



IDENTIFICACION DE PSEUDOCOCCIDAE (CHANCHITOS BLANCOS) PRESENTES EN CHILE Y EN VEGETALES DE EXPORTACION: ESTUDIO MORFOLOGICOS Y MOLECULARES

CODIGO PROYECTO	36-14-100	
AREA ESTRATEGICA (Ámbitos a los cuales se encuentra asociado el desarrollo del proyecto)	Control y erradicación de plagas cuarentenarias, vigilancia y defensa del patrimonio sanitario silvoagrícola y control integrado de plagas endémicas.	
ZONA GEOGRAFICA DE EJECUCION (Áreas geográficas en las cuales se desarrolla el proyecto)	Regiones IV, V, VI, VII y RM	
MONTO ASOCIADO (Monto propuesto para la ejecución del proyecto en pesos)	\$ 108.222.000	
FECHA DE INICIO DEL PROYECTO (firma de contrato)	Diciembre, 2000	
FECHA DE TERMINO DEL PROYECTO	(No esta especificada)	
JEFE PROYECTO EJECUTOR	Nombre	Ernesto Prado Cordero
	Teléfono	5417223 AN163
	e-mail	eprado@platina.inia.cl
CONTRAPARTE SAG	Nombre	
	Teléfono	
	e-mail	

I PARTICIPANTES

(Son los actores a nivel institucional que participan de forma directa o indirecta en la ejecución del proyecto)

NOMBRE (Empresas o Instituciones)	NATURALEZA (Publico, Privada, Publico-privada)	ROL DENTRO DEL PROYECTO (Responsable – Asociado – Beneficiarios)
Instituto de Investigaciones Agropecuarias. CRI La Platina (INIA)	Publico	Responsable
Federación Gremial Nacional de Productores de Fruta (FEDEFruta)	Privado	Asociado
Productores y exportadores de fruta	Privado	Beneficiarios
Sistema de vigilancia e identificación de plagas del SAG u otros organismos	Público	Beneficiarios

II RESUMEN DEL PROYECTO

(Breve descripción sobre los contenidos tratados en el proyecto)

La detección de "chanchito blanco" (*Pseudococcidae* spp.) en frutas de exportación, causa pérdidas en el sector exportador frutícola debido a que varias de las especies del complejo *Pseudococcus maritimus* son cuarentenarias en una serie de países de destino, principalmente EE.UU. La causa de los rechazos por parte del SAG se debe a la presencia de formas inmaduras de chanchito blanco y algunos adultos que no es posible diferenciar a nivel de especie, ya que son muy similares. Al parecer, existen varias especies cuya especie no se ha determinado lo que justifica los rechazos de la fruta de exportación. De esta forma, se rechazan unos siete millones de kilos de fruta por año (estadísticas 1997/1998), lo que representa pérdidas para el país del orden de los US\$ 4 millones/año. Sin embargo, al desconocerse la manera de identificar formas inmaduras, u otras especies no descritas, se puede estar rechazando partidas con presencia de chanchitos que no son cuarentenarias para los mercados externos. Se estima que, mayoritariamente las especies presentes en fruta de exportación no corresponden a especies cuarentenarias, por lo que la discriminación correcta avalaría la aceptación de la fruta.

Como se trataría de especies muy similares, con pocas características para diferenciarlas, en especial a nivel de inmaduros, se propone también un estudio molecular. Esta técnica (PCR) permitiría identificar los chanchitos blancos rápida e inequívocamente. Estos estudios tienen antecedentes en otras especies y en chanchito blanco, como se ha presentado en Nueva Zelanda.

En este proyecto se propone desarrollar metodologías moleculares y definir características morfológicas que permitan identificar las diferentes especies de *Pseudococcus* a nivel de ninfas y adultos y así tener una base para acción o no acción de rechazo de la fruta exportable.

III OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL O PROPOSITO DEL PROYECTO

(Meta que se desea alcanzar con el desarrollo del proyecto)

Mejorar la competitividad de la fruticultura nacional, a través de la disminución de rechazos de fruta de exportación por presencia de chanchito blanco cuya identificación a nivel de especie o de estado inmaduros no está disponible.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

(Metas intermedias que se deben cumplir para lograr el objetivo general planteado para el proyecto)

- A. Determinar morfológicamente las especies de chanchitos blancos, sean nuevas o conocidas presentes en fruta de exportación.
- B. Identificar mediante técnicas moleculares (PCR) individuos adultos e inmaduros de las especies de chanchito blanco identificadas.
- C. Descripción de las nuevas especies⁽¹⁾
- D. Proporcionar una clave para la identificación de las especies chilenas de *Pseudococcidae*⁽²⁾

IMPACTO SOCIAL

(Efectos que el proyecto plantea sobre la comunidad en general)

Consumo

Velar por maximizar los bienes para el consumo (son todas aquellas mercancías producidas por y para la sociedad en el territorio del país o importadas para satisfacer directamente una necesidad como: alimentos, bebidas, habitación, servicios personales, mobiliario, vestido, ornato, etc.)

Crecimiento

Hace referencia al aumento de un sector o sectores en particular, que se verán beneficiados a través de la ejecución del proyecto. Es importante destacar que este sector es de interés social a nivel país.

Empleo

Impactos sobre la creación y la transformación del empleo.

Redistribución de ingreso

Valoriza el alcance sobre la distribución de ingresos y riqueza, para lo cual es preciso identificar los agentes sobre los cuales recaen los efectos (positivos y negativos) de la ejecución y operación del proyecto.

X

X

Necesidades meritorias

Corresponde a la mejora de bienes en el ámbito de la salud, educación, defensa, justicia, pureza del medio ambiente, etc. Determina que se haga tan sólo una mención cualitativa como complemento de la evaluación.

X

OBSERVACION:

(1) este objetivo no fue incluido en la propuesta pero se sí en el documento final.

(2) este objetivo no fue incluido en el documento final pero se sí en la propuesta.

