el carbón de la papa, en suelos naturalmente infestados de la IX Región. Este trabajo se realizó entre fines del año 2002 y el primer semestre de 2004.

Las actividades y conclusiones relacionadas con este resultado intermedio, se presentaron detalladamente descritas en los Informes de Avance N°9, 11, 14, 17 y 20.

Esta investigación contempló una evaluación preliminar en invernadero, y dos ensayos de campo en el sitio establecido para estos propósitos en la localidad de Carahue. Los resultados obtenidos en este estudio concluyeron que de los 9 productos originalmente evaluados, solamente flutriafol (Vincit Flo), fenbuconazole (Indar Flo) y benomyl (Benlate) lograron reducir en forma estadísticamente significativa tanto el número como el peso de agallas de carbón, con cifras de entre un 77 y 91% el primer año, y entre un 66 y 76% el segundo año. De estos tres productos, flutriafol, presentó en ambos ensayos de campo la

mejor tendencia hacia una disminución de los indicadores de infección, logrando además en el primer año aumentar significativamente la productividad de las plantas.

Si bien ninguno de estos tratamientos se tradujo en un consistente aumento de la productividad de las plantas, la paulatina disminución del potencial de inóculo de los suelos que se obtendría en el tiempo producto del tratamiento a la semilla, se debería traducir en un mejoramiento de la productividad y por tanto de las expectativas del cultivo de la papa en esas áreas. La evaluación de estos desinfectantes de semilla en la zona norte arrojaron resultados bastante diferentes, sin observarse diferencias significativas en la disminución de los indicadores de infección como tampoco en el aumento de la productividad de las plantas.

Estos resultados, junto con los obtenidos por el equipo de investigación de INIA-La Platina en evaluaciones de invernadero, son los primeros que se obtienen respecto de la efectividad de desinfectantes de semilla en la expresión del carbón de la papa, entregando valiosa e inédita información particularmente para enfrentar la enfermedad en las áreas endémicas. Es importante observar que no existe en la literatura referencias de estudios similares.

Esta actividad no tiene indicadores de éxito asociados, por no haber estado contemplada originalmente en el proyecto.

OBJETIVO ESPECÍFICO 3.- Conocer el potencial de daño de la enfermedad y el efecto del origen de la semilla en la expresión de la misma.

Resultado Intermedio 3.1.-
Obtener información sobre el potencial de daño de la enfermedad bajo las condiciones del área de Carahue, y el efecto del origen de la semilla sobre la expresión de la misma.

Resultado 3.1.1.-
Conocimiento del daño producido por el carbón de la papa en potreros infestados del área de Carahue.

3.1.1.1.- Este resultado intermedio del objetivo específico 3, fue completamente cumplido entre el año 2002 y el primer semestre del año 2003.

Las actividades relacionadas con este resultado intermedio, se presentaron detalladamente descritas en los Informes de Avance N°8, 11 y 14.

Este estudio se realizó en temporadas agrícolas con dos ensayos independientes, tendientes a determinar el nivel de pérdidas de productividad causado por un suelo naturalmente infestado con *T. solani*, del área de riesgo primario de la IX Región. Para estos efectos, en ambos casos se consideró parcelas esterilizadas con un fumigante de suelo y parcelas del mismo suelo sin esterilizar, con infección natural.

Producto de esta actividades se determinó primeramente la alta efectividad del tratamiento al suelo con dazomet (Basamid G) obteniendo las parcelas tratadas 0 agallas, mientras que el testigo con suelo sin esterilizar obtuvo 2,3 ton de agallas/ha. Seguidamente se determinó pérdidas de productividad que fluctuaron entre un 31 y 34% en el rendimiento total, y 50,9 a 52,5% en el rendimiento de la categoría consumo, resultados que fueron altamente consistentes en ambas temporadas. Sólo en la segunda temporada se detectaron pérdidas en tubérculos categoría semilla, la que alcanzó a un 29,3%.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecio original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Periodo de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.4.1 Conocimiento del daño producido por el carbón de la papa en potrerros infestados del área de Carahue	Datos respaldados estadísticamente con información proveniente de ensayos de terreno	Porcentaje de disminución de la productividad y calidad de los tubérculos afectados por la enfermedad bajo las condiciones de la IX región	2.4.3	Los datos obtenidos entre tratamientos con y sin carbón de la papa comparados indican la magnitud del daño por la enfermedad	Septiembre 2001 a Julio 2003

Este resultado intermedio se cumplió total y exitosamente durante el periodo presupuestado, con información altamente relevante para el proyecto y el país.

Los antecedentes aportados por esta investigación, son los primeros que se obtienen debidamente cuantificados en el país, demuestran el potencial destructivo de la enfermedad en la zona sur y aportan una información de gran relevancia para analizar económicamente el problema, estimar el posible daño a la producción de papa de la zona sur, para la toma de decisiones respecto de la eventual erradicación de la misma, en la justificación y magnitud de las inversiones por parte de los agricultores para su control, manejo de la enfermedad a futuro, entre muchas otras.

Resultado 3.1.2.-

Conocimiento del efecto del origen de la semilla en la expresión de la enfermedad, en el área de Carahue.

3.1.2.1.- Este resultado intermedio del objetivo específico N°3, fue completamente cumplido entre el año 2002 y el primer semestre del año 2004.

Las actividades relacionadas con este resultado intermedio se presentaron detalladamente descritas en los Informes de Avance N°8, 9, 11, 13, 17 y 21.

Esta investigación se realizó en dos temporadas agrícolas, con dos etapas desarrolladas en campo para determinar la magnitud de la transmisión de la enfermedad desde tubérculos visiblemente infectados a una primera generación de plantas y la magnitud de las pérdidas causadas por el empleo de tales tubérculos. Otra etapa fue desarrollada en invernadero y laboratorio, para verificar la transmisión de la enfermedad a una segunda generación de plantas y comprobar vía herramientas moleculares la existencia de infección en plantas y tubérculos asintomáticos.

Producto de esas actividades, se logró obtener antecedentes de gran relevancia en relación a la transmisión de la enfermedad vía tubérculos infectados y al efecto de éstos sobre la productividad de las plantas. En las etapas de campo se determinó que el porcentaje de transmisión de la enfermedad por tubérculos infectados, posible de verificar visualmente, varió entre un 30 y 8,5%, en el primer y segundo ensayo, respectivamente. Sin embargo, producto de la determinación y corroboración vía PCR que existen plantas asintomáticas que no expresan la infección en el primer año, pero sí en una segunda generación de plantas, se pudo constatar que la transmisión de la enfermedad vía tubérculos enfermos puede llegar a un 44%. Por otra parte, se verificó que el empleo de tubérculos infectados como semilla se traduce en una disminución de la productividad de las plantas que puede variar entre un 34 y 80% en la categoría consumo.

En la segunda etapa de invernadero se determinó que la transmisión de la enfermedad desde tubérculos cosechados de las plantas visiblemente enfermas obtenidas en campo, fue de un 64%, es decir, el 64% de la plantas que presentaron agallas en el campo, produjo a lo menos 1 tubérculo capaz de transmitir la enfermedad, tubérculos que mayoritariamente no presentaron evidencias visibles de estar infectados.

Uno de los resultados significativos obtenidos en estos estudios, fue la verificación de la transmisión de la enfermedad a través de tubérculos asintomáticos, y también a través de plantas asintomáticas que producen tubérculos infectados, todo lo cual refuerza la necesidad de contar con herramientas sensibles y efectivas en identificar al patógeno en los diferentes sustratos en los que se puede encontrar.

Otros resultados interesantes por lo inédito de ellos, fue que no se encontró una relación directa y consistente del tamaño de los tumores presentes en los tubérculos semilla infectados, sobre la productividad de las plantas, aunque en uno de los ensayos se apreció un efecto sobre el número de plantas con agallas. Se observó además que los tubérculos semilla infectados retardan y disminuyen la emergencia de las plantas en comparación a tubérculos semilla sanos. También que el número de agallas producidas por una planta de papa enferma con carbón es muy similar, independientemente si la infección provino del suelo o de tubérculos semilla infectados.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Período de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.4.2 Conocimiento del efecto del origen de la semilla en la expresión de la enfermedad en el área de Carahue	Datos respaldados estadísticamente con información proveniente de ensayos de terreno	Grado de disminución de la productividad y calidad de los tubérculos por uso de semilla proveniente de suelo infestado	2.4.3	Los datos obtenidos entre tratamientos con semilla sana y semilla proveniente de campos infestados comparados reflejan el efecto del origen de la semilla utilizada, en el desarrollo de la enfermedad.	Septiembre 2001 a Julio 2003

Este resultado intermedio se cumplió total y exitosamente durante el periodo presupuestado, con información altamente relevante para el proyecto y el país.

Los antecedentes obtenidos en esta investigación, son los primeros que se disponen para esta enfermedad en forma debidamente cuantificada y analizada, aportando información de gran importancia para la prevención y el manejo del carbón de la papa. Por primera vez se conoce la magnitud de la transmisión de la enfermedad a una primera y segunda generación de plantas, en base a un seguimiento metódico y cuidadoso del desarrollo de la misma a partir de tubérculos infectados. Las cifras resaltan la importancia de manejar adecuadamente lo referente a la semilla de papa, puesto que la alta capacidad de transmisión y diseminación del carbón por esta vía, y las significativas pérdidas provocadas por el empleo de semilla infectada, sumadas a las causadas por suelo infestado, dejan en evidencia la severidad de esta patología y la complejidad de su manejo.

Especial relevancia tiene la identificación de plantas y tubérculos asintomáticos capaces de transmitir la enfermedad, puesto que torna al carbón de la papa en una patología de difícil diagnóstico y por tanto de alto riesgo. La disponibilidad de una herramienta de alta sensibilidad para la detección de *T. solani*, como lo es el método de PCR desarrollado como compromiso de este proyecto, ha logrado minimizar tal riesgo en la medida que su empleo se masifique.

Parte de este compromiso se ejecutó en la modalidad de tesis de pregrado, la cual fue defendida y aprobada con muy buen resultado por parte de la estudiante de la Universidad Católica de Temuco, Srta. María Elena Sandoval Hauquimil, contribuyendo de esta forma el proyecto a la formación de recursos humanos especializados.

3.1.2.2.- Un estudio complementario no contemplado originalmente en el proyecto, relacionado con la identificación de otros hospederos de *T. solani* a través de la evaluación de malezas presentes en un suelo altamente infestado de la localidad de Carahue, fue desarrollado durante el año 2002 en esta localidad, y complementado con trabajos de invernadero durante el segundo semestre del año 2004.

Las actividades y resultados obtenidos fueron descritos en los Informes Técnicos N°7, 10, 21 y 22.

Este estudio arrojó resultados muy significativos desde el punto de vista epidemiológico, determinándose por primera vez en el país la presencia de agallas de carbón en la especie chamico (*Datura stramonium* L.) y por primera vez en el mundo en la especie tomatillo (*Solanum fircatum* L.). Estos resultados fueron posteriormente corroborados a través de RAPDs y PCR, confirmando la identidad genética de *T. solani* en estos hospederos. Este es un resultado de gran significado, puesto que a pesar de encontrarse reportada la enfermedad en chamico, no así en tomatillo, es la primera vez que se logra identificar al agente causal del carbón de la papa, como al organismo causante de las agallas en chamico y tomatillo. Los reportes anteriores en chamico sólo permitían asumir la probable causalidad de *T. solani* en la sintomatología observada en esta especie.

