

**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD BIOCONTROLADORA DE *Bacillus subtilis* y DOS
CEPAS NATIVAS DE *Trichoderma* spp. SOBRE LA INCIDENCIA Y SEVERIDAD DEL OIDIO
DE LA VID (*Uncinula necator*) EN *Vitis vinifera* VARIEDAD CABERNET SAUVIGNON**

POR

ERNESTO ESTEBAN CHAMORRO JARA

MEMORIA DE TÍTULO

**Presentada a la
Universidad de Talca como
Parte de los requisitos para optar al título de**

INGENIERO AGRÓNOMO

**TALCA-CHILE
2006**

APROBACIÓN:

Profesor guía

**Ing. Agr., M.Sc., Ph. D. Mauricio Lolas Caneo
Profesor Escuela de Agronomía
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Talca**

Profesor informante

**Ing. Agr., M.Sc., Ph. D. Claudio Sandoval Briones
Profesor Escuela de Agronomía
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Talca**

Fecha de presentación de Memoria de título: 29 de Diciembre de 2006.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por proporcionarme las herramientas necesarias en mí vida para poder salir adelante, por darme fuerza y tranquilidad, por nunca dejarme de lado, estando siempre conmigo ayudándome en momentos difíciles y por supuesto por regalarme una familia hermosa de la cual siento gran orgullo y admiración.

A MI FAMILIA

Primero que todo a mi madre por darme su inmenso amor, comprensión y cariño, por formar de mí una persona de bien, por hacer que no tenga otra preocupación en mi vida que estudiar, dándome la tranquilidad y calma, apoyándome constantemente en mi vida independiente si este bien o mal. Se que no he sido una tarea fácil, pero tu la has sabido llevar mejor que nadie y lo único que te puedo decir mil gracias por todo lo que me has dado y que siempre estaré junto a ti... Te amo.

A mi padre por entregarme valiosos valores que van conmigo a medida que me desarrollo como persona, por entenderme siempre, brindándome su apoyo en todo, por nunca dejarme de lado. Quiero decirte que sin tu ayuda hubiera sido muy difícil poder llegar al termino de mi carrera, aunque no estés en forma física acompañándome siempre te siento cerca de mí, se que desde arriba me ayudaste muchas veces dándome el empujoncito que me faltaba, esta tarea por lo menos esta cumplida y va dedicada a ti con todo mi amor ya que también fue tu profesión que tanto quisiste, estoy seguro que siempre vas a estar conmigo cuidando de mí y de mi familia. Gracias...Te amo.

A mis hermanas que las quiero mucho y siempre voy a estar con uds. cuando lo necesiten y se que uds también conmigo, ya lo e sentido cuando e requerido de uds siempre han estado ahí para brindarme una mano, las quiero y amo mucho.

A MIS PROFESORES

Agradezco a mi profesor guía Mauricio Lolas, por su apoyo, disposición y comprensión, regalándome sus conocimientos, dándome la seguridad y confianza que muchas veces me faltó. Por que más que un excelente profesional, es un excelente persona que es lo que a final de cuenta vale, gracias a Dios por haberlo conocido y a ud por permitirme conocerlo más, muchas gracias por todo, de corazón.

A mi profesor informante Claudio Sandoval, por siempre estar disponible, por sus consejos, por su ayuda y también por su excelente calidad humana, creo que Dios sabe por que hace las cosas pero yo si se que me toco dos profesores extraordinarios tanto profesionalmente como personalmente y es por eso que se los agradezco, fue muy grato haber trabajado con uds. Gracias por todo.....

Al departamento de Fitopatología de la Universidad de Talca por su apoyo, por soportarme meses enteros en el laboratorio, especialmente a Eduardo, Cristian, y Anita gracias....

A MIS AMIGOS Y POLOLA

A mis compañeros y compañeras en general de la generación del 2001. Son muchas las personas que han sido de gran apoyo a lo largo de mi carrera, por eso quiero agradecer a todos ellos e especial a Orlando parada (chico migraña) y Adriel que fueron mis primeros amigos en la carrera con los que estude y carretiábamos, esas tardes de calor con sus cervecitas hasta que quedábamos bien "hapy". A Gabriel Aranda (Pura espalda), Sebastián Juillerat (El protocolo), Ivan Cornejo (No... eso es mentira), que además de ser mis compañeros se transformaron en mis amigos, con los que estudiábamos largas y tediosas noches y por supuesto carretiábamos largas noches también hasta la amanecida ¡Que recuerdos!. Se van a extrañar todos esos momentos, cuantas risas, conversaciones difíciles a veces, en que nos contábamos de todo y por supuesto cuanto ¡webeoo!, que nunca se van a olvidar. A Felipe Larenas y Alexis Molina, que en los últimos años se transformaron en grandes amigos. A Garay, Poroto, Tonino, Fuad, Feña, Gonzalo.... A mis amigas Varinia labarra, Barbara lopez, Maria jose, Andrea Ormeño, juanita cayo. En general a todas mis compañeras muchas gracias.... Se que les irá muy bien en su vida y en todo lo que hagan. Gracias a todos uds.

A mis amigos fuera de la Universidad especialmente a Cristian, Carolina, José, Marlene, Felipe, Gustavo, Ricardo y Camilo...gracias por su apoyo y confianza.... A mi polola Karín Toledo, por su gran apoyo, por brindarme tranquilidad y por siempre estar impulsándome, dándome esa confianza que necesitaba. Te amo mucho y gracias por todo....

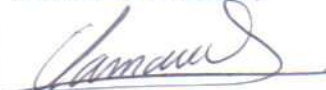
**Autorización para la publicación
de memorias de Pregrado y tesis de Postgrado**

Yo **Ernesto Esteban Chamorro Jara** cédula de Identidad N° **15.133.901-8** autor de la memoria o tesis que se señala a continuación, autorizo a la Universidad de Talca para publicar en forma total o parcial, tanto en formato papel y/o electrónico, copias de mi trabajo.

Esta autorización se otorga en el marco de la ley N° 17.336 sobre Propiedad Intelectual, con carácter gratuito y no exclusivo para la Universidad.

Título de la memoria o tesis:	EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD BIOCONTROLADORA DE <i>Bacillus subtilis</i> y DOS CEPAS NATIVAS DE <i>Trichoderma</i> spp. SOBRE LA INCIDENCIA Y SEVERIDAD DEL OIDIO DE LA VID (<i>Uncinula necator</i>) EN <i>Vitis vinifera</i> VARIEDAD CABERNET SAUVIGNON.
Unidad Académica:	Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera o Programa:	Agronomía
Título y/o grado al que se opta:	Ingeniero Agrónomo Y Licenciado en Ciencias Agrarias.
Nota de calificación	6.6