IV DESCRIPCIÓN METODOLOGICA DEL PROYECTO

(Técnicas y conceptos empleados en el desarrollo del proyecto)

TECNICAS Y/O CONCEPTOS	DESCRIPCION
Colecta de campo, de la IV a la VII Región	Colecta de ejemplares en especies frutales, plantas silvestres y malezas. Transporte a laboratorio en alcohol.
Montaje de insectos	Para el estudio de características morfológicas y taxonómicas.
Crianza	Las cepas o aislamientos se deben criar aisladamente para determinar la variabilidad de cada población y obtener ninfas y adultos.
Contacto con el extranjero	Se tomarán imágenes de las preparaciones las que podrán ser compartidas (vía e-mail) con expertos extranjeros.
Examen a microscopio barrido	La morfología del insecto se visualiza con detalles difíciles de observar al microscopio óptico. Se considera pagar los servicios y utilización de microscopios de otras Instituciones.
Estudios genéticos con PCR	El estudio de ADN entregará información precisa para determinar el grado de variabilidad dentro de cada taxón (especie) y permitirá identificar las especies en muestras de insectos en estados inmaduros, como ninfas y huevos.
Publicación	Los resultados deben ser publicados. Se considera a lo menos una publicación y un Manual de trabajo de laboratorio para su uso rutinario en diagnóstico de las especies.

V PLAN DE TRABAJO

(Procesos que se planificaron para el desarrollo del proyecto)

ACTIVIDADES (Actividades que comprende el desarrollo del proyecto)	DURACION (Tiempo que se emplea en el desarrollo de la etapa en meses)
Contratación de personal	Enero 2001 – Marzo 2001
Colecta de campo	Enero 2001 – Octubre 2003
Montaje de insectos	Enero 2001 – Octubre 2003
Crianza	Abril 2001 – Octubre 2003
PCR	Abril 2001 – Octubre 2003
Obtención de ADN de diferentes especies/estados de desarrollo	Abril 2001 – Marzo 2002
Optimización de PCR	Abril 2001 – Marzo 2003

RAPD	Abril 2001 – Junio 2002
AFLP	Enero 2002 – Diciembre 2002
PCR de genes ribosomales	Enero 2002 – Diciembre 2002
Identificación de los mejores partidores de RAPD y AFLP	Enero 2002 – Marzo 2003
Identificación de bandas discriminativas entre especies	Octubre 2001 – Marzo 2002; Octubre 2002 – Septiembre 2003
Secuenciación de ADN	Abril 2002 – Marzo 2003
Diseño de partidores de PCR	Julio 2002 – Junio 2003
Desarrollo de protocolo de identificación de diferentes especies de Pseudococcidae	Julio 2002 – Septiembre 2003
Examen a microscopio barrido	Enero 2002 – Septiembre 2002
Validación con muestras de campo (productores, SAG)	Octubre 2001 – Marzo 2002; Octubre 2002 – Septiembre 2003
Informes de avance	Abril 2001 – Junio 2001; Octubre 2001 – Diciembre 2001; Abril 2002 – Junio 2002; Octubre 2002 – Diciembre 2002; Abril 2003 – Junio 2003
Informe final	Octubre 2003 – Diciembre 2003
Participación en congresos	Octubre 2001 – Diciembre 2001; Octubre 2002 – Diciembre 2002; Julio 2003 – Septiembre 2003
Publicaciones	Abril 2003 – Diciembre 2003

VI RESULTADOS ESPERADOS

(Son los logros que se proyectaba alcanzar mediante el desarrollo del proyecto)

1. Desarrollar la tecnología y conocimiento necesarios para caracterizar morfológicamente y determinar las especies en horas (en algunos casos en menos de 1 hora) y solo aquellos más problemáticos se usará la técnica molecular.
2. Disponer de un sistema de diagnóstico rápido (menos de 24 hrs) para la identificación de chanchitos blancos en fruta de exportación para los casos que no sea posible identificarlos mediante montaje y características morfológicas.
3. Disponer una clave para la determinación de especies con dibujos y fotografías de cada una de ellas.
4. Poner a disposición de todos los fruticultores y exportadores del país esta técnica, quienes podrán disminuir sus niveles de mermas por rechazo por detección de chanchito blanco

Observación: la numeración empleada en este punto, se utilizara en las siguientes etapas de la evaluación para hacer referencia a cada uno de estos resultados.

VII EVALUACIÓN DE OBJETIVOS

OBJETIVOS ESPECIFICOS

(Contraste de los objetivos específicos propuesto versus los resultados obtenidos al final del proyecto)

OBJETIVO A: Determinar morfológicamente las especies de chanchitos blancos, sean nuevas o conocidas presentes en fruta de exportación.

RESULTADO ASOCIADO (1 o más resultados pueden estar relacionados a un objetivo)	1	GRADO DE LOGRO [%] (Nivel porcentual asociado al cumplimiento del objetivo bajo análisis)	100%
INTERPRETACION DE GRADO DE LOGRO (Explicación sobre el significado del grado de logro alcanzado para el objetivo)	Se determinó morfológicamente cada especie de chanchito blanco conocida, además de las dos especies nuevas, consideradas las más cosmopolitas de Chile.		
DESFASES	No hubo.		
CONCLUSIONES (Establecer si los resultados obtenidos para el objetivo son o no son adecuados a los propósitos del proyecto)	Los resultados observados para este objetivo planteado presentan un alto grado de relevancia para el cumplimiento del objetivo general del proyecto. La determinación morfológica de los ejemplares estudiados es fundamental para el éxito del proyecto.		

OBJETIVO B: Identificar mediante técnicas moleculares (PCR) individuos adultos e inmaduros de las especies de chanchito blanco identificadas.			
RESULTADO ASOCIADO (1 o más resultados pueden estar relacionados a un objetivo)	2	GRADO DE LOGRO [%] (Nivel porcentual asociado al cumplimiento del objetivo bajo análisis)	100%
INTERPRETACION DE GRADO DE LOGRO (Explicación sobre el significado del grado de logro alcanzado para el objetivo)	Se identificó individuos adultos e inmaduros de las especies de chanchito blanco mediante la extracción de ADN y la aplicación de métodos genéricos como RAPD y AFLP. Estas técnicas PCR (<i>Reacción en cadena de la polimerasa</i>) se realizaron con éxito en todos los estados del individuo, sin presentar reacción cruzada entre especie.		
DESFASES	No hubo		
CONCLUSIONES (Establecer si los resultados obtenidos para el objetivo son o no son adecuados a los propósitos del proyecto)	Se estableció con éxito los protocolos capaces de identificar cualquiera de las seis especies de <i>Pseudococcidae</i> indicados. El resultado obtenido guarda estrecha relación con el cumplimiento del objetivo general del proyecto, pues permite identificar cualquiera de los individuos estudiados, independiente su estado desarrollo.		