Posteriormente, se desarrolló otro estudio relacionado con la detección de otras especies solanáceas como posibles hospederos de *T. solani*. Esta actividad, realizada a través de la siembra de chamico, tabaco, tomatillo y tomate en suelo infestado mantenido en invernadero, permitió observar el desarrollo de la enfermedad en plantas de tomate var. Peto 76, además de chamico y tomatillo. Cuatro plantas de tomate, siete de chamico y tres de tomatillo presentaron síntomas típicos del carbón de la papa. En tabaco no se observaron plantas con estos síntomas. En el caso de las plantas de tomate, se verificó la presencia de teliosporas características de *T. solani* en las agallas desarrolladas, bajo el microscopio de luz. Este resultado fue corroborado durante el segundo semestre de 2004, donde en una nueva siembra de tomates sobre suelo infestado se obtuvo plantas afectadas por carbón de la papa. Esta corresponde igualmente a la primera referencia demostrada en el mundo sobre la presencia de la enfermedad en este hospedero.

Este es un aspecto de gran connotación científica y técnica, debido a que resalta la necesidad de incorporar en el manejo de la enfermedad, el control o erradicación de estas dos malezas, particularmente en el caso de áreas cuarentenadas.

Esta actividad no tiene indicadores de éxito asociados, por no haber estado contemplada originalmente en el proyecto.

3.1.2.3.- Otro estudio complementario no contemplado originalmente en el proyecto, relacionado con la determinación del grado de dilución de un suelo infestado al cual la enfermedad pierde su capacidad de expresarse, fue desarrollado durante el año 2001 y 2002 en invernaderos controlados de INIA-Carillanca.

Las actividades y resultados de este estudio fueron descritos en los Informes Técnicos N°2, 4, 5 y 8.

Los resultados obtenidos concluyeron que el desarrollo de agallas se verificó solamente en los suelos con 100 y 50% del inóculo. En los suelos diluidos a valores inferiores a 25% de inóculo no se produjeron plantas visiblemente enfermas. Por otra parte, se observó una significativa diferencia y relación inversamente proporcional entre el tamaño de las agallas y el porcentaje de inóculo del suelo: 61.6 cm³ el amaño promedio de las agallas desarrolladas en el suelo sin diluir y con 100% de inóculo, y 3.4 cm³ en el suelo con el inóculo diluido a un 50%. Los resultados obtenidos en esta evaluación son interesantes, toda vez que sugieren que tratamientos al suelo capaces de disminuir en más de un 50% el inóculo del suelo, se traducirían en una buena alternativa de control para evitar la expresión de la enfermedad en suelos de áreas endémicas.

Este estudio permitió igualmente realizar evaluaciones preliminares del método de detección por PCR, observándose que el método es significativamente más sensible en la detección del patógeno que la expresión del mismo a través de síntomas en las plantas. Es decir, el método permite detectar una concentración de inóculo que es insuficiente como para producir síntomas en las plantas..

Esta actividad no tiene indicadores de éxito asociados, por no haber estado contemplada originalmente en el proyecto.

OBJETIVO ESPECÍFICO 4.- Realizar estudios tendientes al desarrollo de estrategias de control integrado para disminuir el impacto de la enfermedad en el área endémica de la IV Región.

Resultado Intermedio 4.1.-

Contar con al menos un fumigante de suelo que permita disminuir el daño por la enfermedad.

Resultado 4.1.1.-

Conocimiento sobre la efectividad del fungicida Enzone, bajo condiciones de invernadero.

4.1.1.1.- Ensayo con Enzone aplicado en diferentes épocas de siembra.

Los trabajos comprometidos originalmente en el proyecto, en relación al producto Enzone, fueron cumplidos el segundo semestre de 2001.

Las actividades y resultados fueron descritos en el Informe Técnico N°4.

El fungicida Enzone (tetratricarbamato de sodio) presentó un cierto grado de eficacia en disminuir los indicadores de infección en condiciones de invernadero, detectándose que en dosis de 2.000 ppm este producto logró disminuir significativamente el número y peso de los tumores y aumentar el número y peso de tubérculos por planta. Tal efecto se presentó

principalmente sobre el inóculo del suelo, pero no así en el inóculo presente dentro de los tubérculos.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Periodo de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.5.1 Conocimiento sobre la efectividad del fungicida Enzone bajo condiciones de invernadero	Producto con efectividad para disminuir el hongo del suelo	Obtención de al menos un 20% de disminución del daño por carbón	2.4.4	El producto tiene un comportamiento positivo sobre un 30% de disminución del daño de carbón	Enero 2001 a Agosto 2001

Este resultado intermedio se cumplió totalmente durante el periodo presupuestado, aún cuando la magnitud de la disminución del daño no llegó al 30%.

4.1.1.2. Ensayo de desinfección de semilla.

Un segundo resultado intermedio asociado a este Objetivo Específico N°4, y relacionado con la evaluación de diferentes desinfectantes de semilla y productos al suelo, fue desarrollado durante los años 2003 y 2004 en la IV Región.

Estas actividades y los resultados obtenidos fueron descritos en los Informes Técnicos N°14, 16, 17, 19 y 20. La mayor parte de este estudio se realizó en el sitio de ensayos de la localidad de Coquimbito. Sin embargo durante el último año, los estudios fueron realizados en tres suelos diferentes, dos de la localidad de Coquimbito y uno de Pan de Azúcar para asegurar un adecuado nivel de infección.

Los resultados obtenidos en a lo menos seis ensayos con los mismos productos químicos, señalaron que ninguno de ellos, sulfato de cobre (Phyton-27), benomyl (Benlate), flutriafol (Vincit Flo), fenbuconazole (Indar Flo), triticonazole (Real 200 SC), prochloraz + carbendazima (Sportak Alpha) y tebuconazole (Raxil 2% WS) resultaron efectivos en disminuir los indicadores de infección del carbón o aumentar los indicadores productivos, bajo condiciones de campo. Todos los tratamientos presentaron plantas que desarrollaron tumores en algunos de sus tubérculos. La presencia de tumores se detectó tanto en tubérculos con calibre comercial como en aquellos clasificados como deshecho. Los análisis estadísticos no detectaron efectos significativos de la desinfección de semillas sobre el porcentaje de plantas sanas (aquellas en que no se detectó ningún tubérculo afectado), como tampoco en el número de tubérculos enfermos por planta. Además, algunos de estos productos a la semilla como Sportak Alpha, Raxil 2 % WS y Vincit Flo, provocaron una disminución y/o atraso significativo en la emergencia de las plantas. Es interesante observar que a diferencia de los observado en la zona sur, ningún tratamiento fungicida logró disminuir en forma significativa la producción de inóculo.

En base a todos los antecedentes obtenidos en estas evaluaciones, es posible concluir que ninguno de los ingredientes activos existentes a la fecha en el mercado, presenta efectividad en disminuir los indicadores de infección y/o aumentar la productividad de las plantas en los suelos infestados con carbón de la IV Región. Si bien existe coincidencia en los resultados obtenidos tanto en la zona sur como en la zona norte, respecto al nulo aumento de la productividad por efecto de tratamientos a la semilla, no se aprecia lo mismo en cuanto a la disminución de la producción de inóculo. En efecto, en la zona sur, y por dos años consecutivos, se pudo observar la significativa disminución en la producción de agallas por efecto de a lo menos cuatro ingredientes activos.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Período de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.5.2 Conocimiento sobre la efectividad de diferentes fumigantes al suelo en la disminución del daño producido por el carbón de la papa bajo condiciones de parcelas experimentales en la IV región	Al menos un producto con efectividad en disminuir la infección del suelo	Obtención de al menos un 30% de disminución del daño por carbón	2.4.4	Al menos un producto tiene un comportamiento positivo sobre un 30% de disminución de daño por el carbón de la papa	Agosto 2001 a Enero 2003

Este resultado intermedio se cumplió totalmente, aunque fuera del período originalmente presupuestado, debido a la interferencia existente en el sitio de ensayos con nemátodo dorado y a la preocupación de cumplir completamente con este compromiso, lo que fue efectivamente logrado.

De acuerdo a los resultados obtenidos, esta actividad no alcanzó las expectativas en cuanto a la detección de algún producto químico que disminuyera el daño causado por la enfermedad, en los suelos de la IV Región. Si bien en los primeros ensayos hubo una baja infección o interferencia con un ataque de nemátodo dorado, los seis ensayos efectuados el año 2004 en tres localidades de la IV Región, si presentaron un nivel de infección suficientemente alto como para evaluar la respuesta de los tratamientos químicos.

Estos resultados manifiestan la complejidad del control químico de la enfermedad y las bajas expectativas de encontrar en el futuro inmediato en el mercado algún ingrediente activo que sea técnica y comercialmente adecuado. La ausencia de efectividad de los tratamientos a la semilla podría, significar que existen condiciones físico-químicas o biológicas del suelo de la zona norte que alteran la respuesta de los fungicidas frente a la enfermedad, o bien que la expresión de la enfermedad en el cv. Cardinal es muy alta como para apreciarse un efecto de los tratamientos químicos.

Por otra parte, estos resultados evidencian la necesidad de evaluar ingredientes activos y formulaciones bajo las condiciones de aplicación requeridas, ya que los resultados obtenidos en la zona sur difirieron significativamente de los obtenidos en la zona norte.

Resultado 4.1.2.- Conocimiento sobre la efectividad de diferentes fumigantes al suelo, en la disminución del daño producido por el carbón de la papa, bajo condiciones de parcelas experimentales en la IV Región.

4.1.2.1.- Evaluación de Enzone bajo condiciones de parcelas experimentales a campo.

Los trabajos comprometidos originalmente en el proyecto, en relación al producto Enzone, fueron cumplidos entre el segundo semestre de 2001 y el primer semestre de 2002.

Las actividades y resultados fueron descritos en los Informes Técnicos N°4 y 7.

Los resultados obtenidos, tanto en invernadero como en campo, indicaron una baja probabilidad de éxito del producto en un sistema de control de la enfermedad a campo. Si bien este producto logró disminuir el daño causado por la enfermedad, cuando se aplicó a tubérculos sanos sembrados en un suelo infestado en invernadero, las condiciones especiales de humedad y riego requeridas para su aplicación a campo, lo toman poco práctico para su empleo por parte de este tipo de agricultores. Si a lo anterior se suma el nulo efecto del producto sobre tubérculos infectados, se hace más evidente la baja probabilidad de llegar a ser empleado en siembras comerciales. Debido a lo anterior, se decidió discontinuar la evaluación de este producto a campo e incorporar otros fumigantes de suelo.

4.1.2.2.- Ensayo de fumigantes y fungicidas para el control de carbón al suelo.

Los trabajos comprometidos originalmente en el proyecto, en relación a este compromiso del Objetivo Específico N° 4, fueron cumplidos durante los años 2001 y 2002.

Las actividades y resultados se encuentran descritos en los Informes Técnicos N°4 y 15.

En relación a este estudio sobre la detección de potenciales productos fumigantes al suelo con efectividad en disminuir la infestación de carbón del suelo, sólo en dos de los 4 ensayos establecidos y evaluados con este propósito se obtuvo diferencias significativas entre los tratamientos con un sólo fumigante. El primero correspondió a una siembra de invierno en la cual el fumigante Basamid G logró reducir significativamente el porcentaje de tubérculos infectados (0,28%) en comparación al testigo sin fumigante (20%), pero no así la producción total de tubérculos. Por el contrario, en una siembra de verano, la más afectada por la enfermedad, el tratamiento con Basamid G logró incrementar el rendimiento total en un 54,5% y disminuir el porcentaje de tubérculos infectados de un 12 a un 1,6%, lo que representa el primer antecedente sobre la efectividad de este fumigante en la IV Región.