Firma de Alumno



Rut: 15.133.901-8

RESUMEN

El oidio de la vid, causado por el hongo *Uncinula necator* (Schwein.) Burril (anamorfo: *Oidium tuckeri* Berk.) se encuentra presente a lo largo de todo Chile y ha causado millonarias pérdidas importantes a productores de vid vinífera (*Vitis vinifera* L.), invadiendo todos los tejidos aéreos y verdes de ésta. El desarrollo de nuevas alternativas para el control de esta enfermedad es de suma importancia, debido a que cada vez es más trascendental en el contexto mundial y nacional, la salud humana y la contaminación al medio ambiente. Para esto se realizó esta investigación, con el propósito de determinar si es posible la utilización de controladores biológicos tales como *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp., como otra alternativa menos invasora y perjudicial en el control de *Uncinula necator*. Por lo anterior se avaluó la capacidad biocontroladora de *Trichoderma harzianum* cepa Queule más *Trichoderma virens* cepa Sherwood (Trichonativa) y *Bacillus subtilis* cepa Antumavida (Nacillus), tanto en forma individual como en mezcla en el control de oidio en vid vinífera variedad Cabernet Sauvignon. El ensayo se efectuó en un diseño experimental completamente al azar, evaluándose ocho tratamientos con tres repeticiones cada uno. Cada unidad experimental constó de 10 plantas, las cuales fueron asperjadas en uno, dos y tres estados susceptibles de la vid, siendo éstos grano 4 - 5 mm, 50% pinta y 100% pinta, a una dosis de 150cc/Hl de Trichonativa (en una concentración de 10^9 conidias/ml) y 5 g/Hl, de Nacillus. Las evaluaciones realizadas correspondieron a incidencia y grados de severidad de *U. necator* en 45 racimos seleccionados al azar en cada unidad experimental. Los resultados obtenidos mostraron que la incidencia alcanzada por los racimos de las plantas testigo fue de un 98.5%, con grados de severidad que fluctuaron entre 1 y 4. Los siete tratamientos con los productos Trichonativa, Nacillus y la mezcla de estos, presentaron una reducción significativa de la enfermedad. Sin embargo los tratamientos con la mezcla de los productos Trichonativa + Nacillus y solo Nacillus, aplicado en tres estados susceptibles de la vid, presentaron los mejores resultados, obteniendo una incidencia de la enfermedad significativamente menor ($P < 0,001$) a la presentada por los racimos testigo. Estos valores fluctuaron entre 37,04 y 45,2% respectivamente, no presentando diferencias significativas entre sí. Lo anterior sugeriría que es posible utilizar estos biocontroladores para reducir la incidencia y severidad de *U. necator* en Cabernet Sauvignon y que sería necesario realizar investigaciones destinadas a evaluar su efectividad en reducir o eliminar infecciones latentes en brotes de 10 o 20 cm y en floración, o complementar las aplicaciones con otros fungicidas.

ABSTRACT

Powdery mildew in *Vitis vinifera* is caused by the fungus *Uncinula necator* and it is present at the different production areas in Chile causing important losses. The fungus infects all the aerial green tissues in the plant. Evaluate new control alternatives for this disease appears as important considering the environmental restrictions and human health concerns. According to this, this experiment has as an objective to evaluate the efficiency of *Bacillus* and *Trichoderma* as biological controllers of *Uncinula necator*. The strains Queule and Sherwood of *Trichoderma* and Antumavida (*Bacillus*) were evaluated in a vineyard of Cabernet Sauvignon. The plants were spray with the antagonistic agents, at one, two or three of the susceptible stages to the disease. At the end of the experiment it was evaluated the incidence and severity of powdery mildew in each experimental unit. The results obtained showed incidence levels of 98.5% and severity between 1 and 4 in the plants without application. Treatments with application of *Trichoderma* and *Bacillus* showed a significant reduction in the presence of the disease. However the best results were obtained by the treatment with a mixture of both antagonistic agents and *Bacillus* (an incidence of 37.04 and 45.2% respectively) applied at the three susceptible stages. This suggests that it is possible use these biological controllers to reduce the incidence and severity of *Uncinula necator* in *Vitis vinifera*, Cabernet Sauvignon. However it is necessary to evaluate its efficiency reducing latent infections in the plant being applied with regular fungicides.

ÍNDICE

I.- INTRODUCCIÓN.....	1
II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1.- Oidio de la vid.....	4
2.1.1.- Agente causal.....	4
2.1.2.- Morfología.....	4
2.1.3.- Supervivencia.....	5
2.1.4.- Infección.....	6
2.2.- Desarrollo de la enfermedad causada por <i>Uncinula necator</i> (oidio de la vid).....	8
2.2.1.- Sintomatología y daños.....	8
2.2.2.- Condiciones predisponentes a la enfermedad.....	12
2.2.3.- Manejo y prevención.....	14
2.2.4.- Susceptibilidad varietal.....	15
2.2.5.- Resistencia de <i>Uncinula necator</i> a fungicidas.....	17
2.2.6.- Alternativas en el control de <i>Uncinula necator</i>	18
2.2.6.1.- Tratamientos químicos.....	18
2.2.6.2.- Control biológico.....	22
2.3.- Características generales de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Trichoderma</i> spp.....	22
a) <i>Bacillus subtilis</i>	22
b) <i>Trichoderma</i> spp.....	25
III.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1.- Material vegetal.....	28
3.2.- Efectividad de biocontroladores aplicados en distintos estados fenológicos de la vid	28
3.2.1.- Definición del ensayo.....	28
3.2.2.- Diseño experimental.....	29
3.2.3.- Determinación de la incidencia y severidad de <i>U. necator</i> en los racimos.....	30

3.2.4.- Análisis de resultados.....	31
IV.- RESULTADOS.....	32
4.1.- Efectividad biocontroladora de <i>Trichoderma harzianum</i> cepa Queule más <i>Trichoderma virens</i> cepa Sherwood (Trichonativa), <i>Bacillus subtilis</i> cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid.....	32
4.1.1.- Efecto sobre la incidencia de la enfermedad.....	32
4.1.2.- Efecto sobre la severidad de la enfermedad.....	36
V.- DISCUSIÓN.....	46
VI.- CONCLUSIONES.....	50
VII.- BIBLIOGRAFÍA.....	51

ÍNDICE DE CUADROS

CAPITULO II

Cuadro 2.1. Susceptibilidad relativa al oidio (<i>Uncinula necator</i>) de los principales cultivares de vid vinífera (<i>Vitis vinifera</i>).....	16
Cuadro 2.2. Principales grupos de fungicidas recomendados para el control del oidio de la vid (<i>Uncinula necator</i>).....	19
Cuadro 2.3. Fungicidas inhibidores de Esterol utilizados en el control de <i>Uncinula necator</i> en vides en Chile (con registro y tolerancia en USA).....	21
Cuadro 2.4. Fungicidas inhibidores de Esterol utilizados en el control de <i>Uncinula necator</i> en vides en Chile (sin registro ni tolerancia en USA).....	21

CAPITULO III

Cuadro 3.1. Tratamientos biológicos (<i>Bacillus</i> spp. y <i>Trichoderma</i> spp.) a evaluar en su eficacia para el control de oidio en <i>Vitis vinifera</i> variedad Cabernet Sauvignon. Temporada 2005/2006.....	29
---	----

CAPITULO IV

Cuadro 4.1. Incidencia del oidio de la vid, causado por <i>Uncinula necator</i> en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores <i>Trichoderma harzianum</i> cepa Queule más <i>Trichoderma virens</i> cepa Sherwood (Trichonativa), <i>Bacillus subtilis</i> cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid. Temporada 2005/2006. Evaluación 27/12/05.....	32
Cuadro 4.2. Incidencia del oidio de la vid, causado por <i>Uncinula necator</i> en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores <i>Trichoderma harzianum</i> cepa Queule más <i>Trichoderma virens</i> cepa Sherwood (Trichonativa), <i>Bacillus subtilis</i> cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid. Temporada 2005/2006. Evaluación 25/01/06.....	33
Cuadro 4.3. Incidencia del oidio de la vid, causado por <i>Uncinula necator</i> en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores <i>Trichoderma harzianum</i> cepa Queule más <i>Trichoderma virens</i> cepa Sherwood (Trichonativa), <i>Bacillus subtilis</i> cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid. Temporada 2005/2006. Evaluación 16/02/06.....	34