OBJETIVO C: Descripción de las nuevas especies			
RESULTADO ASOCIADO (1 o más resultados pueden estar relacionados a un objetivo)	1 y 3	GRADO DE LOGRO [%] (Nivel porcentual asociado al cumplimiento del objetivo bajo análisis)	75%
INTERPRETACION DE GRADO DE LOGRO (Explicación sobre el significado del grado de logro alcanzado para el objetivo)	Se ha descrito las dos nuevas especies, tanto <i>Pseudococcus sp1</i> como <i>Pseudococcus sp 2</i> . Sin embargo, <i>P. sp 2</i> sólo pudo ser caracterizado en su estado adulto, mientras que <i>P. sp1</i> se caracterizó tanto su estado adulto como en su tercer instar (inmaduro).		
DESFASES	No se pudo desarrollar la identificación de estados inmaduros en <i>P. sp2</i> ya que los estados adultos eran escasos en terreno, y los ejemplares colectados muy frágiles y no sobrevivieron a la manipulación.		
CONCLUSIONES (Establecer si los resultados obtenidos para el objetivo son o no son adecuados a los propósitos del proyecto)	La descripción de las dos nuevas especies identificadas, en función al grado de logro del objetivo, permiten identificar individuos de diversas especies de <i>Pseudococcidae</i> en fruta de exportación, identificando los estados inmaduros a excepción de <i>P. sp2</i> .		

OBJETIVO D: Proporcionar una clave para la identificación de las especies chilenas de <i>Pseudococcidae</i>
--

RESULTADO ASOCIADO (1 o más resultados pueden estar relacionados a un objetivo)	3	GRADO DE LOGRO [%] (Nivel porcentual asociado al cumplimiento del objetivo bajo análisis)	90%
INTERPRETACION DE GRADO DE LOGRO (Explicación sobre el significado del grado de logro alcanzado para el objetivo)	Se proporcionó clave taxonómica para la identificación de todos los individuos adultos y clave taxonómica para estado inmaduro (3° instar) con la excepción de <i>P. sp.2</i> de las especies chilenas de <i>Pseudococcidae</i> .		
DEFASES	La clave taxonómica de estado inmaduro no pudo establecer la descripción de <i>P. sp2</i> por motivos indicados en desfase objetivo C.		
CONCLUSIONES (Establecer si los resultados obtenidos para el objetivo son o no son adecuados a los propósitos del proyecto)	La identificación de las especies chilenas a través de claves taxonómicas, guardan estrecha relación con el propósito planteado en el objetivo general. La rápida identificación de individuos adultos y/o inmaduros, permitirá disminuir los rechazos de fruta en exportación.		

OBJETIVO GENERAL: Mejorar la competitividad de la fruticultura nacional, a través de la disminución de rechazos de fruta de exportación por presencia de chanchito blanco cuya identificación a nivel de especie o de estado inmaduros no está disponible.

GRADO DE LOGRO [%] (Nivel porcentual asociado al cumplimiento del objetivo bajo análisis)	91%
INTERPRETACION DE RESULTADO (Explicación sobre el significado del grado de logro alcanzado para el objetivo)	El trabajo desarrollado permite identificar las diversas especies de <i>Pseudococcidae</i> en fruta de exportación, ya sea mediante clave taxonómica con la cual describir morfológicamente los individuos, o bien, mediante análisis molecular en casos que lo requieran, ambos probados científicamente.
CONCLUSIONES (Establecer si los resultados obtenidos para el objetivo son o no son adecuados a los propósitos del proyecto)	Los resultados obtenidos por el proyecto guardan estrecha relación con el objetivo general planteado. La detección e identificación de individuos de cualquier especie de <i>Pseudococcidae</i> presente en Chile, permitirá reducir el problema de rechazo de fruta de exportación.

OTRAS OBSERVACIONES

Cabe señalar que no se detalla dentro de los resultados del proyecto, el tiempo que toma realizar dichos ensayos para la caracterización molecular de las especies estudiadas. Sin embargo, se considera que la alternativa propuesta y validada como solución al problema planteado es vital importancia para disminuir el porcentaje de rechazo de fruta exportada.

VIII ANALISIS METODOLOGIA EMPLEADA

(Verificación de la metodología propuesta versus la empleada para el proyecto)

Colecta de campo, de la IV a la VII Región	GRADO DE CUMPLIMIENTO [%] (Es el grado en que la metodología desarrollada se ajusta a la propuesta)	87,5%
INTERPRETACION GRADO DE CUMPLIMIENTO	La colecta de diversas especies de <i>Pseudococcidae</i> presentes en el país, se realizó exitosamente en todas zonas geográficas insertas en las regiones estipuladas dentro de la metodología planteada. Se realizó una segunda colecta en los lugares donde se determinó mayor presencia de <i>P. sp1</i> y <i>P. sp2</i> , sin embargo, no se obtuvo igual resultado que la primera colecta.	
VALIDEZ DE LA METODOLOGIA	La metodología planteada para la obtención de individuos en terreno es válida y cumple con su objetivo, aún cuando en una segunda colecta no se obtiene igual número y calidad de ejemplares por causas externas.	