Fue interesante observar la inconsistencia de los resultados y la efectividad relativa del tratamiento con Basamid G en esta zona, situación totalmente opuesta a lo obtenido en la IX Región, donde este mismo producto logró controlar prácticamente en un 100% la infección de un suelo altamente infestado con carbón. En trabajos reportados por E. Torres en Perú, también se determinó una buena efectividad de Basamid sobre el carbón de la papa. Las diferencias observadas podrían deberse a alguna característica físico-química del suelo de la IV Región, que disminuya la efectividad o acción del producto, o bien el agua de riego la cual pudiera estar acarreado una alta cantidad de esporas del patógeno reinfestando el suelo tratado.

Si bien los resultados obtenidos en estos estudios lograron detectar a lo menos 1 producto con efectividad en disminuir el daño causado por el carbón de la papa en aplicaciones al suelo, su potencial empleo en siembras comerciales es nulo por el alto costo del tratamiento. Ninguno de los otros productos químicos (cercobin, Enzone) demostró similar efectividad bajo las condiciones en que fueron evaluados. El buen efecto inicial observado en el caso del producto Enzone bajo condiciones de invernadero, no fue consistente al ser empleado en suelo naturalmente infestado en campo.

Estos resultados, junto con los obtenidos en el caso de los desinfectantes de semilla, deja de manifiesto la complejidad de esta enfermedad y la necesidad de enfocar la estrategia de control hacia el desarrollo de variedades resistentes o tolerantes y prácticas culturales que disminuyan en forma efectiva el inóculo del suelo.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Periodo de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.5.2 Conocimiento sobre la efectividad de diferentes fumigantes al suelo en la disminución del daño producido por el carbón de la papa bajo condiciones de parcelas experimentales en la IV región	Al menos un producto con efectividad en disminuir la infección del suelo	Obtención de al menos un 30% de disminución del daño por carbón	2.4.4	Al menos un producto tiene un comportamiento positivo sobre un 30% de disminución de daño por el carbón de la papa	Agosto 2001 a Enero 2003

Este resultado intermedio se cumplió totalmente, aunque fuera del período originalmente presupuestado, debido a la interferencia existente en el sitio de ensayos con nemátodo dorado y a la preocupación de cumplir completamente con este compromiso, lo que fue efectivamente logrado.

4.1.2.3.- Cuantificación del daño causado por el carbón de la papa en la IV Región.

Esta actividad, relacionada con el Objetivo Específico N°4 y no presupuestada originalmente en el proyecto, fue desarrollada entre el segundo semestre de 2003 y fines del 2004. El objetivo fue determinar el nivel de pérdidas causado por el carbón de la papa en suelos naturalmente infestados de la IV Región. Si bien existen antecedentes sobre estimaciones de pérdidas, no hay información debidamente cuantificada.

Las actividades y resultados se encuentran descritos en los Informes Técnicos N° 18 y 22.

Los resultados obtenidos permitieron primeramente, corroborar los antecedentes que señalaban que la siembra de invierno era significativamente menos afectada que la siembra de verano, determinándose una pérdida de la productividad total de un 4,2%, contra un 35,3% de pérdida obtenida en la siembra de verano. En cuanto a la producción de tubérculos infectados, en la siembra de invierno se determinó en un 20% en base a peso, y en la siembra de verano un 12%.

Los resultados obtenidos en esta actividad son los primeros de que se disponen, debidamente evaluados y cuantificados, en relación a las pérdidas producidas por la enfermedad en un suelo naturalmente infestado de la IV Región. Los antecedentes son de gran importancia para la evaluación económica del cultivo, en la toma de decisiones relacionado con la oportunidad de siembra, en el análisis de beneficio-costos del control de la enfermedad, entre muchas otras.

Esta información, junto con las mismas determinaciones efectuadas en la zona sur, representan un significativo aporte del proyecto en el conocimiento del desarrollo y expresión de la enfermedad en el país, aportando datos debidamente evaluados.

Esta actividad no tiene indicadores de éxito asociados, por no haber estado contemplada originalmente en el proyecto.

Resultado Intermedio 4.2.-

Conocimiento de la expresión y desarrollo de la enfermedad, bajo condiciones de almacenaje.

Resultado 4.2.1.-

Conocimiento del desarrollo y expresión de la enfermedad, bajo condiciones de almacenaje en la IV y VIII regiones.

4.2.1.1.- Este resultado intermedio del Objetivo Específico N°4, fue completamente cumplido durante el año 2001.

Las actividades y resultados obtenidos fueron descritos en el Informe Técnico N°4.

Los resultados obtenidos en este estudio señalaron que existió a través del tiempo un aumento del tamaño de las agallas presentes en los tubérculos, independientemente del tamaño inicial de éstas. Además, se determinó que un 8.5% de los tubérculos seleccionados al inicio del trabajo como aparentemente sanos, desarrollaron agallas al cabo del almacenaje, con tamaños similares a los desarrollados por aquellos tubérculos visualmente infectados al inicio del estudio. No se detectó transmisión de la enfermedad entre tubérculos en condiciones de almacenaje.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Período de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.6.1 Conocimiento del desarrollo y expresión de la enfermedad bajo condiciones de almacenaje en la IV y VIII región.	Grado de avance de la enfermedad en bodega	Magnitud del crecimiento de los tumores y porcentaje de pérdidas en el tiempo	2.4.4	Existe diferencia en pérdidas de calidad comparado con tubérculos testigos sin infección	Enero 2001 a Abril 2003

Este resultado intermedio se cumplió muy adecuadamente en el plazo presupuestado.

Los antecedentes obtenidos en esta investigación son de gran relevancia, ya que la práctica corriente de los agricultores de dejar como semilla tubérculos aparentemente sanos no garantiza su sanidad al momento de la siembra, es decir luego de 3 o 4 meses de almacenaje. La información obtenida resalta el la necesidad de que los agricultores cuenten con tubérculos procedente de plantas sanas, desarrolladas en suelos sin antecedentes de carbón de la papa, para ser utilizados al momento de la siembra.

Resultado Intermedio 4.3.-

Conocimiento del efecto de tres distintas rotaciones de cultivo en la expresión y desarrollo de la enfermedad, bajo condiciones de campo.

Resultado 4.3.1.-

Conocimiento del efecto de tres distintas rotaciones de cultivo en la expresión y desarrollo de la enfermedad, bajo condiciones de campo.

4.3.1.1.- Las actividades relacionadas con este tercer resultado intermedio del Objetivo Específico 4, fueron desarrolladas durante los cuatro años de ejecución del proyecto.

Las actividades y resultados obtenidos se encuentran descritos en los Informes de Avance N° 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 19, 20 y 22.

Este estudio, muy relevante por su envergadura, estuvo relacionado con el establecimiento y evaluación de un monocultivo de papa y dos rotaciones con distintos cultivos típicos de la IV Región, el cual fue llevado durante los cuatro años de ejecución del proyecto. Las rotaciones fueron papa cada dos y cuatro años, intercalando cultivos como maíz, arvejas, pimentón, tomate, poroto, cebada, apio y repollo.

Desde el punto de vista técnico y contrario a lo esperado, ninguna de las rotaciones logró disminuir significativamente los indicadores de infección y aumentar los indicadores productivos, en relación al testigo monocultivo. Si bien en la primera evaluación del cultivo de papa cada dos años este tratamiento favoreció la obtención de rendimientos mas altos que aquellos obtenidos con el monocultivo (14.3 t/ha vs 1.8 t/ha respectivamente), estas diferencias se debieron más a un severo ataque de nemátodo dorado (*Globodera rostochiensis*) en las parcelas con monocultivo, que a un efecto sobre el carbón de la papa. En efecto, la expresión del carbón de la papa en un cultivo de primavera-verano, tanto en monocultivo como en papa cada dos años, fue alto. En ambos casos, cerca del 50% de las plantas cosechadas manifestaron la presencia de la enfermedad. En ambos casos también, más del 40% del peso de los tubérculos cosechados estuvieron atacados por la enfermedad, cifra altamente significativa desde el punto de vista de las pérdidas a la cosecha.

En la última evaluación del ensayo, con la siembra de papa en todos los tratamientos, los resultados señalaron una tendencia hacia la obtención de menores indicadores de infección y mayores indicadores productivos, en el caso de los tratamientos con papa cada dos y cuatro años, respecto del monocultivo. Sin embargo, el análisis estadístico señaló que tales diferencias no eran significativas, y por tanto el distanciamiento entre siembras de papas no se expresaba en una disminución del carbón.

De los resultados finales obtenidos en este estudio se pueden inferir a lo menos tres interpretaciones:

- a) la rotación de papa cada dos y cuatro años resultan insuficientes para contrarrestar el alto nivel de inóculo que parece existir en el suelo empleado, lo cual se deduce de los similares volúmenes de tubérculos enfermos obtenidos en cada uno de los tratamientos;
- b) que existe en el suelo seleccionado un alto nivel de inóculo el que, por efecto de su larga capacidad de supervivencia, va generando cada año una suficiente cantidad de inóculo activo que se traduce en una expresión suficientemente alta de la enfermedad, enmascarando el efecto de las rotaciones; o
- c) que el sistema de evaluación impide controlar la variable contaminación del suelo de cada parcela, lo cual puede ocurrir a través de las labores de riego, acarreado inóculo desde potreros y predios ubicados aguas arriba, repoblando con el hongo el suelo y enmascarando el posible efecto de las rotaciones. La ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos, tanto en las variables productivas como en las de infección, indican que todas fueron afectadas de igual forma por la enfermedad.

A pesar de lo anterior y desde el punto de vista económico, la secuencia de 6 cultivos de papa entre el invierno del 2001 y verano del 2004, generó un ingreso neto de \$

2.293.000/ha, mientras que una secuencia de cultivos de papa, tomate, apio, pimiento, papa y maíz dulce durante el mismo período, generó un ingreso neto de \$ 7.576.874/ha demostrando la importancia de programar y establecer adecuadamente una rotación de cultivos.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Período de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.7.1 Conocimiento del efecto de 3 distintas rotaciones de cultivo en la expresión y desarrollo de la enfermedad bajo condiciones de campo.	Rotación de cultivos de 3-4 años reduce significativamente la infección en el suelo, comparada con un sistema de cultivo tradicional	Disminución de la enfermedad en a lo menos un 20%, al cabo de rotaciones de 3-4 años de duración	2.4.4	Existe una disminución de un 20% en el porcentaje de pérdidas por efecto de una rotación de 3-4 años, comparadas con un testigo bajo sistema tradicional de cultivo de la zona	Abril 2001 a Enero 2005 (tiempo real)

Las actividades relacionadas con este resultado intermedio, presupuestadas para ser desarrolladas entre el mes de abril del 2001 y el año 2004, se cumplieron total y adecuadamente de acuerdo a lo establecido en el proyecto.

Sin embargo, el estudio no arrojó las conclusiones esperadas en cuanto a que un mayor número de años entre cultivos de papa se traduciría en una sustancial disminución de los indicadores de infección y un aumento del rendimiento y calidad de los tubérculos. La ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos, en todos los indicadores evaluados, señala que la enfermedad se presentó con similar intensidad al cabo de dos y cuatro años de papa.

Resultado Intermedio 4.4.-

Conocimiento del grado de tolerancia/resistencia de distinto germoplasma de papa frente a la enfermedad.

Resultado 4.4.1.-

Conocimiento del grado de tolerancia/resistencia de distinto germoplasma de papa frente a la enfermedad.

4.4.1.1.- Las actividades relacionadas con este tercer resultado intermedio del Objetivo Específico 4, fueron desarrolladas durante los cuatro años de ejecución del proyecto.

Las actividades y resultados se encuentran descritos en los Informes de Avance N°4, 5, 8, 10, 11, 14, 17, 19, 20 y 22.