<p>Cuadro 4.4. Severidad del oidio de la vid causada por <i>Uncinula necator</i> en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores <i>Trichoderma harzianum</i> cepa Queule más <i>Trichoderma virens</i> cepa Sherwood (Trichonativa), <i>Bacillus subtilis</i> cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid. Temporada 2005/2006. Evaluación 27/12/05.....</p>	37
<p>Cuadro 4.5. Severidad del oidio de la vid causada por <i>Uncinula necator</i> en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores <i>Trichoderma harzianum</i> cepa Queule más <i>Trichoderma virens</i> cepa Sherwood (Trichonativa), <i>Bacillus subtilis</i> cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid. Temporada 2005/2006. Evaluación 25/01/06.....</p>	39
<p>Cuadro 4.6. Severidad del oidio de la vid causada por <i>Uncinula necator</i> en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores <i>Trichoderma harzianum</i> cepa Queule más <i>Trichoderma virens</i> cepa Sherwood (Trichonativa), <i>Bacillus subtilis</i> cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid. Temporada 2005/2006. Evaluación 16/02/06.....</p>	41

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPITULO IV

- Figura 4.1.** Incidencia del oidio de la vid, causado por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores *Trichoderma harzianum* cepa Queule + *Trichoderma virens* cepa Sherwood (Trichonativa) más *Bacillus subtilis* cepa Antumavida (Nacillus) (T8) y *B. subtilis* cepa Antumavida (T5), en comparación con el tratamiento testigo (T1), evaluados en tres fechas (27 de Diciembre; 25 de Enero y 16 de Febrero). Temporada 2005/2006..... 35
- Figura 4.2.** Severidad dos, que corresponde a racimos que presentan entre 1 - 25% de sus bayas con signos de oidio de la vid, causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores Trichonativa y Nacillus, empleados sólo en un estado fenológico de la vid (grano 4 - 5 mm). Evaluación realizada en tres oportunidades (27 de Diciembre, 25 de Enero, 16 de Febrero). Temporada 2005/2006..... 42
- Figura 4.3.** Severidad cuatro, que corresponde a racimos que presentan entre 51 - 100% de sus bayas con signos de oidio de la vid, causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores Trichonativa y Nacillus, empleados sólo en un estado fenológico de la vid (grano 4 - 5 mm). Evaluación realizada en tres oportunidades (27 de Diciembre, 25 de Enero, 16 de Febrero). Temporada 2005/2006..... 42
- Figura 4.4.** Severidad dos, que corresponde a racimos que presentan entre 1 - 25% de sus bayas con signos de oidio de la vid, causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores Trichonativa, Nacillus y la mezcla de estos, empleados en dos estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm, 50% pinta). Evaluación realizada en tres oportunidades (27 de Diciembre, 25 de Enero, 16 de Febrero). Temporada 2005/2006..... 43
- Figura 4.5.** Severidad cuatro, que corresponde a racimos que presentan entre 51 - 100% de sus bayas con signos de oidio de la vid, causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores Trichonativa, Nacillus y la mezcla de estos, empleados en dos estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm, 50% pinta). Evaluación realizada en tres oportunidades (27 de Diciembre, 25 de Enero, 16 de Febrero). Temporada 2005/2006..... 43
- Figura 4.6.** Severidad dos, que corresponde a racimos que presentan entre 1 - 25% de sus bayas con signos de oidio de la vid, causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores Nacillus y la mezcla de Trichonativa + Nacillus, empleados en tres estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm, 50% pinta, 100% pinta). Evaluación realizada en tres oportunidades (27 de Diciembre, 25 de Enero, 16 de Febrero). Temporada 2005/2006..... 44

Figura 4.7. Severidad cuatro, que corresponde a racimos que presentan entre 51 - 100% de sus bayas con signos de oidio de la vid, causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores Nacillus y la mezcla de Trichonativa + Nacillus, empleados en tres estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm, 50% pinta, 100% pinta). Evaluación realizada en tres oportunidades (27 de Diciembre, 25 de Enero, 16 de Febrero). Temporada 2005/2006.....

I.- INTRODUCCIÓN

La vid (*Vitis vinifera*) es uno de los cultivos frutales más extensamente plantados en el mundo, cubriendo un área de unos 10 millones de hectáreas aproximadamente. Se desarrolla tanto en regiones templadas como tropicales, pero la mayoría de los viñedos están establecidos en zonas de climas templados, concentrándose la mayor cantidad en Europa (Pearson, 2001).

La especie de vid *Vitis vinifera*, de Europa y Asia Occidental, es la única significativamente cultivable. Sus bayas son de sabor succulento, grandes, con aptitudes viníferas. El jugo de sus frutos fermentado se transforma en vino y brandy. También se come en fresco como uva de mesa y mediante su almacenamiento en frío en ambos hemisferios, se puede consumir durante todo el año. También por secado, el fruto se convierte en pasas, de alto valor nutritivo. Jugos no fermentados, jugo concentrado helado y conservas son otros usos comunes de sus bayas (Pearson, 2001).

Esta especie no está libre de plagas y enfermedades, igual que en otros cultivos, los que pueden originar pérdidas notables en la producción agrícola (Hidalgo, 1993; Lampkin, 2001).

Dentro de estas, debido a los daños que produce si las condiciones climáticas le son favorables, está el oídio de la vid, cuyo agente causal es el hongo *Uncinula necator* (Schw.) (anamorfo *Oidium tuckeri* Berk.). Éste tiene su origen en América del Norte, habiendo sido descrito por Schweinitz en 1834 (Cruz, 2001). Luego se diseminó a Europa específicamente a Inglaterra, donde fue descrito por Tucker en 1845 y en 1851 se encontraba extendido por Francia y otros países europeos especialmente España, país que invadió por completo en dos años (Branas, 1974).

La enfermedad fue descrita por primera vez en Chile en 1875 en el valle de Aconcagua (Mujica y Vergara, 1980). Actualmente tiene gran importancia económica mundial, tanto en viñedos como parronales, invadiendo brotes, hojas, inflorescencias, y bayas inmaduras, provocando incluso la pérdida total de la producción de vid (*Vitis vinifera* L.) (Gadoury *et al.*, 2001; Latorre, 1984; Latorre, 1992; Pearson, 1988). En Chile se encuentra en toda la zona vitícola, presentando una mayor incidencia en el norte del país, especialmente en las zonas altas de los valles del río Copiapó, Limarí y Aconcagua (Riveros, 2000).

Dado los cuestionamientos sobre los pesticidas convencionales, tanto por su efectos sobre la salud humana como el daño medio ambiental que provocan, es de suma importancia disponer de otras alternativas, que permitan controlar enfermedades como el oidio de la vid (*Uncinula necator*). Dentro de estas se encuentra el manejo de patógenos en la agricultura a través del uso de controladores biológicos como lo son especies del genero *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. virens*) y bacterias como *Bacillus subtilis* (Spurrier, 1990; Mendgen *et al.*, 1992).