OBSERVACIONES (Desarrollo de las diferencias detectadas entre la metodología propuesta y la desarrollada)	La diferencia observada entre la metodología propuesta guarda relación con una causal externa (aplicación de insecticida en sector de muestreo), lo que influyó en la baja obtención de individuos de la sp. 2. A pesar de lo anterior, se obtuvo la cantidad suficiente para seguir la metodología de trabajo propuesta.
---	---

Montaje de insectos	GRADO DE CUMPLIMIENTO [%] (Es el grado en que la metodología desarrollada se ajusta a la propuesta)	100%
INTERPRETACION GRADO DE CUMPLIMIENTO	El montaje de insectos colectados en las zonas antes descritas se realizó completamente, siguiendo los protocolos de trabajo preestablecidos. Se realizó la preparación de los individuos para su observación al microscopio.	
VALIDEZ DE LA METODOLOGIA	La metodología utilizada para el montaje de insectos es válida, pues sigue los estándares de trabajo indicados por los organismos competentes (SAG). El resultado obtenido permitió observar las hembras adultas al microscopio, permitiendo continuar exitosamente con la metodología planteada.	
OBSERVACIONES (Desarrollo de las diferencias detectadas entre la metodología propuesta y la desarrollada)	No hay observaciones.	

Crianza	GRADO DE CUMPLIMIENTO [%] (Es el grado en que la metodología desarrollada se ajusta a la propuesta)	93%
INTERPRETACION GRADO DE CUMPLIMIENTO	La crianza de todas las especies de insectos colectados se realizó exitosamente, a excepción de <i>P. sp 2</i> , con la cual sólo se obtuvo una sola generación, la cual tardó en alcanzar su estado adulto. De las hembras que generaron ovisacos se separaron para obtener descendencia, sin embargo, no sobrevivieron.	
VALIDEZ DE LA METODOLOGIA	El método de crianza utilizado es el indicado para la obtención de descendencia. El manejo de temperatura y humedad ambiental se ajustan dentro de los parámetros utilizados en la crianza de insectos utilizados en la producción de enemigos naturales.	
OBSERVACIONES (Desarrollo de las diferencias detectadas entre la metodología propuesta y la desarrollada)	El problema suscitado en la crianza y posterior obtención de descendencia de la sp. 2 guarda relación con factores no manejables por el equipo ejecutivo del proyecto, sino más bien a problemas de adaptabilidad de la especie.	

Contacto con el extranjero	GRADO DE CUMPLIMIENTO [%] (Es el grado en que la metodología desarrollada se ajusta a la propuesta)	100%
INTERPRETACION GRADO DE CUMPLIMIENTO	Se contactó directamente a especialista del tema en los Estados Unidos, cuyo aporte fue de vital importancia en el éxito del proyecto. Su trabajo consistió en generar un cuadro comparativo con otras especies del género, información con la cual se pudo determinar similitudes entre especies de <i>Pseudococcidae</i> y continuar con ensayos morfológicos y moleculares.	
VALIDEZ DE LA METODOLOGIA	El apoyo del especialista extranjero se considera válido y necesario para un desarrollo objetivo del proyecto. El aporte de información complementa y permite continuidad en las actividades planteadas por el equipo ejecutivo del proyecto.	

OBSERVACIONES (Desarrollo de las diferencia detectadas entre la metodología propuesta y la desarrollada)	No hay observaciones
--	----------------------

Examen a microscopio de barrido	GRADO DE CUMPLIMIENTO [%] (Es el grado en que la metodología desarrollada se ajusta a la propuesta)	100%
INTERPRETACION GRADO DE CUMPLIMIENTO	La observación al microscopio de fases se realizó según lo establecido, se contó además con protocolo de trabajo para la identificación morfológica de validez científica. Con los datos obtenidos se elaboraron cuadros descriptivos de cada especie.	
VALIDEZ DE LA METODOLOGIA	La metodología y protocolo utilizado es sólo válido para la observación y caracterización de hembras adultas de <i>Pseudococcidae</i> .	
OBSERVACIONES (Desarrollo de las diferencia detectadas entre la metodología propuesta y la desarrollada)	No hay observaciones	

Aislamiento de ADN desde distintos estados de desarrollo de <i>Pseudococcidae</i>	GRADO DE CUMPLIMIENTO [%] (Es el grado en que la metodología desarrollada se ajusta a la propuesta)	100%
INTERPRETACION GRADO DE CUMPLIMIENTO	La obtención de ADN a partir de individuos maduros, como también de otros estados de desarrollo, se logró sin inconvenientes. La metodología propuesta para extraer la información genética del insecto y huevos, permitió obtener material adecuado tanto en cantidad y apariencia (no se observó degradación), sirviendo también para ensayos futuros.	
VALIDEZ DE LA METODOLOGIA	La metodología utilizada sigue los protocolos recomendados para la extracción correcta de ADN, aún cuando varió según el material a analizar (adulto o huevos), no alteró el resultado esperado.	
OBSERVACIONES (Desarrollo de las diferencia detectadas entre la metodología propuesta y la desarrollada)	No hay observaciones.	

Métodos PCR basados en partidores de diseño aleatorio(RAPD, AFLP)	GRADO DE CUMPLIMIENTO [%] (Es el grado en que la metodología desarrollada se ajusta a la propuesta)	100%
INTERPRETACION GRADO DE CUMPLIMIENTO	Se optimizó previamente la reacción de PCR, validando la eficacia del método para los siguientes ensayos de RAPD. Posteriormente se trabajó con AFLP, método que corroboró lo observado con el primer ensayo, con lo cual se generó un dendrograma que indica que tan parecidas son las especies estudiadas.	
VALIDEZ DE LA METODOLOGIA	Tanto la RAPD como la AFLP son técnicas válidas y demostradas que permiten obtener información real y sólida para identificar y caracterizar individuos de un mismo género.	
OBSERVACIONES (Desarrollo de las diferencia detectadas entre la metodología propuesta y la desarrollada)	No hay observaciones	

Caracterización de secuencias de genes conocidos en otras especies		GRADO DE CUMPLIMIENTO [%] (Es el grado en que la metodología desarrollada se ajusta a la propuesta)	100%
INTERPRETACION GRADO DE CUMPLIMIENTO	Se diseñaron partidores de PCR ensayados los cuales dieron buenos resultados, aún cuando fueron posteriormente modificados para que pudiesen ser utilizados en una reacción PCR que contará con un control interno (PCR dúplex). Estos partidores permiten identificar las bandas principales de genes, las que posteriormente fueron clonadas y secuenciadas.		
VALIDEZ DE LA METODOLOGIA	El uso de partidores de PCR es de gran utilidad para la identificación, clonación y secuenciación de genes ribosomales. La metodología utilizada es válida para la obtención de información genética de los individuos estudiados.		
OBSERVACIONES (Desarrollo de las diferencia detectadas entre la metodología propuesta y la desarrollada)	No hay observaciones.		