Al igual que el resultado intermedio anterior ésta, relacionada con la evaluación de materiales de papa de diversa procedencia para detectar resistencia al carbón de la papa, representa una actividad muy importante y de grandes expectativas para el manejo futuro de la enfermedad. Los trabajos se centraron en la IV Región, con actividades paralelas en la VIII Región, en ambos casos en suelos altamente infestados con carbón de la papa. Las evaluaciones fueron realizadas en distintas épocas de cultivo durante todo el período del proyecto. Se evaluó un total de 67 segregantes provenientes de cruzamientos específicos para resistencia a Carbón de la papa y un ecotipo local, conocido como Doma, proveniente de Cobquecura en la VIII Región. Del total de segregantes evaluados, 41 correspondieron, en una primera etapa, a clones avanzados del Programa de Mejoramiento Genético de la Papa de INIA. Otros 26 clones de segunda generación fueron evaluados a partir del tercer año del proyecto, provenientes de cruzamientos en que alguno de los padres fueron las variedades Rosita o Revolución, material obtenido *in vitro* desde el CIP (Centro Internacional de la Papa) y conocidos por poseer características de resistencia genética al carbón de la papa.

Como resultado de estos estudios, 7 clones y el ecotipo local Doma presentaron total ausencia de síntomas de la enfermedad en plantas y tubérculos durante todas las evaluaciones realizadas. Los clones fueron: RG 107-3; RG 61-18; RG 108-6; RA 110-5; RD 11-1; RD 31-1 y RD 11-2. En los clones RG, algunos de los padres fueron los cultivares Revolución o Rosita, en tanto que en los cuatro clones restantes, uno de los padres fue Mirka y en dos de ellos el padre fue el clon R 82363-3.

Los resultados obtenidos en estos cuatro años de estudio permiten concluir que hay efectivamente fuentes de resistencia a la enfermedad y que lo más probable es que la resistencia se transmita por genes mayores. Este mecanismo es de alta heredabilidad por tanto, intensificando el trabajo de mejoramiento genético, será posible en el futuro cercano contar con variedades resistentes.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Período de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.8.1 Conocimiento del grado de tolerancia/resistencia de distinto germoplasma de papa frente a la enfermedad.	Al menos un 10% del germoplasma evaluado logra una infección significativamente inferior al testigo Cardinal	Un 10% del germoplasma evaluado presenta un 50% de menor infección comparada con el testigo Cardinal	2.4.4	Existe disminución de un 20% en el porcentaje de pérdidas por efecto del germoplasma con mayor tolerancia a la enfermedad	Octubre 2001 a Mayo 2004

En base a los indicadores de éxito, este compromiso se cumplió total y exitosamente dentro del plazo propuesto, obteniéndose información inédita y de alto valor para un eventual

programa de mejoramiento enfocado al desarrollo de materiales adaptados a los requerimientos de foto periodo y calidad del país. La respuesta observada en forma reiterada en varios de los materiales mencionados, en cuanto a la ausencia de infección, constituye un aval suficiente para confirmar que tales materiales poseen efectivamente resistencia a la enfermedad y por tanto no están sujetos a pérdidas de productividad por esta patología.

4.4.1.2.- Evaluación de resistencia a carbón en variedades comerciales de papa.

Este estudio, no contemplado originalmente en el proyecto, fue desarrollado durante el segundo semestre de 2004 en la IV Región, con el propósito de evaluar algunos cultivares comerciales de papa empleados actualmente en la zona.

La metodología y manejo de estos estudios, realizados en el sitio de ensayos de la localidad de Coquimbó y en la Parcela Experimental Pan de Azúcar de INIA-Intihuasi, ambos en la IV Región, fueron detalladamente descritos en el Informe Técnico N° 22.

Los resultados obtenidos de este estudio, donde se evaluaron 6 cultivares comerciales de papa frente al carbón de la papa, fueron particularmente interesantes, puesto que se detectó lo que parece ser una alta resistencia en el cultivar Asterix, cuyos progenitores son Cardinal (madre) y VE 70-9 (padre). Este cultivar fue el único que en ambas localidades registró el 100% de sus tubérculos sanos. Por otra parte, se observó que el cultivar Pukara-INIA presentó entre un 97-99% de sus tubérculos con síntomas de carbón, comportándose como el más susceptible de los 6 cultivares evaluados. Los restantes cultivares, Desirée, Yagana, Cardinal y Karu-INIA tuvieron un comportamiento intermedio, aunque todos ellos registraron sobre un 50% de tubérculos enfermos en ambas localidades.

Los resultados obtenidos en este estudio son los primeros antecedentes referidos a la evaluación simultánea de cultivares comerciales de papa, en suelos con una alta infestación de carbón de la papa. El comportamiento del cultivar Asterix, el que en ambas localidades registró cero tubérculo infectado, tiene particular interés por representar el primer antecedente debidamente cuantificado y consistente, sobre un cultivar de la especie *tuberosum* resistente al carbón de la papa. Además, la detección de este material, cuyo comportamiento deberá ser corroborado, identifica un cultivar comercial de piel roja, semi tardío, con excelente propiedades para la industria de papas fritas y también para fresco, como potencial progenitor en un programa de mejoramiento con vistas al desarrollo de cultivares resistentes al carbón de la papa

Esta actividad no tiene indicadores de éxito asociados, por no haber estado contemplada originalmente en el proyecto.

OBJETIVO ESPECÍFICO 5.-

Educar y difundir ampliamente a nivel de agricultores y técnicos, sobre la problemática que representa esta patología.

Resultado Intermedio 5.1.-

Realizar una amplia difusión del problema entre agricultores y técnicos de las áreas afectadas, habiendo traspasado el conocimiento necesario para reconocer e identificar la enfermedad, y prevenir su diseminación.

Resultado 5.1.1.-

Realización de 8 charlas técnicas dirigidas a agricultores, técnicos y profesionales, sobre la enfermedad, diagnóstico y prevención.

5.1.1.1.- Las actividades relacionadas con este tercer resultado intermedio del Objetivo Específico 5, fueron desarrolladas durante los cuatro años de ejecución del proyecto.

Las actividades y resultados se encuentran descritas en los Informes de Avance N° 2, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 19, 21 y 22.

En relación a las actividades relacionadas con la difusión del proyecto, durante estos cuatro años de ejecución se organizaron y realizaron 18 charlas técnicas en la IV, IX y VIII regiones, con agricultores, técnicos y profesionales en las cuales se presentaron los objetivos, actividades, avances y logros del proyecto a nivel regional y nacional. En estas 18 charlas técnicas participaron alrededor de 570 personas. Además se efectuaron 3 presentaciones con las actividades y resultados del proyecto en 3 seminarios y ferias regionales.

Siempre en relación al mismo objetivo, durante estos cuatro años se organizaron y efectuaron 3 días de campo en la IV Región y 1 seminario en la IX Región, con la participación de alrededor de 240 personas.

En cuanto a la presentación de trabajos de investigación en congresos científicos y seminarios, durante estos cuatro años se presentaron en forma oral 11 trabajos de investigación en los congresos de la Sociedad Chilena de Fitopatología, 2 presentaciones orales y 3 póster en el congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa.

Respecto de publicaciones divulgativas y difusión en medios de comunicación audiovisuales, durante los cuatro años de ejecución del proyecto se publicaron dos artículos divulgativos en la revista Tierra Adentro, se editaron dos cartillas divulgativas y 1 boletín técnico para el reconocimiento y prevención de la enfermedad, se dieron 3 entrevistas radiales, dos publicaciones en periódicos, y un reportaje en Televisión Nacional sobre la enfermedad y el proyecto.

Todas estas actividades tuvieron por objetivo dar a conocer a los agricultores, técnicos y profesionales de la IV y IX Regiones, la ejecución de este proyecto y los significativos logros obtenidos, los que van en directo beneficio de ellos, así como también las actividades que se desarrollarían en las distintas regiones. De esta forma se...

propia contribución en todas las actividades divulgativas a organizar, y también en aquellas en que se requería su buena disposición y cooperación como son las prospecciones en sus predios y la detección de plantas sospechosas.

Las presentaciones de resultados originales generados por el proyecto en los congresos científicos, lograron poner a disposición de la comunidad científica nacional e internacional participante, resultados inéditos sobre esta enfermedad y su agente causal, así como también dar a conocer los esfuerzos del país por revertir los serios problemas que ésta causa, y las capacidades existentes para resolverlos así como para desarrollar productos de última generación como las metodologías de detección por PCR e inmunología.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Periodo de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.9.1 8 charlas técnicas dirigidas a agricultores, técnicos y profesionales, sobre la enfermedad, diagnóstico y prevención	Aumento del conocimiento entre agricultores y técnicos sobre el carbón de la papa	Entrega de conocimiento sobre la enfermedad a 400 agricultores de la IV y IX regiones	2.4.5	Informe con realización de las 8 charlas con asistencia de a lo menos 50 participantes en cada una	Marzo a Junio de cada año por los 4 años del proyecto

Estas actividades se cumplieron total y exitosamente, incluso mucho más allá de lo originalmente presupuestado en el proyecto.

Resultado Intermedio 5.2.-

Edición de al menos dos boletines técnicos conteniendo los resultados de este proyecto y las normas de manejo resultantes para prevenir la pérdida de productividad y calidad del cultivo de la papa en las áreas afectadas.

Resultado 5.2.1.-

Edición de dos boletines técnicos: uno sobre la enfermedad, reconocimiento y control, y otro sobre los resultados del proyecto y manejo del cultivo para disminuir las pérdidas por el carbón de la papa..

5.2.1.1.- Las actividades relacionadas con este segundo resultado intermedio del objetivo específico 5, estaban presupuestadas para ser realizadas una, entre abril del 2002 y noviembre del 2003, y la segunda éntre agosto y fines del 2004. Sin embargo, por las razones explicadas en la nota del 05 de noviembre de 2002, al Director Regional del SAG IX Región y a la Encargada Regional del Fondo SAG, y a los acuerdos tomados posteriormente relacionados con la necesidad de publicar artículos científicos con los resultados inéditos generados por el proyecto previo a su divulgación técnica, y también

debido a la amplia difusión que se ha efectuado tanto de los aspectos de reconocimiento y prevención de la enfermedad como de las actividades del proyecto, es que se modificaron tales compromisos. De esa forma, las actividades comprometidas comprendieron la edición y publicación de dos artículos científicos, y la edición de dos boletines técnicos. Sin embargo esto último, producto de un nuevo acuerdo con el Fondo SAG y el significativo mejoramiento de este compromiso, se tradujo finalmente en la edición de un libro sobre la enfermedad, conteniendo mayoritariamente los resultados del proyecto.

Con relación a las publicaciones científicas, se editó y publicó el artículo científico "Characterization, *in vitro* culture, and molecular analysis of *Thecaphora solani*, the causal agent of potato smut" en el número del mes de agosto de 2004 de la revista *Phytopathology*, una de la más prestigiosas revista científica del ámbito fitopatológico, el cual contiene resultados de algunos de los compromisos del proyecto. Esta publicación constituye un importantísimo logro del proyecto puesto que representa el tercer artículo chileno publicado en esta revista en los últimos 26 años.

Un segundo artículo científico se espera tenerlo finalizado y en proceso de publicación, una vez se inscriba la patente del desarrollo de un método basado en PCR para la detección de *T. solani*. Esto, debido al acuerdo tomado respecto de prevenir la objeción al patentamiento aludido, producto de la divulgación de la invención.