Por lo tanto, como objetivo general de esta investigación se plantea determinar la efectividad de *Trichoderma harzianum* cepa nativa Queule más *Trichoderma virens* cepa Sherwood (proyecto FIA-UTALCA) y *Bacillus subtilis* cepa Antumavida en el biocontrol de *Uncinula necator* en *Vitis vinifera* variedad Cabernet Sauvignon.

Como objetivos específicos se señalan:

- Evaluar la incidencia y severidad de *Uncinula necator* en racimos de *Vitis vinifera* variedad Cabernet sauvignon, sometido a un programa de control, con los agentes biocontroladores *Trichoderma harzianum* más *Trichoderma virens* (Trichonativa), *Bacillus subtilis* (Nacillus) y la mezcla de éstos, en las épocas de mayor susceptibilidad.

- Comparar la eficiencia biocontroladora de *Trichoderma harzianum* más *Trichoderma virens* (Trichonativa), *Bacillus subtilis* (Nacillus) y la mezcla de éstos, en el control de *Uncinula necator* en un viñedo con historial de oidio de la vid.

II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1.- Oidio de la vid

2. 1.1.- Agente causal

El agente causal del oído de la vid presenta dos fases, *Uncinula necator* (Schwein.) Burril (fase sexual o teleomorfo), perteneciente a la Clase Ascomycete, Orden Erysiphales, familia Erisifáceos (Braun, 1999; Hidalgo, 1993) y *Oidium tuckeri* Berk (fase asexual o anamórfica) (Benlloch, 1961; Cruz, 2001). En conformidad con los últimos estudios taxonómicos y filogenéticos, éste correspondería al Subgénero Pseudoidium (Braun, 1999; Braun y Takamatsu, 2000).

2.1.2.- Morfología

Este patógeno se caracteriza por producir externamente sobre los órganos susceptibles de la vid, un micelio tabicado, conidias hialinas, ovoides y solitarias o en cortas cadenas sobre conidióforos, formando apresorios lobulados los que aparecen como pequeñas protuberancias laterales en las hifas o en el extremo del tubo germinativo, que tienen el propósito de fijarse al substrato. Invade únicamente las células epidermales donde forma haustorios para extraer agua y nutrimentos desde la célula hospedante (Bendek *et al.*, 2002; Cruz, 2001; Doster y Schnathorst, 1985a; Leinhos, *et al.*, 1997).

Se reproduce sexuada y asexualmente, por medio de ascosporas y conidias, respectivamente (Bendek *et al.*, 2002). La fase sexual, se produce cuando se encuentran hifas compatibles (fusión de hifas de distinto sexo), presentando un comportamiento heterotálico (Gadoury, 1991; Staudt, 1997; Gadoury y Pearson, 1990b; Pearson, 1996; Smith *et al.*, 1992).

2.1.3.- Sobrevivencia

Los oidios son enfermedades de tipo infectivas, causadas por hongos altamente específicos en relación con su rango de plantas hospederas. Tal especificidad hace que algunos dependan de la presencia de sólo un hospedero para su sobrevivencia y desarrollo. Por ejemplo, *Uncinula necator*, causante del oidio de la vid solamente prospera en presencia de vides, siendo incapaz de sobrevivir fuera de la planta hospedante. Son parásitos obligados y por lo tanto, necesitan de tejidos vivos para su multiplicación (Latorre, 1984).

El oidio de la vid (*U. necator*), es un hongo microscópico que se desarrolla en la superficie de los órganos verdes, conservándose bajo dos formas. La primera inverna como micelio en el interior de las yemas latentes, protegido por las escamas (fase asexual) o bien como cleistotecios o peritecas (órganos resistentes) en la superficie de los sarmientos enfermos (fase sexual) (Latorre, 1992; Hidalgo, 1993; MAPA, 1992; Reynier, 1989).

El estado anamórfico se ha encontrado en Chile y su forma de invernar posiblemente sea como micelio en la superficie de los sarmientos o bajo las brácteas de las yemas (Gemrich y Seidel, 1996; Rugner *et al.*, 2002; Van der Spuy y Natt hee, 1977). Una forma de supervivencia similar se ha encontrado en otros lugares y se considera la principal fuente de inóculo primario (Pearson y Gartel, 1985). Este inóculo permanece inactivo hasta primavera, habiéndose encontrado conidias con desarrollo de hifas de 3 - 4 μm de diámetro cuando aún están al interior de las yemas (Pearson y Gartel, 1985). Una vez que consigue la temperatura adecuada para desarrollarse, las conidias se extienden junto al brote en crecimiento, colonizando los tejidos verdes y jóvenes, pasando a constituir el inóculo primario y las posteriores reinfecciones (inóculo secundario) (Bergamin *et al.*, 1995). Al final de la temporada invaden las yemas, donde pasarán el invierno siguiente para iniciar otro nuevo ciclo y convertirse en fuente de inóculo primario para el próximo año (Sall y Wrynski, 1982).

2.1.4.- Infección

El micelio se desarrolla a partir del inóculo primario y de reinfecciones (inóculo secundario) por conidias que germinan, producen hifas y haustorios que penetran en las células de la epidermis, sustrayendo los nutrientes de las células parasitadas (Bergamin *et al.*, 1995). Externamente producen micelio, conidióforos y conidias en cadena que iniciaran una nuevo ciclo de infección (Agrios, 1988; Havrylenko, 1997). El desarrollo del oídio reduce el contenido de antocianinas, afecta la composición fenólica y reduce la densidad del color del vino, y del mismo modo reduce la calidad de la uva de mesa (Latorre *et al.*, 1996; Piermattei *et al.*, 1999).

El oidio de la vid es un parásito obligado, que infecta únicamente especies de la familia Vitaceae, siendo la vid europea (*V. vinifera*) el principal hospedero. En Chile, la inexistencia de vides silvestres, limita la presencia de este patógeno a las variedades cultivadas en cada zona. Por este motivo, las fuentes de inóculo primario están siempre asociadas a vides infectadas en la temporada precedente. Las yemas pueden ser infectadas durante la formación, en primavera y verano, quedando el micelio bajo las brácteas hasta la temporada siguiente. Conjuntamente con la brotación el micelio se reactiva, invade nuevos tejidos y produce conidias, las que son diseminadas por el viento dentro del viñedo, colonizando nuevas plantas (Cortesi *et al.*, 1977; Gemmrich y Seidel, 1996; Pearson y Cártel, 1985; Sall y Wrynski, 1982; Ypema y Gubler, 2000).

Si el origen de la infección es a partir de las cleistotecios invernantes, estos al madurar producen esporas que igualmente germinan, favorecidas no solamente por las temperaturas, sino también por humedades relativamente altas, produciendo un micelio de las mismas características. Cuando el micelio alcanza su madurez se forman perpendicularmente conidióforos, ramificados que se tabican en conidias que engruesan y se desprenden sucesivamente, y siendo transportadas por el viento se instalan sobre cualquier órgano de la vid, constituyendo el polvo blanquecino ceniciento que da nombre a la enfermedad para formar

la contaminación primaria (Leinhos *et al.*, 1997; Domínguez, 1972; 1993).

Si las condiciones climáticas son favorables, las conidias germinan emitiendo el tubo germinativo, que dará lugar al micelio, continuándose su desarrollo de la forma antes dicha, produciendo sucesivas contaminaciones secundarias durante el ciclo de desarrollo vegetativo de la vid (Leinhos *et al.*, 1997; Domínguez, 1972; 1993).