Determinación de variabilidad genética dentro de poblaciones de cada especie y entre especies		GRADO DE CUMPLIMIENTO [%] (Es el grado en que la metodología desarrollada se ajusta a la propuesta)	100%
INTERPRETACION GRADO DE CUMPLIMIENTO	Se determinó, mediante el uso de partidores de PCR, que existe una gran diferencia genética entre las especies estudiadas, por el contrario, existen mínimas diferencias entre individuos de la misma especie. Las diferencia intra – específicas fueron mayores en individuos que fueron colectados desde diferentes puntos geográficos.		
VALIDEZ DE LA METODOLOGIA	El uso de partidores de PCR para determinar la variabilidad genética es una metodología válida para la obtención de información con la cual poder establecer diferencias entre los individuos estudiados.		
OBSERVACIONES (Desarrollo de las diferencia detectadas entre la metodología propuesta y la desarrollada)	No hay observaciones.		

Estandarización de una marcha analítica de identificación molecular de las especies.		GRADO DE CUMPLIMIENTO [%] (Es el grado en que la metodología desarrollada se ajusta a la propuesta)	100%
INTERPRETACION GRADO DE CUMPLIMIENTO	Se estandarizó un procedimiento analítico en base a protocolos de trabajo basado en técnicas moleculares (PCR), capaces de identificar cualquier especie de <i>Pseudococcidae</i> , independiente de su estado de desarrollo. La estandarización fue probada en muestras ciegas dando buenos resultados.		
VALIDEZ DE LA METODOLOGIA	El planteamiento analítico establecido cuenta con la validez científica relacionada al tema, respaldada además por un protocolo de trabajo probado y validado.		
OBSERVACIONES (Desarrollo de las diferencia detectadas entre la metodología propuesta y la desarrollada)	No hay observaciones		

Publicación	GRADO DE CUMPLIMIENTO [%] (Es el grado en que la metodología desarrollada se ajusta a la propuesta)	100%
INTERPRETACION GRADO DE CUMPLIMIENTO	Se realizó la publicación de los resultados, los cuales se encuentran disponibles para productores y exportadores de fruta, como también están en manos de los agentes competentes del Servicio Agrícola y Ganadero. Junto con esto, se realizó la presentación de los resultados en seminarios y congresos referentes al tema.	
VALIDEZ DE LA METODOLOGIA	La publicación de los resultados es una metodología válida para presentar y difundir los conocimientos generados.	
OBSERVACIONES (Desarrollo de las diferencia detectadas entre la metodología propuesta y la desarrollada)	No hay observaciones.	

IX ANALISIS PLAN DE TRABAJO

ACTIVIDADES (Actividades que comprende el desarrollo del proyecto)	CUMPLIMIENTO PLAZOS (Indica si se cumplen o no los plazos propuestos para la actividad)	CUMPLIMIENTO DE CONTENIDOS (Indica si se cumplen o no los contenidos propuestos para la actividad)	OBSERVACIONES (Explicar los motivos de los problemas detectados en el análisis)
Contratación de personal	SI	SI	-----
Colecta de campo	SI	NO	Segunda colecta realizada no fue completa por factores externos
Montaje de insectos	SI	SI	-----
Crianza	SI	SI	-----
PCR	SI	SI	-----
Obtención de ADN de diferentes especies/estados de desarrollo	SI	SI	-----
Optimización de PCR	SI	SI	-----
RAPD	SI	SI	-----
AFLP	SI	SI	-----
PCR de genes ribosomales	SI	SI	-----
Identificación de los mejores partidores de RAPD y AFLP	SI	SI	-----
Identificación de bandas discriminativas entre especies	SI	SI	-----
Secuenciación de ADN	SI	SI	-----
Diseño de partidores de PCR	SI	SI	-----
Desarrollo de protocolo de identificación de diferentes especies de Pseudococcidae	SI	SI	-----
Examen a microscopio barrido	SI	SI	-----
Validación con muestras de campo (productores, SAG)	SI	SI	-----
Informes de avance			

Informe final	SI	SI	-----
Participación en congresos	SI	SI	-----
Publicaciones	SI	SI	-----

X RESULTADOS

(Son los logros que se proyectaba alcanzar y los que efectivamente se obtuvieron mediante el desarrollo del proyecto)

ESPERADO (Ver punto VI)	OBTENIDO (Resultados conseguidos al final del proyecto)	CONCLUSION
1	Determinación morfológica de cada especie de chanchito blanco conocida, además de las dos especies nuevas.	A partir del resultado del resultado obtenido, se confeccionó clave taxonómica la cual permite identificar individuos adultos hembra de cualquier especie de <i>Pseudococcidae</i> , como también de estados inmaduros (3° instar) a excepción de <i>P. sp 2</i> .
2	Identificación de individuos adultos e inmaduros de las especies de chanchito blanco mediante la extracción de ADN y la aplicación de métodos genéricos como RAPD y AFLP.	A partir del resultado obtenido, se estableció la metodología de trabajo adecuada para la identificación de individuos de <i>Pseudococcidae</i> en cualquier estado de desarrollo. La técnica esta validada científicamente y técnicamente simple y rápida.
3	Descripción de dos nuevas especies, tanto <i>Pseudococcus sp1</i> como <i>Pseudococcus sp 2</i> . Sin embargo, <i>P. sp 2</i> sólo pudo ser caracterizado en su estado adulto, mientras que <i>P. sp1</i> se caracterizó tanto su estado adulto como en su tercer instar (inmaduro).	A partir del resultado obtenido, ha sido posible describir las dos nuevas especies de chanchito blanco. Sin embargo, la especie <i>P. sp 2</i> sólo pudo ser descrita en su estado adulto. Para la identificación de sus estados inmaduros se puede realizar la técnica molecular para caracterizar su ADN.
4	Publicación de los resultados obtenidos. Se puso a disposición de exportadores y fruticultores del país, como también de los agentes competentes del Servicio Agrícola y Ganadero.	A partir del resultado obtenido, fue posible instalar las capacidades necesarias para detectar y caracterizar cualquier individuo de la especie de <i>Pseudococcidae</i> y así disminuir los rechazos de fruta de exportación.