Finalmente, coincidiendo con el término del proyecto y producto de una modificación de uno de los compromisos en acuerdo con el Fondo SAG, se concretó una importantísima actividad como fue la edición y publicación del libro "El Carbón de la papa, Avances en la etiología y control de la enfermedad" el que en sus 13 capítulos y 200 páginas contiene prácticamente toda la información existente a la fecha en el mundo sobre esta enfermedad y su agente causal, de la cual más del 75% corresponde a conocimiento generado por el proyecto.

Indicadores de éxito de este resultado, según el proyecto original.-

Nombre del resultado	Descripción		Objetivo específico asociado	Indicadores de éxito	Período de ocurrencia
	Cualitativa	Cuantitativa			
2.5.1.10.1 2 boletines técnicos. Uno sobre la enfermedad, reconocimiento y control, y otro sobre los resultados del proyecto y manejo del cultivo para disminuir las pérdidas por el carbón de la papa	Incremento del conocimiento sobre diagnóstico y prevención de la enfermedad a nivel de agricultores y técnicos	Entrega de conocimientos sobre el diagnóstico y prevención de la enfermedad a 1.200 agricultores entre la IV y X regiones.	2.4.5	Lista con la edición de 2 boletines y distribución de 1.500 ejemplares	Abril 2002 a Noviembre 2002 y Agosto 2004 a Marzo 2005 (tiempo real)

Este resultado intermedio se cumplió total y exitosamente, incluso más allá de lo presupuestado originalmente, en acuerdo con el Fondo SAG y producto de los

significativos logros del proyecto y el sustancial mejoramiento que significaba la modificación de este compromiso.

c) Comparación entre las actividades programadas y efectuadas.-

Los antecedentes respecto de este punto se entregan en el siguiente cuadro:

OBJETIVO	ACTIVIDADES PROGRAMADAS	ACTIVIDADES EFECTUADAS	COMENTARIOS
Gestión del Proyecto	Entrega de los Informes Técnicos de Avance y Administrativos-Contable comprometidos.	Se entregaron en total 23 Informes Técnicos de Avance(11 Trimestrales, 8 semestrales y 4 Anuales), y 8 Informes Administrativo-Contables.	Cumplido.
	Reuniones de trabajo con los equipos de investigación del proyecto.	Se realizaron 10 reuniones técnicas con los equipos de investigación del proyecto, y supervisores y profesionales del SAG, en La Serena, Santiago y Temuco.	Cumplido.
	Otras actividades atinentes a la gestión del proyecto.	Se arrendó un sitio de 0,5 ha para los ensayos ejecutados en la IV Región, de propiedad del agricultor Sr. Herman Galleguillos C., ubicado en el sector Coquimbito, provincia de Elqui. Se contrató al mismo dueño del predio para los trabajos a desarrollar en ese sitio. Se contrató una ayudante de laboratorio para las actividades comprometidas en la zona sur. Se adquirieron los equipos y bienes justificados y aprobados por el proyecto. Se gestionó y concretó la visita de los Dres. Ueli Merz, del Institute of Plant Sciences (ETHZ) de Zurich, Suiza, durante el año 2001, y Dominik Begerow de la Universidad Eberhard-Karl de Tübingen,	

<p>Objetivo Específico I.</p> <p>Determinar en forma precisa los predios y sectores actualmente afectados en las áreas cuarentenadas de la VIII y IX regiones, a través de herramientas desarrolladas con el apoyo de técnicas inmunológicas y de biología molecular.</p>	<p>Evaluar medios y condiciones de cultivo <i>in vitro</i> de <i>A. solani</i>.</p>	<p>Alemania, durante el año 2002, invitados por el proyecto para apoyar los trabajos de desarrollo de metodologías específicas de detección del patógeno, los estudios taxonómicos basados en biología molecular que se están desarrollando en el proyecto, y el empleo de los diferentes paquetes computacionales para analizar las secuencias de ADN.</p> <p>Se efectuó un taller teórico-práctico sobre uso de anticuerpos, los días 13 y 14 de enero de 2004, organizado por la empresa asociada BIOSONDA, como parte de la finalización de sus compromisos con el Proyecto. La actividad se realizó, en sus laboratorios en Santiago.</p> <p>En el mes de abril de 2004, BIOSONDA S.A. hizo entrega a INIA-Carillanca, del material generado como parte de sus compromisos con el Proyecto.</p>	<p>Se cumplió completa y exitosamente este objetivo durante el año 2001.</p>
	<p><i>A. solani</i> identificado mediante una reacción de PCR</p>	<p>Se evaluaron diferentes medios de cultivo, se optimizó la extracción y purificación de teliosporas de <i>T. solani</i>, se obtuvo crecimiento <i>in vitro</i> del hongo en medios sólidos y líquidos, se estudió la ultraestructura de las teliosporas al microscopio electrónico.</p>	<p>Se amplió, purificó, clonó y secuenció completamente la región ribosomal ITS1-5.8S-ITS2 de <i>T. solani</i>, se</p>
		<p>Se amplió, purificó, clonó y secuenció completamente la región ribosomal ITS1-5.8S-ITS2 de <i>T. solani</i>, se</p>	<p>Se cumplió exitosa y completamente este objetivo hacia fines del año 2002.</p>

(Cont. Específico 1)	Objetivo	
<p>Sistema de detección inmunológico de <i>A. solani</i>. Empresa asociada BIOSONDA.</p>	<p>Se indujeron reacciones inmunológicas en ratas inyectadas con teliosporas purificadas, se obtuvieron anticuerpos policlonales anticuerpos monoclonales, 52 hibridomas que reaccionaron contra proteínas de teliosporas y 8 hibridomas que reaccionaron con componentes superficiales de teliosporas. Se efectuaron las primeras pruebas con los anticuerpos policlonales de conejo, los que presentaron reacción cruzada con antígenos presentes en otros hongos, se obtuvieron y analizaron proteínas asociadas a la superficie de las teliosporas de <i>T. solani</i>, se obtuvieron 14 anticuerpos de alta</p>	<p>diseñaron y evaluaron diversos partidores, se desarrolló exitosamente un ensayo PCR, se optimizó el proceso de extracción de ADN, se incrementó la sensibilidad del método a través de un PCR anidado, se determinó la sensibilidad, se evaluó con muestras de plantas, tubérculos y suelo y se concluyó con el exitoso desarrollo de un método de detección de <i>T. solani</i> de alta sensibilidad y efectividad.</p> <p>Además se secuenció y analizó la región 5' LSU de <i>T. solani</i> y se evaluó su empleo potencial con fines taxonómicos y de identificación molecular, contribuyendo a clarificar la posición taxonómica del patógeno.</p> <p>Se cumplió exitosa y completamente este objetivo hacia fines del año 2002.</p>

(Cont. Especifico I)	Objetivo	
<p>Actividad no programada para este objetivo en el proyecto original.</p> <p>Estudio de la estructura poblacional de <i>T. solani</i>, por medio de AFLP.</p>	<p>especificidad contra <i>T. solani</i>, los cuales no tuvieron reacción cruzada con antígenos. Finalmente, se obtuvieron anticuerpos monoclonales los que, a través de diversos análisis resultó en la identificación de dos líneas, denominados 3A7 y 3B4, ambos perteneciente a la clase IgM. Además, se logró el desarrollo de un ensayo de inmunofluorescencia indirecta para <i>T. solani</i>, y un test ELISA para <i>T. solani</i>.</p> <p>Producto de lo anterior, se dispone de una reacción inmunológica específica para detectar <i>T. solani</i>, desde diferentes sustratos.</p> <p>Finalmente se hizo entrega a INIA Carillanca durante el mes de abril de 2004, de los productos generados y de las metodologías para su empleo.</p>	<p>Cumplido más allá de lo presupuestado originalmente en el proyecto.</p>
<p>Se caracterizaron molecularmente 7 aislamientos de <i>T. solani</i> provenientes de diferentes zonas del país. Se encontró una alta homología, excepto en un aislamiento de Pan de Azúcar, IV Región.</p> <p>Además, se efectuaron estudios filogenéticos de <i>T. solani</i> con la secuenciación del extremo 5' del gen de la unidad ribosomal grande (LSU rDNA), concluyéndose su alta homología con la especie <i>Thecaphora</i> y su correcta identificación original como <i>T. solani</i>.</p>		

<p>(Cont. Especifico 1)</p> <p>Objetivo</p>	<p>Contratación y capacitación de equipos para trabajo en las prospecciones en la localidad Carahue-Puerto Saavedra, IX Región, y en la localidad de Cañete, VIII Región.</p>	<p>Se contrató y capacitó en la identificación de agallas en plantas y tubérculos afectados por carbón de la papa, y en los métodos de prospección, a 2 equipos de trabajo, para las prospecciones de la IX y VIII regiones.</p>	<p>Cumplido totalmente.</p>
	<p>Prospecciones del área de riesgo primario de la IX Región.</p>	<p>Se cumplió con la prospección del área de Riesgo Primario de la IX Región, y del sector de Cañete en la VIII Región.</p> <p>Se prospecció un total de 2.011,7 ha en el área de riesgo primario de la IX Región, en 1.379 predios o potreros, detectándose 23 nuevos focos de carbón de la papa que involucran aproximadamente 34 ha. Respecto de la zona de Cañete, VIII Región, durante estos cuatro años se prospecció un total de 489,9 ha, en 166 predio o potreros, sin detectarse focos de infección en esa zona.</p> <p>Todos los predios prospeccados durante estos cuatro años en el área de riesgo primario de la IX Región, fueron georeferenciados lo cual permitió confeccionar los mapas con los predios positivos y negativos.</p>	<p>Cumplido total y exitosamente, mucho más allá de lo presupuestado originalmente.</p>
<p>Actividad no programada para este objetivo en el proyecto original.</p> <p>Evaluación de métodos de inducción artificial de agallas en plantas de papa.</p>		<p>Se realizaron tres pruebas de inoculación artificial de plantas de papa en distintos estados de desarrollo, con masa micelial y micelio de <i>T. solani</i> obtenido en laboratorio, con el propósito de poder establecer un sistema controlado de inducción</p>	<p>Los resultados sugieren estudiar condiciones requeridas por el patógeno para inducir tumores, particularmente tejidos del hospedero, y luminosidad y temperatura.</p>

(Cont. Específico 1) Objetivo		artificial de la enfermedad. Sin embargo, estas pruebas no resultaron exitosas.	Cumplido mucho más allá de lo presupuestado originalmente.
Objetivo Específico 2. Validar la efectividad de fumigantes de suelo en la eliminación del patógeno en aplicaciones semi comerciales, sobre suelo infestado en la IX región.	Actividad no programada para este objetivo en el proyecto original. Aislamiento de <i>T. solani</i> desde tomatillo.	Se logró por primera vez aislar <i>T. solani</i> desde agallas desarrolladas en tomatillo (<i>S. furcatum</i> L.). Este significativo logro podría terminar con la dependencia de las teliosporas, y su difícil germinación <i>in vitro</i> , para la obtención del hongo patógeno.	Cumplido.
	Establecimiento de siembra de papas para homogenizar la infección en el sitio de ensayos de Carahue.	Estas actividades se cumplieron adecuadamente durante los dos primeros años de ejecución del proyecto.	Cumplimiento más allá de lo presupuestado.
	Actividad no programada para este objetivo en el proyecto original. Obtener a lo menos un fumigante de suelo con buena efectividad para eliminar el patógenos del suelo en tratamientos semi comerciales.	Se determinó en un estudio preliminar para adelantar información, un 100% de disminución de la expresión de la enfermedad, con dos fumigantes, dazomet y metiam sodio, aumentando significativamente el rendimiento de papas. Se determinó una buena efectividad del fumigante Basamid G y una baja efectividad de Metam Sodio. Se detectó un cierto grado de escape localizado en el caso de Basamid, lo cual pudiera deberse a aspectos técnicos más que al producto mismo. Se determinó igualmente que la residualidad del tratamiento al suelo con Basamid G se profundó a	Cumplido total y exitosamente de acuerdo a lo establecido originalmente.