Las conidias, en contacto con tejidos verdes y jóvenes de la vid (bayas inmaduras, raquis, brotes), germinan en pocas horas y producen un corto tubo germinativo el que termina en un apresorio multilobulado y desde la misma conidia, se desarrolla un segundo tubo germinativo que invade y coloniza superficialmente los tejidos susceptibles. El apresorio fija la conidia germinada a la superficie del hospedero y produce finas hifas de penetración, las que sólo invaden la epidermis, desarrollando haustorios en el interior de las células epidermales (Cruz, 2001; Delp, 1954; Doster y Schnathorst, 1985).

Esta secuencia de eventos ocurre en pocas horas cuando la temperatura es favorable. Por ejemplo, a 22 °C forma el tubo germinativo en 4 h y el apresorio en 6 a 8 h (Leinhos *et al.*, 1997). En la superficie del hospedero aparece un micelio tabicado, blanco algodonoso y numerosos conidióforos y conidias. La incubación (período entre la infección y los primeros signos de oídio) varía con las condiciones ambientales, con la edad del tejido y posiblemente con la variedad. En condiciones favorables a 20 °C, el tiempo generacional (infección a producción de nuevas conidias) se estima entre 6 y 8 días (Dossier y Schnathorst, 1985b; Leinhos *et al.*, 1997). No obstante, en los trabajos realizados con aislamientos chilenos de *U. necator* se ha establecido un periodo entre 12 a 13 días de incubación (desde infección a presencia de primeros signos) en vides Chardonnay, Merlot y Carmenère mantenidas a 20 °C (Bendek *et al.*, 2002).

Normalmente el riesgo de infección de oídio en huertos comerciales se produce en el

período comprendido entre Noviembre y Enero aproximadamente en la zona central de Chile. Posteriormente la acumulación de sólidos solubles afecta la susceptibilidad de las bayas, disminuyendo con más de 10 a 12% de sólidos solubles (Doster y Schnathorst 1985a, 1985b). La maduración de los tejidos dificulta la penetración del hongo en la epidermis del hospedero, con lo que se reduce la incidencia de oidio después de Enero (Cruz, 2001). Últimamente, se han determinado que las reinfecciones de bayas de vid se producen hasta dos semanas después de la floración, siendo las bayas poco susceptibles a la tercera semana después de ésta (Ficke *et al.*, 2002).

2.2.- Desarrollo de la enfermedad causada por *Uncinula necator* (oidio de la vid)

2.2.1.- Sintomatología y daños

La enfermedad se presenta desde la primavera al otoño, manifestándose en la superficie del tejido parasitado por el hongo. Infectando diversos órganos de la vid como hojas, racimos (en los cuales afecta tanto a granos como escobajo), brotes y sarmientos herbáceos. La presencia del micelio con conidióforos y conidias en la superficie del tejido huésped le confieren un aspecto gris blanquecino y polvoriento, de aspecto como de ceniza y olor a moho. Si se pasa el dedo por encima, se arrastra el polvillo y aparecen debajo unos puntos pardos, primero aislados y más tarde agrupados, formando pequeñas manchas (Agrios, 1988; Cruz, 2001; Latorre, 1992; Latorre, 1987).

El oidio puede atacar todos los órganos verdes de la vid, los cuales son descritos detalladamente a continuación:

a) En hojas:

Los síntomas pueden aparecer tanto en el haz como en el envés y en ambos casos suele observarse un polvillo blanco ceniciento formado por la presencia del micelio con

conidióforos y conidias, que puede limitarse a algunas zonas o bien ocupar toda la superficie de la hoja. Apareciendo manchas difusas, cloróticas de 4 - 6 mm de diámetro, constituidas por un polvo grisáceo y debajo de este polvillo se aprecian puntitos necrosados; después se recubre la mancha de una especie de tela de araña constituida por el micelio del hongo. A veces los comienzos del ataque se manifiestan como manchas de aceite en el haz, que recuerdan a las del mildiu, pero su decoloración es menos marcada y la fructificación blanca característica del mildiu no aparece en este caso. Además estas manchas suelen ser más pequeñas y nunca muestran la típica pelusilla blanca en el envés, apreciándose en cambio punteaduras pardas. En los casos de ataque intenso, la parte atacada del limbo crece más lentamente, provocando la deformación de la hoja dando el aspecto crispado, abarquillado, con un ligero rizado del borde de las hojas (MAPA, 1992; Lavin *et al.*, 1999; Reynier, 1989; Hidalgo, 1993; Benlloch, 1961; Pearson, 1996; Gadoury *et al.*, 2001; Pearson, 1988; Santa Maria, 1982).

b) Brotes y sarmientos:

Los síntomas se manifiestan como manchas plumosas, difusas de color verde oscuro, que van creciendo, definiéndose y pasando a tonos achocolatados al avanzar el crecimiento y a negruzcos al endurecerse el brote, que más tarde aparecen de un color marrón rojizo en la superficie de los sarmientos durante el reposo (sarmientos maduros). En este periodo únicamente se pueden encontrar residuos de fragmentos hifales colapsados (Pearson, 1996). En los ataques fuertes hay un mal agostado de los sarmientos (Bendek *et al.*, 2002; Hidalgo, 1993; Benlloch, 1961).

En los sarmientos únicamente se presenta la enfermedad mientras son herbáceos, después al agostarse, son prácticamente inmunes, por eso es muy frecuente que los primeros brotes de primavera sean intensamente invadidos y también los últimos, que no llegan a lignificarse en el curso de la vegetación (Domínguez, 1993; 1972; Santa Maria, 1982).

Si el ataque es prematuro, el brote queda dañado, se desarrolla poco y la savia se

emplea en la brotación de yemas axilares, con lo que la cepa toma un aspecto arrepollado. En ataques muy intensos el tallo se ennegrece y se seca en la zona infectada (Benlloch, 1961).

c) Racimos:

Después del cuajado, las bayas aparecen con un cierto tinte plomizo, recubriéndose en poco tiempo del polvillo ceniciento, que si se limpia deja ver puntitos pardos sobre el hollejo (Domínguez, 1993).

Generalmente los frutos se infectan antes de alcanzar su tamaño definitivo, lo cual provoca que las células epidérmicas pierdan su elasticidad y mueran, lo que impide el crecimiento de la epidermis. Como la pulpa continúa desarrollándose y/o aumentando de volumen, la baya se agrieta debido a la presión interna, produciéndose resquebraduras a veces hasta dejar las pepitas al descubierto. Estas bayas agrietadas se deshidratan si el tiempo es calido o se pudren si el tiempo es húmedo, por lo que se producen daños directos en la cantidad y calidad de la cosecha cuyas pérdidas pueden llegar al 80 - 90% y otros indirectos al favorecerse la penetración de hongos como *Botrytis cinerea* Pers. (Cruz, 2001; MAPA, 1992; Lavin *et al.*, 1999; Pearson, 1996; Hidalgo, 1993; Pearson, 1996; Domínguez, 1993; 1972; Reynier, 1989; Branas, 1974),

Las manchas por oidio en granos de variedades blancas se vuelven oscuras y forman un “russet” fácilmente detectable. Las bayas de los cultivares tintos que están infectadas, cuando empiezan a madurar, no adquieren su color propio y tienen un aspecto sucio en la cosecha. En la superficie de las bayas infectadas puede observarse cómo las cicatrices adquieren un aspecto de dibujo en forma de malla. Dicho fruto no es comercializable para uva de mesa y los vinos obtenidos con ellas tienen mal sabor (Pearson, 1996; Lavin *et al.*, 1999; Latorre, 1987; Santa Maria, 1982). Normalmente el desarrollo del hongo sobre la uva se detiene en verano al empezar la maduración (envero), pero puede continuar en las hojas no tratadas (Smith, 1992).