Observación: en caso que se obtengan resultados no esperados, su situación esperada se identificará como "N/E" (No esperado)

XI EVALUACION ECONOMICA

VAN			OBSERVACIONES
PROPUESTO	OBTENIDO	VARIACION PORCENTUAL	
\$3.254.627.000	No especificado	-----	El VAN propuesto es obtenido de forma poco clara, ya que no son aplicados correctamente los criterios mencionados por los ejecutores del proyecto, sin justificar los cambios realizados.
TIR			OBSERVACIONES
PROPUESTO	OBTENIDO	VARIACION PORCENTUAL	

95%	No especificado	-----	La tasa interna de retorno es calculada sobre un VAN de dudosa procedencia, por tanto su validez es igualmente cuestionada.
-----	-----------------	-------	---

XII EVALUACION SILVOAGROPECUARIA

(Establecer el impacto que tiene el proyecto sobre los recursos del sector silvoagropecuario)

RECURSO: Exportación

SIN PROYECTO (Situación inicial del recurso)	Rechazo de las principales frutas de exportación por presencia de chanchito blanco. La mayor cantidad de fruta rechaza corresponde a uva de mesa, peras, manzanas y ciruelas, mientras que el mayor porcentaje se centra en paltas y peras.	CON PROYECTO (Situación final del recurso)	Disminución en el porcentaje de rechazo de fruta de exportación. La detección, identificación y caracterización de las diferentes especies de <i>Pseudococcidae</i> permite establecer si el individuo detectado es de carácter cuarentenario o no.
EFECTO (Cambio que genera en el entorno agrícola la nueva situación del recurso)	Ante el nuevo escenario tras la implementación de los resultados obtenidos, el recurso exportación observaría un incremento sustancial en el porcentaje de fruta de exportable sin rechazo por presencia de chanchito blanco. En otras palabras, la detección, identificación y caracterización de cualquier especie de <i>Pseudococcidae</i> en cualquiera de sus estados de desarrollo, permitirá a productores y exportadores mejorar la condición de su fruta evitando en un alto porcentaje tratamientos cuarentenarios (bromuro de metilo).		
OBSERVACIONES	No hay observaciones.		

RECURSO: Fitosanitario

SIN PROYECTO (Situación inicial del recurso)	La presencia de especies de <i>Pseudococcidae</i> no identificadas implica un mayor uso de agentes insecticidas sin discriminar si la especie a controlar es cuarentenaria o no. Por otra parte, el tratamiento cuarentenario (bromuración) se realiza indistintamente sea cual sea la especie detectada, lo que se traduce en una pérdida de condición de la fruta.	CON PROYECTO (Situación final del recurso)	Una vez integrado los resultados del proyecto a la planificación de actividades entorno al recurso fitosanitario, se podrá observar un mejor uso de agentes insecticidas, como también prescindir de tratamiento cuarentenario en muchos casos donde la especie detectada también esté presente en el mercado de destino.
EFECTO (Cambio que genera en el entorno agrícola la nueva situación del recurso)	El efecto inmediato una vez implementado los resultados obtenidos, será graficado en el aumento de fruta exportable sin tratamiento de bromuro de metilo. Se podrá mejorar el manejo integrado de plagas (en particular chanchito) optimizando el monitoreo y caracterización de individuos pertenecientes a la especie <i>Pseudococcidae</i> . Junto con esto se podrá mejorar la calidad del servicio de control fitosanitario aduanero, donde las posibles especies de chanchito detectadas en frutas y/u hortalizas, como otros tejidos vegetales, puedan ser identificadas y caracterizadas impidiendo su ingreso al país manteniendo de esta forma el patrimonio fitosanitario.		
OBSERVACIONES	No hay observaciones.		

XIII EVALUACION SOCIAL PROPUESTA DEL PROYECTO

Proceso de identificación, medición y valorización de los beneficios y costos de un proyecto desde el punto de vista del bienestar social (sociedad en su conjunto)