(Cont. Específico 2.)	Objetivo	<p>un segundo año, aunque que con escapes que generaron un 1,36% de plantas enfermas.</p> <p>Por tanto se cuenta con al menos un fumigante de suelo, con una buena efectividad como para ser empleado en un eventual plan de erradicación del carbón de la papa, en el área de riesgo primario de la IX Región.</p>	
	<p>Actividad no programada para este objetivo en el proyecto original.</p> <p>Evaluación de 9 desinfectantes de semilla en el control del carbón de la papa, en el sitio de ensayos de Carahue.</p>	<p>Se detectó a lo menos tres desinfectantes de semilla (Flutriafol, fenbuconazole y benomyl) con una efectiva acción de control de la enfermedad, disminuyendo los indicadores de infección, y aumentando el rendimiento.</p>	<p>Cumplido más allá de lo presupuestado originalmente en el proyecto.</p>
<p>Objetivo Específico 3.</p> <p>Conocer el potencial de daño de la enfermedad y el efecto del origen de la semilla en la expresión de la misma.</p>	<p>Establecer un ensayo de evaluación de la pérdida de rendimiento en la zona de Carahue.</p>	<p>Las pérdidas determinadas fueron muy similares en ambas temporadas, con valores que fluctuaron entre un 31 y 34% en el rendimiento total, y 50,9 a 52,5% en el rendimiento de la categoría consumo.</p>	<p>Se cumplió total y exitosamente este compromiso según lo presupuestado en el proyecto.</p>
	<p>Conocimiento del efecto del origen de la semilla, en la expresión de la enfermedad.</p>	<p>Se determinó que el porcentaje de transmisión de la enfermedad por tubérculos infectados, posible de verificar visualmente, varió entre un 30 y 8,5%. Sin embargo, este valor aumentó a 44% al detectarse por PCR plantas asintomáticas enfermas.</p> <p>Por otra parte, se verificó que el empleo de tubérculos infectados como semilla se traduce en una disminución de la productividad de las plantas que puede variar entre un 34 y 80% en la</p>	<p>Cumplido total y exitosamente de acuerdo a lo presupuestado originalmente.</p>

(Cont. Especifico 3.)	Objetivo	categoría consumo.	
<p>Actividad no programada para este objetivo en el proyecto original.</p> <p>Identificación de hospederos de <i>T. solani</i> en Chile.</p>	<p>Se identificó a chamico (<i>D. stramonium</i> L.), tomatillo (<i>S. furcatum</i> L.) y tomate (<i>L. sculentum</i> M.) como hospederos de <i>T. solani</i> en Chile. Se determinó la identidad genética del agente causal por AFLP y PCR.</p> <p><i>S. furcatum</i> representa una nueva determinación como hospedero de este patógeno. En el caso de tomate, es la primera referencia para el país, y la primera referencia demostrable a nivel mundial como hospedero de <i>T. solani</i>.</p> <p>No se observó infección de <i>T. solani</i> en tabaco.</p>	<p>Otro de los resultados significativos fue la verificación de la transmisión de la enfermedad a través de tubérculos asintomáticos, y también a través de plantas asintomáticas que producen tubérculos infectados.</p>	<p>Cumplimiento más allá de lo presupuestado en el proyecto.</p>
<p>Actividad no programada para este objetivo en el proyecto original.</p> <p>Evaluación de la dilución de un suelo infestado con carbón de la papa, a la cual la enfermedad pierde la capacidad de expresarse.</p>	<p>Se observó el desarrollo de agallas solamente en los suelos con 100 y 50% del inóculo. En los suelos diluidos a valores inferiores a 25% de inóculo no se produjeron plantas visiblemente enfermas.</p> <p>Por otra parte, se observó una significativa diferencia y relación inversamente proporcional entre el tamaño de las agallas y el porcentaje de inóculo del suelo.</p>	<p>Cumplimiento más allá de lo presupuestado en el proyecto original.</p>	<p>Cumplimiento más allá de lo presupuestado en el proyecto original.</p>

<p>(Cont. Especifico 3.)</p>	<p>Los resultados sugieren que tratamientos al suelo capaces de disminuir en más de un 50% el inóculo del suelo, se traducirían en una buena alternativa de control para evitar la expresión de la enfermedad en suelos de áreas endémicas.</p>	<p>Cumplido más allá de lo presupuestado en el proyecto original.</p>
<p>Objetivo Especifico 4. Realizar estudios tendientes al desarrollo de estrategias de control integrado para disminuir el impacto de la enfermedad en el área endémica de la IV región.</p>	<p>El producto Enzone (tetraiocarbamato de sodio), logró disminuir el número y peso de agallas por planta y aumentar el número y peso de tubérculos por planta cuando se evaluó en invernadero. Sin embargo, en campo no logró similares resultados lo cual, sumado a la forma de aplicación requerida en campo por riego localizado, lo torna en un producto difícilmente adaptable al cultivo de la papa.</p>	<p>Cumplido muy adecuadamente, aunque sin detectarse productos técnicos y comercialmente efectivos.</p>
<p>Conocimiento sobre la efectividad de diferentes fumigantes al suelo, en la disminución del daño producido por el carbón de la papa, bajo condiciones de parcelas experimentales en la IV Región.</p> <p>Establecimiento de un ensayo de campo para conocer la efectividad de diferentes tratamientos químicos al suelo en el control de la enfermedad.</p>	<p>Los resultados obtenidos lograron detectar a lo menos 1 producto (Basamid G) con efectividad en disminuir el daño causado por el carbón de la papa en aplicaciones al suelo. Sin embargo, su potencial empleo en siembras comerciales es nulo por el alto costo del tratamiento. Ninguno de los otros productos químicos (cercobin, Enzone) demostró similar efectividad bajo las condiciones en que fueron evaluados.</p>	<p>Cumplido más allá de lo presupuestado originalmente en el proyecto.</p>
<p>Actividad no programada para este objetivo en el proyecto original.</p> <p>Evaluación de</p>	<p>Los trabajos efectuados no lograron detectar diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, señalando que</p>	<p>Cumplido más allá de lo presupuestado originalmente en el proyecto.</p>

<p>(Cont. Especifico 4). Objetivo desinfectantes de semilla, bajo condiciones de campo.</p>	<p>la desinfección de semilla, con los productos actualmente disponibles en el mercado, no son efectivos en disminuir el daño causado por la enfermedad. Si bien uno de los productos, Enzone (tetraiocarbamato de sodio), logró cierto efecto en invernadero, ninguno de los demás productos, sulfato de cobre (Phyton-27), benomyl (Benlate), flutriafol (Vincit Flo), fenbuconazole (Indar Flo), triticonazole (Real 200 SC), prochloraz + carbendazima (Sportak Alpha) y tebuconazole (Raxil 2% WS) resultaron efectivos bajo condiciones de campo.</p>	
<p>Actividad no programada para este objetivo en el proyecto original. Cuantificación de las pérdidas causadas por el carbón de la papa en suelos infestados de la IV Región.</p>	<p>Se corroboraron los antecedentes del menor impacto de la enfermedad en la siembra de invierno respecto de la de verano, determinándose una pérdida de la productividad total de un 4,2%, contra un 35,3% de pérdida obtenida en la siembra de verano. En la siembra de invierno se determinó en un 20% de tubérculos infectados, y un 12% en la siembra de verano.</p>	<p>Cumplido más allá de lo presupuestado originalmente en el proyecto.</p>
<p>Establecimiento de un ensayo de almacenaje en las regiones IV y VIII.</p>	<p>Los resultados detectaron un aumento del tamaño de las agallas presentes en los tubérculos en el tiempo, independientemente del tamaño inicial de éstas. Además, se determinó que un 8.5% de los tubérculos seleccionados al inicio del trabajo como aparentemente sanos,</p>	<p>Cumplido total y exitosamente de acuerdo a lo presupuestado originalmente.</p>

(Cont. Especifico 4). Objetivo	desarrollaron agallas al cabo del almacenaje, con tamaños similares a los desarrollados por aquellos tubérculos visualmente infectados al inicio del estudio. No se detectó transmisión de la enfermedad entre tubérculos en condiciones de almacenaje.	Cumplido muy adecuadamente según lo presupuestado.
Establecimiento de un ensayo para conocer el efecto de tres distintas rotaciones de cultivo sobre el desarrollo de la enfermedad en la IV Región.	Ninguna de las rotaciones evaluadas, papa cada dos y cuatro años, intercalando cultivos como maíz, arvejas, pimentón, tomate, poroto, cebada, apio y repollo, logró desde el punto de vista técnico disminuir significativamente los indicadores de infección y aumentar los indicadores productivos, en relación al testigo monocultivo. Esto, a pesar de las tendencias observadas en contrario. Sin embargo, desde el punto de vista económico, la rotación de cultivos generó un ingreso equivalente a casi 3 veces el generado por el monocultivo de papa.	Ninguna de las rotaciones evaluadas logró disminuir el efecto de la enfermedad en forma significativa, respecto del monocultivo.
Conocimiento del grado de tolerancia/resistencia de distinto germoplasmas de papa frente a la enfermedad. Establecer un ensayo con el material de papa seleccionado para evaluar su comportamiento frente a la enfermedad, en un suelo altamente infestado.	Los resultados se tradujeron en la detección de 7 clones y el ecotipo local Doma con total ausencia de síntomas de la enfermedad en plantas y tubérculos durante todas las evaluaciones realizadas. Los clones fueron: RG 107-3; RG 61-18; RG 108-6; RA 110-5; RD 11-1; RD 31-1 y RD 11-2. En los clones RG, algunos de los padres fueron los cultivares Revolución o Rosita, en tanto que en los cuatro	Cumplido total y exitosamente según lo presupuestado en el proyecto. Los resultados obtenidos en estos cuatro años de estudio permiten concluir que hay efectivamente fuentes de resistencia a la enfermedad.