Los vinos elaborados con uvas dañadas de oídio son generalmente malos y de difícil conservación. Únicamente si no se produce la podredumbre consecutiva al ataque del grano el azúcar se concentra, dando vinos más alcohólicos, pero con la materia colorante alterada (Benlloch, 1961).

La infección del racimo antes o inmediatamente después de la floración puede originar un pobre cuajado y una considerable pérdida de cosecha, provocando la caída de las flores contaminadas. Las bayas son sensibles a la infección hasta que su contenido en azúcares es de aproximadamente el 8%, si bien las infecciones una vez establecidas continúan produciendo esporas hasta que las bayas contienen 15% de azúcar (Pearson, 1996). Cabe mencionar que en las flores no es frecuente la enfermedad, pero después de la fecundación hasta el invierno es frecuente y produce los daños más graves (Benlloch, 1961; Harvey *et al.*, 1972; Latorre, 1984).

Si el ataque es leve, el grano puede cicatrizar. No todos los granos de un racimo son necesariamente invadidos. Después del invierno, como el grano ya ha adquirido su desarrollo, no se rompe la cutícula y sólo se producen manchas sobre la piel, sin que tengan ninguna importancia mayor a excepción de uvas de mesa (Benlloch, 1961).

Los pecíolos y los pedicelos del racimo son sensibles a la infección durante el periodo de crecimiento y una vez infectados, se hacen quebradizos y pueden romperse a medida que avanza la estación vegetativa. En los pecíolos, se observan mejor que en los limbos las manchas pardas que recubre el polvo de ceniza. (Pearson, 1996).

2.2.2.-Condiciones predisponentes a la enfermedad

El hongo necesita condiciones ambientales adecuadas para su desarrollo. Si éstas son favorables, el oídio se desarrollará y diseminará rápidamente. Temprano en la temporada, cuando la temperatura tiene un rango de 21 a 27 °C, el hongo repite su ciclo de vida

aproximadamente una vez por semana, las conidias germinan e infectan tejido nuevo formando nuevas conidias que son transportadas por el viento hasta partes no afectadas. (Latorre, 1987).

La humedad no tiene Influencia en la germinación, infección y desarrollo del hongo. Contrariamente a lo que se cree, la enfermedad se desarrolla en clima seco, pero no excesivamente caluroso. Se estima que su período de incubación (lapso transcurrido entre la infección y los primeros síntomas) está en alrededor de 5 - 6 días (Latorre, 1987).

El desarrollo del oidio comienza a 5 °C en atmósfera húmeda y la contaminación es intensa entre 25 °C y 28 °C. En tiempo caluroso y con atmósfera húmeda, el oidio se desarrolla muy rápidamente en las hojas y en particular en los racimos que están abrigados por un follaje tupido. Las lluvias de veranos cálidos y cortas son favorables, asimismo rocíos y nieblas matinales, favorecen el desarrollo del oidio. La humedad de la atmósfera es suficiente cuando no hay lluvia.

La insolación es perjudicial para el parásito al desecar el aire. Los días cubiertos son, por el contrario, favorables al desarrollo de la enfermedad, así como todo aquello que provoque un elevado estado higrométrico a nivel de los órganos verdes de la viña (Reynier, 1989).

La temperatura, humedad relativa y agua libre son los factores ambientales más determinantes para la infección y el desarrollo de esta enfermedad (Chellemi y Marois 1991a, 1991b; Cruz, 2001; Delp, 1954; Stapleton *et al.*, 1988).

La temperatura ambiental, es el factor climático que más influencia tiene en el desarrollo del patógeno. El oidio comienza a desarrollarse en primavera, siendo favorable para su progreso vegetativo y su propagación, temperaturas medias de 12 a 15 °C, siempre que la mínima no baje de 4 a 5 °C (Domínguez, 1993; 1972; M.A.P.A. 1992; Hidalgo, 1993), alcanzando el óptimo entre los 25 °C y los 28 °C, deteniendo su desarrollo a los 35 °C y a su

vez también bajo 6 °C, ya que no germinan las conidias, siendo letales las temperaturas superiores a 40 °C. (M.A.P.A. 1992; Hidalgo, 1993; Delp, 1954; Pearson, 1988; Latorre, 1984).

La humedad ambiental también influye en el desarrollo de la enfermedad, aunque en menor grado que la temperatura. La germinación de las conidias se ve favorecida por humedades relativamente altas. Al contrario que en el caso del mildiu, las lluvias abundantes frenan el desarrollo del hongo (M.A.P.A. 1992; Hidalgo, 1993).

La contaminación primaria precisa la presencia del micelio en las yemas o la existencia de peritecas y una temperatura superior a los 15 °C con ambiente húmedo, pero sin precisar gotas de agua. Producida la infección éste puede continuar en tiempo seco (Hidalgo, 1993).

Bajo condiciones de temperatura óptima, por ejemplo a 23 - 30 °C, el tiempo de incubación es de sólo 5 a 6 días. Puede germinar e infectar la vid entre 40 y 100 % de humedad relativa, en la medida que no exista agua libre (Domínguez, 1993; 1972; M.A.P.A. 1992; Hidalgo, 1993; Harvey *et al.*, 1972).

Además de los factores ambientales que favorecen el desarrollo de esta enfermedad, existen los factores inherentes al hospedero, como lo son la edad de los órganos, siendo más vulnerables las hojas y los brotes cuando jóvenes y menos susceptibles a medida que éstos envejecen. Las bayas son altamente susceptibles entre la cuaja y la pinta, aproximadamente. Se acepta que los granos (bayas) con 15 % de azúcar son prácticamente resistentes al oidio. Sin embargo, el escobajo mantiene su vulnerabilidad a través de toda la temporada de crecimiento. Esto obliga a realizar pulverizaciones tardías contra oidio en el caso de uva de mesa, para proteger el racimo (Latorre, 1984).

De acuerdo con la información obtenida en Chile, en vides Chardonnay, Merlot y Carmenère, mantenidas en ambientes controlados, se obtuvo el mejor desarrollo de la

enfermedad entre 20 y 23 °C y se limitó significativamente su desarrollo a 6 °C, lo que concuerda con trabajos previamente realizados en otros países (Pearson, 1988).

En estudios realizados con aislados chilenos de *U. necator*, se ha podido comprobar que las conidias germinan entre 5 y 100% de humedad relativa. Sin embargo, difícilmente se podría esperar una infección con 5% de humedad relativa, donde las conidias germinan pero luego colapsan. En forma similar, se ha observado que la germinación en ambientes con 100% de humedad relativa también se limita. Es interesante destacar que un período relativamente seco con humedad relativa inferior al 50%, seguido de un período con humedad relativa superior al 95% favorece la germinación de conidias, obteniéndose un incremento lineal en la germinación de ésta. Un período inicial mayor a 12 horas seco, afecta la viabilidad de las conidias debido a una aparente deshidratación. Del mismo modo, los ambientes sombríos favorecen también el desarrollo del oidio. Al menos en parte, esto explica la ausencia de ésta enfermedad en racimos permanentemente soleados y la mayor frecuencia con que éste ocurre en sectores sombríos del viñedo (Bendek *et al.*, 2002; Latorre, 1984; Santa Maria, 1982).