<p>BENEFICIOS (Considerada beneficios en áreas tales como: Consumo, crecimiento, empleo, redistribución del ingreso y necesidades meritoria)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Crecimiento: Hace referencia al aumento del sector de exportación frutícola. • Empleo: Se generan impactos sobre la creación y la transformación del empleo en el área de exportación frutícola. • Necesidades meritorias: Se propone la realización de actividades de Seminario y un Curso teórico-práctico.
<p>DESCRIPCION (Explicación sobre como es presentado el beneficio dentro del proyecto)</p>	<p>El proyecto impactará positivamente la posición competitiva de la actividad de producción y exportación de fruta, a través de la disminución de rechazos de fruta de exportación por presencia de chanchito blanco, cuya identificación a nivel de especie o de estado inmaduros no está disponible. Esto a su vez impactará el empleo en el sector ya que la actividad de exportación frutícola es intensiva en mano de obra, por lo tanto un aumento en esta aportaría en la generación de empleo directo (en la producción y empaque de la fruta) e indirecto (en todas aquellas actividades de servicios asociadas). A fin de mejorar los impactos del proyecto en cuestión se proponen actividades extras de educación y difusión las cuales tendrán por propósito el difundir el quehacer científico que se desarrolla en el Laboratorio de Biotecnología del INIA y al mismo tiempo entregar al personal del SAG los conocimientos básicos para entender los principios fundamentales de las técnicas moleculares (específicamente el PCR).</p>
<p>METODOLOGIAS DE CALCULO Y/O ANALISIS (Comprende la revisión de las técnicas de evaluación social propuestas y utilizadas)</p>	<p>Línea base definida: Se propone como base de análisis las estadísticas presentadas sobre los rechazos de la temporada 1997/98, y una estimación de la magnitud de las pérdidas económicas para el país derivada de estos rechazos. Se concluye a través de la información proporciona que:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Si se estima el valor de la pérdida (valor FOB menos valor mercado interno), la uva de mesa es donde se registran las mayores pérdidas (más de MM\$ 800 al año), seguido por ciruelas (más de MM\$ 400/año), paltas y peras (entre MM\$ 250 y MM\$ 300). La cifra total sólo para las nueve frutas más relevantes ascendió la temporada pasada a MM\$ 2.045 (o MUS\$ 3.600.-). • En cuanto a cantidad de fruta perdida, se estima que los rechazos por este concepto alcanzan a 7.000 toneladas de fruta. <p>Metodología: Es propuesto un impacto estimado de al menos un 10 %, lo cual significa que los rechazos disminuirán en un 10%, la fruta podrá cumplir con los requerimientos cuarentenarios para ser exportadas al conocerse la identificación de la especie del insecto, por medio de una caracterización morfológica y molecular de la especie de chanchito identificada.</p> <p>Cálculo y análisis: El cálculo de la disminución de pérdidas fue proyectado a 15 años, la disminución de las perdidas fue presentada en un orden ascendente, la cual comienza con una disminución del 1% de las pérdidas y concluye en el año 15 con una disminución del 20%. A raíz de lo anterior es calculado el VAN y TIR presentado por el proyecto, considerando:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inversión inicial: La requerida para la ejecución del proyecto y una inversión definida para la continuidad del proyecto. • Flujos futuros (+): La disminución de perdidas pro fruta rechazada • Flujos futuros (-): Sueldos y honorarios, Servicios de terceros, Pasajes y traslados, Viático, Insumos y suministros, Gastos de administración, Costos de continuación.
<p>OBSERVACIONES (Sugerencias alcances y salvedades identificadas)</p>	<p>Beneficios propuestos: En cuanto a los beneficios propuestos por los ejecutores del proyecto, estos no son vueltos a tomar en consideración en el informe final del proyecto, lo cual provoca inseguridad en cuanto al impacto social generado por la ejecución del proyecto en cuestión, por otro lado, no se cuantificó el efecto en el empleo mencionado durante la propuesta, ni tampoco fue evidenciada la relación existente entre la disminución de las pérdidas en el área y la generación de empleo, enunciándose esto último como una consideración sin una base de respaldo. Por otro lado si fueron considerados en la presentación final del proyecto la realización de seminarios y cursos de capacitación, los cuales muestran cualitativamente un aporte al avance del sector. Es importante nombrar que estos últimos no fueron nombrados como beneficios sociales en la propuesta inicial, ignorando su carácter y aporte al impacto social en cuanto a la educación y difusión de avances en el área.</p> <p>Línea base: La línea base propuesta aporta información fundamental sobre el impacto económico de las pérdidas provocadas en el sector frutícola pero deja de lado una variable fundamental como el empleo. No se presentan fuentes que respalden la línea base, lo cual plantea incertidumbre sobre la información presentada. Una última salvedad sobre las proyecciones de las exportaciones es que estas se mantienen sin variación durante los 15 años aludidos, situación anormal, dada la variación constante</p>

	<p>que experimentan áreas como esta.</p> <p>Metodología: La metodología propuesta presenta situaciones poco justificadas, la cuantificación del impacto referente al 10% de la disminución de las pérdidas de las frutas exportadas rechazadas no explica su procedencia. Esta acción pone en tela de juicio el principal impacto generado por la ejecución del proyecto.</p> <p>En cuanto a la variable empleo, que fue considerada por los ejecutores como afectada por la implementación del proyecto, no es vuelta a tomar en consideración. Es importante destacar que no se presentan escenarios alternativos en cuanto al comportamiento de la disminución de pérdidas, un análisis de este tipo es de vital importancia dado que las múltiples incertidumbres que sobre todo pesan a largo plazo en el contexto general. Un análisis de este tipo hubiera aportado en el esclarecimiento de las opciones posibles y una disminución en el error esperado de la estimación.</p> <p>Calculo y análisis: El cálculo propuesto nos ilustra un cambio ascendente en la disminución de las pérdidas de fruta rechazada, comenzando con un disminución del 1% y finalmente se ven disminuidas en un 20%, pero no es explicado el porqué del cambio ascendente en las perdidas ni tampoco el resultado de un 20% final cuando inicialmente es enunciado que el cambio sería de un 10%, además tampoco es considerada la variación del empleo como variable a calcular ni la relación en el impacto de las variaciones de las pérdidas en las frutas exportadas con las variaciones del empleo, lo que lo deja a este último como un simple enunciado sin mayor base.</p> <p>El cálculo del VAN y TIR fue realizado de manera somera y dudosa, ya que los valores presentados, dan paso al cuestionamiento por la naturaleza de los valores como tal, números que escapan a la realidad para proyectos de este tipo, con retornos espectaculares y poco creíbles.</p> <p>En cuanto a los costos e ingresos propuestos, tienen una justificación poco clara, como por ejemplo las variaciones en los ingresos derivados de la disminución de las pérdidas y los costos de continuación, cuyo valor y procedencia no son evidenciadas en la propuesta de proyecto ni en el informe final del mismo.</p>
Observación: Sin observaciones	

XIV PROYECCION DEL BENEFICIO SOCIAL

(Estimación del impacto que tendrá el proyecto a nivel social)