<p>(Cont. Especifico 4).</p> <p>Objetivo</p>	<p>clones restantes, uno de los padres fue Mirka y en dos de ellos el padre fue el clon R 82363-3.</p>	<p>Cumplido más allá de lo presupuestado originalmente.</p> <p>La información obtenida es altamente relevante puesto que no sólo identifica un cultivar comercial como altamente resistente, sino que además tal cultivar es de la especie <i>tuberosum</i> constituyéndose en la primera evidencia de resistencia en esta especie.</p>
<p>Objetivo Especifico 5.</p> <p>Educar y difundir ampliamente a nivel de agricultores y técnicos sobre la problemática que representa esta patología</p>	<p>Se organizaron y realizaron 18 charlas técnicas en la IV, IX y VIII regiones, en las cuales participaron alrededor de 570 personas. Además se efectuaron 3 presentaciones con las actividades y resultados del proyecto en 3 seminarios y ferias regionales, se efectuaron 3 días de campo en la IV Región y 1 seminario en la IX Región, con la participación de alrededor de 240 personas.</p> <p>Se presentaron en forma oral 11 trabajos de investigación en los congresos de la Sociedad Chilena de Fitopatología, 2 presentaciones orales y 3 póster en el congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa.</p> <p>Se publicaron dos artículos divulgativos en la revista Tierra Adentro, se editaron dos cartillas</p>	<p>Cumplido mucho más allá de lo presupuestado originalmente.</p>

<p>(Cont. Especifico 5.)</p> <p>Objetivo</p>	<p>Edición de dos boletines técnicos programada para los años 2002 y 2004. Actividades comprometidas para ser cumplidas entre abril y noviembre de 2002.</p>	<p>divulgativas y 1 boletín técnico para el reconocimiento y la prevención de la enfermedad. Se dieron 3 entrevistas radiales, dos publicaciones en periódicos, y un reportaje en Televisión Nacional sobre la enfermedad y el proyecto.</p>	<p>Se solicitó la modificación de este compromiso, postergándolo para el año 2004, una vez publicados los artículos científicos.</p> <p>Los nuevos compromisos se cumplieron total y exitosamente, incluso más allá de lo presupuestado originalmente en el proyecto, en el cual no se contemplaba un libro.</p> <p>Este documento es el primero en el mundo, sobre el carbón de la papa.</p>
<p>se editó y publicó el artículo científico "Characterization, <i>in vitro</i> culture, and molecular analysis of <i>Thecaphora solani</i>, the causal agent of potato smut" en el número del mes de agosto de 2004 de la revista <i>Phytopathology</i>. Un segundo artículo científico se espera tenerlo finalizado y en proceso de publicación, una vez se inscriba la patente del desarrollo de un método basado en PCR para la detección de <i>T. solani</i>.</p> <p>Finalmente, se concretó una importantísima actividad como fue la edición y publicación del libro "El Carbón de la papa, Avances en la etiología y control de la enfermedad" el que en sus 13 capítulos y 200 páginas contiene prácticamente toda la información existente a la fecha en el mundo sobre esta enfermedad y su agente causal, de la cual más del 75% corresponde a conocimiento generado por el proyecto.</p>	<p>Se solicitó la modificación de este compromiso, postergándolo para el año 2004, una vez publicados los artículos científicos.</p> <p>Los nuevos compromisos se cumplieron total y exitosamente, incluso más allá de lo presupuestado originalmente en el proyecto, en el cual no se contemplaba un libro.</p> <p>Este documento es el primero en el mundo, sobre el carbón de la papa.</p>		

d) Dificultades enfrentadas.

En cada uno de los Informes Técnicos se comentó sobre las dificultades encontradas en el proceso de ejecución del mismo. Entre las principales se pueden mencionar el largo tiempo requerido para la obtención de suficiente desarrollo vegetativo del hongo en medio de cultivo; el cambio de la situación contractual del Dr. Alfredo Martínez E. con el CINESTAV, quien participaba como investigador asociado para el desarrollo de la metodología de detección por PCR, situación que fue totalmente subsanada, asumida y exitosamente concluida por INIA-Carillanca; la impureza del ADN extraído inicialmente de teliosporas colectadas directamente desde las agallas, lo cual acarrea ADN de papa, interfiriendo con los trabajos desarrollados para analizar la estructura poblacional de *T. solani*, situación que fue finalmente resuelta; la baja expresión en algunos años de la enfermedad en el sitio de ensayos de la IV Región, y la interferencia de un fuerte ataque de nematodos en parte de los trabajos de campo realizados en este mismo lugar, lo que fue resuelto con una aplicación de nematocida en todo el sitio de ensayos, para evitar el problema; la imposibilidad de inducir agallas en forma artificial lo cual finalmente no pudo ser revertido.

Otro aspecto que debe ser mencionado para su eventual corrección a futuro, estuvo relacionado con el recurrente atraso en la entrega de los fondos a la unidad ejecutora, lo que significó recurrir a los recursos del INIA para evitar la discontinuidad en la ejecución del proyecto.

e) Desarrollo metodológico.

La metodología desarrollada en este período corresponde, esencialmente, a lo descrito en el proyecto original, excepto la incorporación de otras actividades no contempladas originalmente, a objeto de obtener mayores conocimientos sobre la biología del agente causal del carbón de la papa, y otros factores asociados al desarrollo, expresión y control de la enfermedad.

Todas las metodologías aplicadas en las distintas actividades comprometidas, así como en aquellas nuevas surgidas de la necesidad de contar con mayores antecedentes sobre el tema en estudio, han sido detalladamente descritas en los 23 informes entregados a lo largo del período que se informa.

f) Actividades de difusión.

El proyecto desarrolló una activa difusión de los objetivos y las actividades del mismo como se señaló en el punto 5.1.1.1 del presente informe, transfiriendo los avances y resultados obtenidos en el transcurso del mismo, y tratando de atraer la atención de los agricultores sobre el problema que representa esta enfermedad, para su reconocimiento y prevención. También tuvo una activa participación en la difusión de los resultados en congresos científicos, en los cuales se ha destacado los significativos e inéditos aportes al conocimiento de esta enfermedad.

g) Logros alcanzados en el desarrollo del proyecto.

Los logros más destacables obtenidos durante la ejecución del proyecto corresponden a :

- El desarrollo *in vitro* de *T. solani*, con la formación de micelio y masa miceliar en medios sólidos y líquidos, e incluso de teliosporas. Este aspecto representó un significativo logro para el avance del proyecto, tanto para el desarrollo de las metodologías de PCR e inmunológicas, como en aporte al conocimiento de este patógeno. Este es el primer antecedente a nivel mundial sobre el crecimiento *in vitro* de este microorganismo.
- La inducción artificial de un tumor en plantas de papa desarrolladas *in vitro*, inoculadas artificialmente con micelio proveniente de la germinación de teliosporas en medio de cultivo, logro que tampoco ha sido reportado previamente en la literatura. Lo anterior, junto con los análisis de ADN, permitió comprobar que el micelio desarrollado *in vitro* correspondía efectivamente a *T. solani*.
- La observación por primera vez de la estructura superficial e interna de teliosporas de *A. solani*, bajo microscopía electrónica de barrido y de transmisión, respectivamente, lo cual representó un importante avance en aspectos taxonómicos del patógeno, al igual que para el desarrollo de las metodologías de PCR e inmunológicas.
- La amplificación, purificación, clonación y secuenciación completa de la región ribosomal ITS1-5.8S-ITS2 de *T. solani*, cuyos análisis de homología indicaron ser bastante similar a otros hongos Ustilaginales, orden taxonómico al cual pertenece *T. solani*. Esto permitió que la secuencia indicada pudiera ser utilizada con fines de identificación y diagnóstico, diseñándose varios set de partidores que posteriormente resultaron en la obtención de aquellos que lograron amplificar específicamente la región ribosomal de *T. solani*. Lo anterior fue un avance de gran significado para el proyecto en uno de sus principales compromisos, representando un resultado inédito para este organismo a nivel mundial.
- La exitosa concreción de una metodología de identificación específica de *T. solani* a través de PCR, la cual resultó altamente efectiva en la identificación exclusiva del patógeno, incrementándose significativamente la sensibilidad del método a través de una reacción de PCR anidado. Lo anterior representó un logro de gran significado para el proyecto, tanto en el aspecto científico como en el avance hacia la obtención de una herramienta de gran aplicación práctica.
- Las aplicaciones del sistema de detección de *T. solani* por PCR, a muestras de suelo colectadas en predios positivos a la enfermedad, lo cual permitió validar la metodología y corroborar la presencia y distribución del patógeno en esos suelos.

- La secuenciación y análisis de la región 5' LSU de *T. solani*, la cual demostró una alta homología con otras especies de *Thecaphora*, fue otro aporte significativo del proyecto lo cual permitió confirmar la identidad de los aislamientos y estructuras de *Thecaphora* evaluadas, generando una información relevante para fines taxonómicos en una especie fitopatógena en la cual aún persistían aspectos no resueltos a ese respecto.
- La exitosa obtención de anticuerpos monoclonales de alta especificidad contra *T. solani*, los cuales no tuvieron reacción cruzada con antígenos de otros microorganismos comunes de suelo, identificándose finalmente dos líneas que cumplen con todos los requisitos, denominados 3A7 y 3B4, ambos perteneciente a la clase IgM. Además, se logró el desarrollo de un ensayo de inmunofluorescencia indirecta para y un test ELISA para *T. solani*.
- La conclusión de estudios filogenéticos de *T. solani*, los cuales corroboraron la cercanía taxonómica de este patógeno con otras especies de *Thecaphora* y validaron su identificación original como *Thecaphora solani*.
- La prospección y mapeo de un total de 2.011,7 ha en el área de riesgo primario de la IX Región, con 1.379 predios o potreros evaluados, entre los cuales se detectaron 23 nuevos focos de carbón de la papa que involucran aproximadamente 34 ha, y de 489,9 ha, en 166 predio o potreros de la zona de Cañete, VIII Región, sin detectarse focos de infección en esa zona.
- La detección de la presencia de agallas de *T. solani* en plantas de chamico (*Datura stramonium* L.), y en plantas de tomatillo (*Solanum nigrum* L.) evaluadas en un suelo altamente infestado de la zona de Carahue. Lo anterior representó una información altamente relevante para el proyecto, primeramente por ser éste el primer reporte cuantificado y gráfico de la presencia de carbón de la papa en hospederos distintos de papa en Chile, y seguidamente por constituir otro aspecto de preocupación en los esfuerzos de erradicación de la enfermedad en la zona cuarentenaria de la IX Región.
- La identificación genética de *T. solani* como agente causal de los síntomas de carbón detectados en plantas de chamico y tomatillo.
- La detección por primera vez en el país de plantas de tomate afectadas por carbón de la papa, en siembra realizada en invernadero sobre suelo naturalmente infestado de la zona de Carahue.
- La obtención de crecimiento *in vitro* de micelio de *T. solani* proveniente de tomatillo (*Solanum furcatum* L.), un importante logro que permitirá corroborar molecularmente la identidad genética del aislamiento obtenido de este hospedero, y probablemente terminar con la dependencia de las teliosporas, y sus consiguientes problemas de germinación, para la obtención de micelio puro.

- La detección de un fumigante de suelos, dazomet (Basamid G), de alta efectividad al reducir cerca de un 100% la expresión de la enfermedad, es un resultado de particular significado para los objetivos finales del proyecto, ya que se visualiza como una excelente alternativa para una eventual erradicación de la enfermedad desde el área de riesgo primario de la IX Región.
- La obtención de un resultado de gran interés para el potencial control químico de la enfermedad en la zona sur, con la detección de un alto grado de efectividad de tres ingredientes activos, flutriafol, fenbuconazole y benomyl, los que lograron reducir significativamente la expresión de la enfermedad, disminuyendo la producción de agallas entre un 77 y 91%.
- La cuantificación de la expresión de la enfermedad sobre la productividad de las plantas en la zona de Carahue, resultados que determinaron pérdidas de productividad causado por suelo infestado que fluctuaron entre un 31 y 34% en el rendimiento total, y 50,9 a 52,5% en el rendimiento de la categoría consumo, datos altamente consistentes en ambas temporadas.
- La determinación por primera vez del porcentaje de transmisión de la enfermedad por tubérculos infectados, el que varió entre un 44 y 8,5%, y la cuantificación de las pérdidas causadas por el empleo de tubérculos infectados como semilla, que variaron entre un 34 y 80% en la categoría consumo.
- La detección de transmisión de la infección de *T. solani*, a través de tubérculos asintomáticos cosechados tanto de plantas con producción de agallas como de plantas asintomáticas originadas desde tubérculos infestados, resultado que resaltó la necesidad de contar con un método de diagnóstico sensible y específico.
- Los resultados obtenidos en la evaluación de tubérculos sanos e infectados bajo almacenamiento en la IV Región, constituyó otro logro relevante, particularmente en lo referente a la detección de tumores en tubérculos aparentemente sanos. Estos resultados demuestran a los agricultores el riesgo que implica el empleo de semilla proveniente de esta zona y la necesidad de recurrir a semilla proveniente de zonas sin carbón de la papa.
- El nulo efecto en disminuir los indicadores de infección, obtenido con las dos rotaciones de cultivo evaluados en la IV Región, plantea un interesante desafío por revelar los factores asociados a esta respuesta: un alto nivel de inóculo existente en esos suelos?; capacidad del patógeno para mantenerse activo al cabo de cuatro años sin su principal hospedero?; reinfección permanente de esos suelos por las actividades de riego?; presencia de hospederos entre cultivos?.
- La detección de 7 clones, RG 107-3; RG 61-18; RG 108-6; RA 110-5; RD 11-1; RD 31-1 y RD 11-2 y el ecotipo local Doma con total ausencia de síntomas de la enfermedad en plantas y tubérculos, durante todas las evaluaciones realizadas, y la expresión de resistencia del cultivar comercial Asterix manifestada en dos ensayos independientes en suelos infestados de la IV Región. Esta es una información de

gran relevancia por sugerir la existencia de una base genética que permitiría iniciar un programa de mejoramiento enfocado a la obtención de resistencia al carbón de la papa.