2.2.3.- Manejo y prevención

Medidas de manejo preventivas contra el oidio de la vid, pueden reducir la severidad de la enfermedad y aumentar la efectividad del control químico. Estas consisten primeramente en establecer el viñedo en zonas o sitios asoleados y abiertos, orientando las hileras de manera que haya buena circulación del aire y así como también una buena exposición a la luz solar. En segundo lugar mantener un follaje poco denso, eliminando hojas alrededor de los racimos, para permitir un secado rápido y facilitar la penetración de los fungicidas, reduciendo así las fuentes invernantes de inóculo (Pearson, 2001).

Existen algunas medidas de control cultural que permiten reducir la incidencia y severidad del oídio. Entre otras se sugiere podar en verde y deshojar para facilitar la ventilación

e iluminación de los racimos, eliminar los sarmientos severamente infectados. De este modo se reduce la esporulación y se retarda el desarrollo del oídio. No obstante, como ninguna de estas medidas es práctica o suficiente en viñedos sensibles, es inevitable recurrir al control químico (Bendek *et al.*, 2002; Latorre, 1992).

2.2.4.- Susceptibilidad varietal

La susceptibilidad del hospedero depende de la variedad y del estado fenológico de los tejidos (Doster y Schnathorst 1985a, 1985b). Esta cambia durante la estación de crecimiento. Los brotes y el escobajo son igualmente susceptibles durante toda la estación, pero las bayas son susceptibles desde la cuaja hasta la pinta con 8% de azúcar aproximadamente. Bayas con un contenido de azúcar superior a 12% se consideran resistentes al oidio. Las hojas también cambian en susceptibilidad al oidio, siendo las jóvenes muy susceptibles y las viejas relativamente resistentes. (Latorre, 1987).

Todas las variedades de vid vinífera (*Vitis vinifera*) son susceptibles al oídio, pero se reconocen diferencias varietales que permiten clasificarlas según las susceptibilidades en poco, moderadas o muy susceptibles. Un listado de las principales variedades clasificadas según el grado de susceptibilidad al oídio se indica en el Cuadro 2.1. Esta información corresponde a una estimación de la susceptibilidad según la información existente en Chile y de acuerdo con los antecedentes recogidos en la literatura (Doster y Schnathorst, 1985b; Galet, 1977; Bendek *et al.*, 2002).

De acuerdo con la experiencia chilena, las variedades de uva de mesa en un orden decreciente de susceptibilidad al oidio corresponderían a las siguientes:
Crimson > Red Globe > Flame Seedless > Ribier > Thompson Seedless > Rubyred (Bendek *et al.*, 2002).

Fuentes de resistencia a *U. necator* se han determinado en *V. candicans*, *V. munsoniana*, *V. labrusca*, *V. piasezkii* y *V. rotundifolia* (Dossiery Schnathorst, 1985b; Statut, 1997; Bendek *et al.*, 2002; MAPA, 1992; Pearson, 2001).

Cuadro 2.1. Susceptibilidad relativa al oidio (*Uncinula necator*) de los principales cultivares de vid vinífera (*Vitis vinifera*).

Muy susceptibles	Moderadamente susceptibles	Poco susceptibles
Cabernet Sauvignon	Cabernet Franc	Alicante Bouchet
Cardinal	Carmenere	Cot
Carignane	Chenin Blanc	French Colombard
Chardonnay	Crimson	Gamay Beaujolais
Emerald Riesling	Flame Seedless	Gewurztraminer
Emperor	Gamay Noir	Grenache
Grenache	Grenache	Malvec
Moscatel de Alejandría	Italia	Mourvedre
Pedro Ximénez	Merlot	Petit Sirah
Perlette	Petit Verdot	Pinot Blanc
Pinot Noir	Red Globe	Rubyred
	Ribier	Voignier
	Ruby Seedless	Zinfandel
	Sangiovese	Sauvignon Gris
	Sauvignon Blanc	
	Sauvignon Vert	
	Semillon	
	Superior	
	Thompson Seedless	
	Whiti Riesling	

Fuente: Bendek *et al.*, 2002; Doster y Schnathorst 1985b; Flaherty *et al.*, 1981; Kasimatis *et al.*, 1979; Latorre *et al.*, 1986; MAPA, 1992.

2.2.5.- Resistencia de *Uncinula necator* a fungicidas

El uso de productos fitosanitarios llamados fungicidas, para el control de enfermedades en los cultivos agrícolas, es una práctica común y extendida entre los agricultores de todo el mundo (Bermejo *et al.*, 2000).

Es preciso conocer lo que se entiende por resistencia, los factores que inciden en la

misma, sean intrínsecos o no, y los modificadores que han de emplearse para poder manejar el riesgo del desarrollo de la resistencia. Todo ello, adecuado al cultivo, al tipo de hongo en cuestión y a las sustancias activas que se desea utilizar para combatir el problema. La gestión del riesgo de resistencia a los fungicidas es llevada internacionalmente por un grupo técnico especialista, llamado FRAC (Fungicide Resistance Action Committee), dentro de la Federación Mundial de Protección de Cultivos (GCPF; antes GIFAP) (Bermejo *et al.*, 2000).

En los últimos años y en diversas partes del mundo han aumentado los casos de resistencia de hongos fitopatógenos a los fungicidas de uso agrícola. Esto significa una pérdida paulatina de la eficacia inicial que sufren las sustancias activas hasta llegar finalmente, a una casi inocuidad frente a la especie a combatir (Morales, 1986). Es decir se define como un cambio estable y heredable en la sensibilidad de un patógeno a un fungicida. Esta evolución puede ocurrir dentro de la población de un organismo fitopatógeno por mutación o por selección (a veces por heterocariosis proseguida de selección) de individuos resistentes dentro de la población del patógeno. En ambos casos el patógeno pierde sensibilidad al producto. Generalmente, las razas de los hongos resistentes son insensibles aun a concentraciones muy altas de pesticidas (Morales, 1997).

Los casos de resistencia de hongos a fungicidas aparecieron con posterioridad a la introducción de los fungicidas sistémicos en 1962, aproximadamente. Aunque la resistencia se puede comprobar y demostrar en laboratorio, esto no significa que la eficacia en campo se vea reducida. Hay que utilizar, entonces, el término resistencia práctica, que es el que define la falta de eficacia en campo atribuible a la resistencia (Alvarez, 1989).

En Chile, no existen antecedentes que demuestren la existencia de resistencia del oidio de la vid a algún grupo fungicida (Bendek *et al.*, 2002). Sin embargo, es importante considerar que el oídio es una enfermedad con alto riesgo de desarrollo de resistencia, especialmente si se emplean repetidas veces en un mismo lugar fungicidas sitio específicos (productos con un

mecanismo de acción único). Por este motivo, se sugiere limitar el uso de fungicidas de un mismo grupo, rotar fungicidas con diferentes mecanismos de acción y en ciertas ocasiones será conveniente emplear mezclas de fungicidas con diferentes mecanismos de acción (Bendek *et al.*, 2002).