<p>BENEFICIOS</p> <p>(Considerada beneficios en áreas tales como: Consumo, crecimiento, empleo, redistribución del ingreso y necesidades meritoria)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Crecimiento: Hace referencia al aumento del sector de exportación frutícola. • Empleo: Se generan impactos sobre la creación y la transformación del empleo en el área de exportación frutícola. • Necesidades meritorias: Se propone la realización de actividades de Seminario y un Curso teórico-práctico
<p>DESCRIPCION</p> <p>(Explicación sobre cómo se presentado el beneficio dentro del proyecto)</p>	<p>El proyecto impactará positivamente la posición competitiva de la actividad de producción y exportación de fruta, a través de la disminución de rechazos de fruta de exportación por presencia de chanchito blanco, cuya identificación a nivel de especie o de estado inmaduros no está disponible. Esto a su vez impactará en el empleo del sector, ya que la actividad de exportación frutícola es intensiva en mano de obra, por lo tanto un aumento en esta aportaría en la generación de empleo directo (en la producción y empaque de la fruta) e indirecto (en todas aquellas actividades de servicios asociadas).</p> <p>A fin de mejorar los impactos del proyecto en cuestión, se proponen actividades extras de educación y difusión, las cuales tendrán por propósito el difundir el quehacer científico que se desarrolla en el Laboratorio de Biotecnología del INIA y al mismo tiempo entregar al personal del SAG los conocimientos básicos para entender los principios fundamentales de las técnicas moleculares (específicamente el PCR).</p>
<p>METODOLOGIAS DE CALCULO Y/O ANALISIS</p> <p>(Comprende la ejecución de técnicas de evaluación social)</p>	<p>Línea base: La línea base propuesta aporta información fundamental sobre el impacto económico de las pérdidas provocadas en el sector frutícola pero deja de lado una variable fundamental como el empleo. No se presentan fuentes que respalden la línea base, lo cual plantea incertidumbre sobre la información presentada.</p> <p>Metodología: En base a lo realizado por los ejecutores del proyecto, se propone la realización de las siguientes etapas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Estimación de la variación experimentada por la reducción de los rechazos de frutas exportadas, tomando como referencia la disminución de un 10% propuesta, pero además tres posibles escenarios de análisis, uno optimista con un 15% de las pérdidas como ingreso, uno pesimista con una disminución de pérdidas de 5% y el propuesto de forma inicial por los desarrolladores del proyecto de un 10%.

	<ul style="list-style-type: none"> • Calcular el indicador financiero VAN y TIR (social) a fin de estimar los impactos derivados de la ejecución del proyecto. • Determinar el grado de relación entre la disminución de los rechazos por la presencia de esta plaga y el empleo en el sector enunciado, además se plantea la estimación de los cambios en el empleo, si resultara significativa la relación entre las variables antes nombradas. <p>Cálculo y análisis: Según la información proporcionada por los ejecutores del proyecto como línea base, la cual por su naturaleza difusa imposibilita la ejecución de la metodología (que consta de tres etapas) de análisis y cálculo propuesta. Solo es posible realizar el análisis sobre la ejecución de las actividades meritorias propuestas de difusión y educación, actividades que son presentadas en el informe final del proyecto. De estas últimas podemos nombrar que presentan un impacto positivo en la población, dada las experiencias anteriores de educación realizadas por el SAG, suponiendo que fueron absorbidas por las personas del área y que finalmente implementaron este nuevo conocimiento, lo cual potencia los resultados obtenidos en el impacto social y es una herramienta para una posible proyección del impacto de esta misma.</p>
CONCLUSIONES	<p>El proyecto presenta un impacto económico declarado en la propuesta inicial, el cual carece de bases que puedan validar lo enunciado, por ende, los resultados obtenidos dejan un vacío en este punto de la evaluación. Por el contrario es destacable la ejecución de actividades de difusión y capacitación, las cuales obedecen a la clasificación de actividades meritorias, siendo estas últimas solo posibles de caracterizar de manera cualitativa y no cuantitativa, no pudiendo hacer una proyección más acabada respecto a su impacto en el sector, dado que no fue presentado un seguimiento o análisis sobre aquellos que recibieron la capacitación.</p>
Observación: Sin observaciones	

XV CONCLUSION FINAL DEL PROYECTO

Proposición final, a la que se llega después de la consideración de la evidencia, de las discusiones o de las premisas identificadas en el proyecto evaluado

En base a los análisis realizados sobre el proyecto “Identificación de pseudococcidae (chanchitos blancos) presentes en Chile y en vegetales de exportación: estudio morfológicos y moleculares”, es posible mencionar que:

- El desarrollo técnico del estudio es claro y metodológico, cuya información generada a partir de las técnicas moleculares y estudios morfológicos facilitará la detección y caracterización de individuos adultos como también de estados inmaduros del género *pseudococcidae*.
- No se detalla en informe final el tiempo que demora en realizarse el análisis molecular (PCR – RAPD) para la caracterización de estados juveniles de chanchito blanco, con lo cual corroborar lo planteado en propuesta final (análisis de rápido y fácil de realizar).
- La evaluación económica realizada por los ejecutores del proyecto es incierta, ya que pierde el principal objetivo de la misma que no es otro que la obtención de elementos de juicios necesarios para la toma de decisiones de ejecutar o no el proyecto, respecto a las condiciones que ofrece dicho proyecto, esto debilita la viabilidad del proyecto, mas aún cuando los resultados presentados por los ejecutores en el ítem de indicadores financieros de decisión escapan a la realidad con valores algo confusos de dudosa procedencia.
- El proyecto carece de algunos argumentos que permitan definir la situación del país con la ejecución del proyecto versus sin la ejecución del proyecto, dado que son realizados análisis sin un respaldo tras los mismos que permitan demostrar que la inversión impactará de forma positiva a la sociedad. Sin embargo con los datos encontrados, y bajo los supuesto de que el proyecto se haya difundido a nivel país, sobre todo fuertemente en las regiones en estudio y con la disminución de pérdidas señalada (10%), fue posible obtener el impacto social generado, el cual indica que para una proyección de 15 años el proyecto genera un VAN de M\$487.074 y un TIR de 63%. Los beneficios sociales enunciados son acordes con el área de ejecución del proyecto (salvo la falta de seguimiento), es posible decir que, la realización de las capacitaciones y difusión de los resultados obtenidos son elementales para el mejoramiento del sector, pero sería interesante hacer un seguimiento profundo de modo que esto quede demostrado de forma mucho más clara, evitando los márgenes de error.
- Finalmente es posible concluir que la estructura de presentación final del proyecto presenta discordancias con la formulación inicial de postulación del proyecto y la presentación final, esto es observado en distintos puntos unos más relevantes que otros como por ejemplo el cambio de objetivos o la deformación de los mismos. Si bien es claro que este tipo de proyectos está sujeto o condicionado en gran medida a los cambios en el entorno, es necesaria la creación de una cierta estructura de presentación que otorgue orden y flexibilidad a la presentación final del proyecto, donde sea posible la realización de cambios con respecto a la propuesta inicial pero al mismo tiempo la justificación y respaldo de los mismos.