- La difusión del proyecto con la organización y realización de 18 charlas técnicas en la IV, IX y VIII regiones, en las cuales participaron alrededor de 570 personas; las 3 presentaciones con las actividades y resultados del proyecto en 3 seminarios y ferias regionales; la realización de 3 días de campo en la IV Región y 1 seminario en la IX Región, con la participación de alrededor de 240 personas; la presentación oral de 11 trabajos de investigación en los congresos de la Sociedad Chilena de Fitopatología, y 2 presentaciones orales y 3 póster en el congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa; la publicación de dos artículos divulgativos en la revista Tierra Adentro; la edición de dos cartillas divulgativas y 1 boletín técnico para el reconocimiento y prevención de la enfermedad; las 3 entrevistas radiales, dos publicaciones en periódicos, y un reportaje en Televisión Nacional sobre la enfermedad y de aspectos relacionados con el reconocimiento y prevención de la enfermedad.

- La publicación del artículo "Characterization, *in vitro* culture, and molecular analysis of *Thecaphora solani*, the causal agent of potato smut" en el número de agosto de 2004 de la revista Phytopathology, una de las más prestigiosas revistas del área fitopatológica del mundo.

- La edición y publicación del libro "El Carbón de la papa, Avances en la etiología y control de la enfermedad" el que en sus 13 capítulos y 200 páginas contiene prácticamente toda la información existente a la fecha en el mundo sobre esta enfermedad y su agente causal, de la cual más del 75% corresponde a conocimiento generado por el proyecto.

- La conclusión de los primeros estudios de patentabilidad de la metodología de detección de *T. solani* por PCR, los que señalan que efectivamente la metodología es susceptible de ser patentada, actividad que se encuentra en proceso.

h) Observaciones.

El proyecto se desarrolló de acuerdo a lo presupuestado originalmente, obteniéndose en estos cuatro años de ejecución, resultados que señalan la exitosa concreción de prácticamente todos los objetivos comprometidos, muchos de los cuales son inéditos para esta enfermedad a nivel mundial.

El equipo de investigación trabajó con un alto grado de integración y compromiso en torno a los objetivos del proyecto desde el inicio de éste. Lo mismo ocurrió con el equipo conformado para el cumplimiento de objetivos específicos, como el grupo de prospección que trabajó en la IX y VIII regiones, los que demostraron haber hecho propio la responsabilidad y desafío que tal actividad conlleva. Esta disposición del equipo de

investigación, ha quedado demostrada en la ejecución de actividades más allá de lo originalmente presupuestado en el proyecto.

El proyecto contó con el significativo apoyo y participación de la oficina Imperial del SAG, IX Región, de la oficina de La Serena y de la Encargada y Supervisores Técnicos del Fondo SAG, en todas las actividades de prospección.

El proyecto se encuentra finalizado. La presentación final de los resultados, logros y productos del proyecto, así como el lanzamiento del libro "El carbón de la papa, avances en la etiología y control de la enfermedad", se realizará a mediados del mes de mayo de 2005, fecha requerida para poder compilar y analizar la información obtenida en las últimas actividades de campo, las que finalizaron a fines del mes de abril de 2005.

COMENTARIO FINAL

El proyecto Fondo SAG 58-14-100 "Desarrollo de estrategias con vistas a la erradicación del carbón de la papa (*Angiosorus solani*) desde áreas cuarentenadas y su control integrado en áreas endémicas" fue ejecutado por el Instituto de Investigaciones Agropecuarias en sus Centros Regionales de Investigación Carillanca de Temuco, Intihuasi de La Serena y La Platina de Santiago, entre el 01 de enero de 2001 y el 30 de diciembre de 2004. Participaron además como empresas asociadas BIOSONDA S.A. y Aventis Cropscience Chile S.A., hoy Bayer S.A.

El resultado final de este proyecto puede ser catalogado como altamente exitoso, producto del cumplimiento de prácticamente todos sus compromisos originales, del desarrollo de numerosos otros estudios surgidos durante la ejecución del mismo, pero muy particularmente por la gran cantidad de información inédita sobre esta enfermedad y por sus productos tecnológicos únicos en el mundo, lo cual ha significado una importantísima contribución al conocimiento de esta severa enfermedad cuarentenaria, aportando a la vez un significativo grado de solidez a la imagen de la capacidad científica chilena.

Desde el punto de vista de los dos principales objetivos de este proyecto: a) Desarrollar una metodología que permita implementar una estrategia de erradicación del agente causal de la enfermedad, desde el área actualmente infestada en la IX Región, y sectores focalizados de la VIII Región; y b) Generar información para establecer una estrategia de control integrado de la enfermedad en las áreas endémicas de la IV Región, la información obtenida en las múltiples actividades desarrolladas permiten concluir que ambos objetivos han sido total y exitosamente cumplidos.

Desde el punto de vista del primer objetivo, las actividades en el cumplimiento del mismo y los resultados obtenidos, permiten construir una estrategia bastante sólida en cuanto a expectativas, para lograr una exitosa erradicación del carbón de la papa desde las áreas afectadas de la IX y X regiones. Primeramente, se georeferenciaron y confeccionaron los mapas de todos los predios evaluados durante los cuatro años en el área de riesgo primario de la IX Región los cuales junto a los predios detectados previamente por el SAG

representa prácticamente todo el universo de potreros de la zona. Lo anterior significa que se conocen todos los focos positivos detectados hasta la fecha de término de este proyecto, y se puede ir directamente a ellos para aplicar la metodología de erradicación que se define. En segundo término, se cuenta con la más poderosa y sensible metodología de detección de *Thecaphora solani* disponible en el mundo. Esto permite realizar un muestreo complementario dirigido a los sectores más riesgosos, para identificar posibles nuevos focos no detectados en las prospecciones. En tercer término, se cuenta con un fumigante de suelo de alta efectividad en reducir la expresión de la enfermedad, efectividad probada, cuantificada y corroborada en a lo menos tres temporadas incluyendo aplicaciones semi comerciales, cuya acción se prolonga hasta a lo menos una segunda temporada. Si bien el costo de esta alternativa química es alto y requiere un manejo técnico bastante cuidadoso, es perfectamente factible su aplicación, siendo la única alternativa química con ese grado de efectividad disponible en el mercado.

La justificación de las decisiones a tomar a este respecto pueden ahora basarse en estudios con abundantes y debidamente cuantificados datos obtenidos *in situ*, los cuales señalan: a) el alto potencial de daño que alcanza la expresión de la enfermedad en la zona sur (sobre el 50% de pérdida en tubérculos categoría consumo); b) la notable capacidad del patógeno para producir inóculo (2,3 ton/ha de agallas) y para transmitir la enfermedad a través de los tubérculos (44% de transmisión a una primera generación de plantas y 64% a una segunda generación), lo cual evidencia el riesgo de que la enfermedad se extienda rápidamente a toda la zona sur con las consiguientes consecuencias para la producción y expectativas comerciales de este rubro; c) el significativo riesgo que implica la capacidad del patógeno de diseminarse de un lugar a otro a través de tubérculos asintomáticos; d) la ausencia de alternativas químicas comerciales que, aplicadas al suelo o la semilla, puedan efectivamente controlar o disminuir la expresión de la enfermedad; e) la abundante existencia de otros hospederos del patógeno, como son el tomatillo, chamico y el propio tomate lo cual aumenta la complejidad en el manejo y contención de la enfermedad en la zona; y f) la aparentemente escasa efectividad de rotaciones prolongadas en disminuir la expresión e impacto de la enfermedad, según los resultados obtenidos en la zona norte.

Desde el punto de vista del segundo objetivo, las actividades en el cumplimiento del proyecto y los resultados obtenidos, permiten conformarse una idea significativamente más sólida que la existente antes del inicio del mismo, respecto de la potencialidad del control integrado en las áreas endémicas de la zona norte. Los resultados obtenidos mayoritariamente en las actividades tendientes a conformar un sistema de manejo de la enfermedad que logre disminuir el impacto de la misma, señalaron que la única vía con la mayor probabilidad de éxito lo constituye el mejoramiento genético y el desarrollo de cultivos resistentes a la enfermedad. Lo anterior, debido a que los estudios tendientes a detectar productos químicos efectivos en disminuir el daño indicaron que no existen tales productos en el mercado. Por otra parte, los resultados del ensayo de rotación diseñado con ese mismo propósito señalaron que la alta capacidad de supervivencia del patógeno, su alto nivel poblacional en el suelo, o las múltiples vías de diseminación a través de prácticas culturales que permiten su fácil reingreso y repoblamiento de los potreros, parecen ser algunas de las más probables explicaciones para la baja efectividad alcanzada por esta práctica cultural. Por el contrario, la detección de materiales de papa con un alto y consistente grado de resistencia a la enfermedad, consistencia que se refleja no sólo en el

tiempo sino que también en el compartir padres comunes, como el cultivar Mirka, indica que ésta es la vía que en largo plazo permitirá reducir en forma significativa el impacto de esta enfermedad en todas las zonas productoras actualmente afectadas por el carbón de la papa. Estos resultados son un logro significativo, puesto que entrega una información sólida para justificar el inicio a la brevedad de un programa de mejoramiento enfocado a la obtención de materiales resistentes al carbón.

Finalmente, se debe destacar una vez más el significativo aporte que este proyecto ha realizado en la generación de conocimiento sobre esta severa enfermedad cuarentenaria, colocando a Chile en el liderazgo de la información sobre el carbón de la papa. La obtención por primera vez en el mundo del cultivo *in vitro* del agente causal; la detección de nuevos hospederos desconocidos hasta antes del inicio del proyecto, como el tomatillo, y las primeras referencias válidas sobre su presencia en tomate; el desarrollo de una metodología basada en PCR, altamente sensible y única en el mundo para la detección de *Thecaphora solani*; la obtención de los únicos anticuerpos poli y monoclonales existentes para *T. solani*, y su empleo en un método de detección inmunológico igualmente único; la información generada en cuanto a secuencias genéticas de la región ribosomal nuclear ITS1-5.8S-ITS2 y la región 5' LSU del patógeno y su contribución en clarificar la posición taxonómica de éste; la edición y publicación de un artículo científico en una de las más prestigiosas revistas del área fitopatológica; y la edición y publicación de un libro que recopila más del 95% de la información existente a la fecha sobre esta enfermedad y su agente causal, la mayor parte de la cual fue generada por el proyecto, son entre varios otros, los elementos que sustentan esta afirmación.

Sin dudas que este proyecto ha contribuido con un importante y sólido bloque, en la construcción del camino hacia una mayor independencia económica y tecnológica por el que Chile debe transitar. Y ese camino es precisamente el conocimiento, la mayor riqueza de la que dispone un pueblo para alcanzar el verdadero poder.