2. 2. 6.- Alternativas en el control de *Uncinula necator*

a) Tratamientos químicos

El control de oidio puede ser considerado bajo dos puntos de vistas, el primero es enfrentar el problema en forma de protección o prevención vale decir, evitar que el hongo llegue a infectar cualquier órgano de la planta. Un segundo punto de vista, es el de la erradicación de la enfermedad, es decir cuando se tiene presente ya ciertos síntomas de ésta y se actúa para eliminar totalmente el foco de infección. Tanto el control de tipo preventivo como el curativo erradicante, deben ser considerados en conjunto para tener éxito en la eliminación del oidio (Santa Maria, 1982; Latorre, 1989).

El control del oidio de la vid se logra fundamentalmente con tratamientos fungicidas preventivos. Estos tratamientos tienen el propósito de evitar la infección primaria a comienzos de la estación de crecimiento de la vid y a su vez permiten reducir la tasa de desarrollo de la enfermedad (Besoain, 1990; Latorre *et al.*, 1986). Con estos objetivos se emplean fungicidas, los que en general corresponden a los grupos descritos en Cuadro 2.2. Los tratamientos químicos se inician alrededor de la época en que los brotes alcanzan unos 10 a 20 cm de longitud y se mantiene en forma periódica (7 a 20 días dependiendo del fungicida a emplear y del estado fenológico de la vid) hasta la pinta de los racimos (baya con 8-10 % de sólidos solubles) en el caso de variedades para la vinificación y hasta la cosecha en variedades de uva de mesa. De acuerdo con la experiencia recogida en la zona central de Chile, tiene gran importancia los tratamientos realizados entre la floración y bayas de 3 a 4 mm de diámetro

aproximadamente, lo que aparentemente coincide con la época en que existe una mayor disponibilidad de inoculo y condiciones ambientales favorables a la infección (fines de noviembre a inicios de diciembre en la zona central del país). Además de fungicidas convencionales, se ha sugerido el uso de ciertas sales inorgánicas y aceites. Entre las sales se ha empleado bicarbonato de potasio, bicarbonato de sodio y monofosfato de potasio, permitiendo un control satisfactorio en condiciones de una moderada o baja presión de oídio (Reuveni et al., 1996). Este último producto eventualmente podría formar parte de un programa de control preventivo en uvas destinadas a la vinificación. En forma similar, un control satisfactorio se puede obtener con aplicaciones de aceites minerales (derivados del petróleo). Por ejemplo, resultados muy promisorios se han obtenido con el uso de Stylet Oil, Fine Sunspray UFO, Safe-T-Side y Light mineral Oil (Dell et al., 1998; Henríquez et al., 1998; Montealegre et al., 2001; Northover y Schneider, 1996) o en mezcla con bicarbonato de sodio (Fallik et al., 1996; Horst et al., 1992). Los aceites de origen vegetal (aceites de soya, de raps, etc) no han demostrado gran efectividad para el control del oídio de la vid. Tanto las sales inorgánicas como los aceites se pueden alternar con fungicidas orgánicos. Sin embargo, se deben evitar las aplicaciones de aceites luego de tratamientos con azufre como asimismo después de la cuaja en variedades de uva de mesa (Bendek et al., 2002).

Cuadro 2.2. Principales grupos de fungicidas recomendados para el control del oídio de la vid (*Uncinula necator*).

Grupo	Ingrediente	Nombre comercial
Azufre	Azufre	
Imidazoles	Triflumizol	Trifmine
Pirimidina	Fenarimol	Rubigan
Triazoles	Triamidedon	Bayleton
	Miclobutanil	Systhane
	Tebuconazol	Folicur
Estrobilurinas	Azoxiestrobin	Quadris
	Trifluestrobin	Flint
	Kresoxim Metil	Stroby
	Pyraclostrobin	Bellis
Feonoxiquinilonas	Quinoxifen	Quintec

Biofungicida	<i>A. quisqualis</i>	AQ 10
Aceites	Aceite mineral	Jim Stylet Oil
		M-Pede
		Sun Spray Oil
Sales	Bicarbonatos	Kaligreen

Fuente: Bendek *et al.*, 2002.

Tradicionalmente se ha controlado esta enfermedad en Chile, con fungicidas en base a azufre mojable por pulverización y para espolvoreo con azufre en polvo (sublimado, lo más a menudo) y con productos doble acción, fungicidas acaricidas, tales como dinocap (Karathane) y chinomethionate (Morestan), mas productos como pyrasophos (Afugan), fenarimol, flusilazol, hexaconazol, myclobutanil, entre otros, con resultados regulares a buenos dependiendo de las temporadas e intensidades de ataque del patógeno (MAPA, 1992; Reynier, 1989; Domínguez, 1993,1972; Latorre, 1992; Latorre,1989; Smith *et al.*, 1992).

Según estudios, se deduce que el azufre tiene una acción desorganizadora del micelio y de las conidias y este efecto ya se manifiesta a los 25 °C, pero aumenta la eficacia de su acción a los 32 o 35 °C. En este caso la destrucción del micelio es completa a las veinticuatro horas, el hongo pierde su turgencia y se seca, lo mismo que los conidióforos y las conidias. El efecto es, pues, curativo y preventivo al mismo tiempo (Benlloch, 1961; Latorre, 1992).

Una vez producida la infección se deben utilizar fungicidas curativos o de post-infección. Dentro de estos existen dos grupos de compuestos recomendados para el control de los oidios que presentan una acción post-infectiva: fungicidas benzimidazólicos (Benlate, Cercobin M) y fungicidas inhibidores de esteróles o I.B.E (Bayleton, Baycor. Rubigan, Topas, Vangaard). Los primeros corresponden a fungicidas de acción sistémica local, desarrollados hacia fines de la década de los años 60. El grupo de los inhibidores de esteróles, es de reciente incorporación, pero sin embargo el primero en ser introducido en Chile en el año 1976 fue triadimefon (Bayleton).

Los fungicidas I.B.E, corresponden a fungicidas de contacto o sistémicos, de diversas naturalezas químicas, capaces de actuar preventiva y curativamente contra oidios. Los inhibidores de esteróles son excelentes fungicidas, siempre que se dosifiquen adecuadamente y se apliquen cuando corresponda. Por estos motivos, es siempre recomendable remitirse a las normas sobre su uso establecidas por los fabricantes (Navia, 1992).

Se usan en la actualidad en vides, principalmente en uva de mesa de exportación, tres fungicidas IBE con registros y tolerancias en USA, dos triazoles (triadimefon y miclobutanil) y una pirimidina (fenarimol) (Cuadro 2.3).

Cuadro 2.3. Fungicidas inhibidores de Esterol utilizados en el control de *Uncinula necator* en vides en Chile (con registro y tolerancia en USA).

Grupo	Nombre comercial	Nombre técnico	Compañía
Triazoles	Bayleton 25% WP	Triamidefon	Bayer
	Systhane 24 EC	Miclobutanil	Rohm and Haas
Pirimidinas	Rubigan 12 EC	Fenarimol	Dow-Elanco

Fuente: Navia, 1992.

Cuadro 2.4. Fungicidas inhibidores de Esterol utilizados en el control de *Uncinula necator* en vides en Chile (sin registro ni tolerancia en USA).

Grupo	Nombre comercial	Nombre técnico	Compañía
Triazoles	Anvil 5% SC	Hexaconazol	I.C.I.
	Nustar 400 EC	Flusilazol	Du Pont
	Folicur 250 EC	Tebuconazol	Bayer
	Topas 100 EC	Penconazol	Ciba Geigy
	Sumi 8 12,5 WP	Diniconazol	Sumitomo
Pirimidinas	Nimrod 25% EC	Bupirimato	I.C.I.
Imidazoles	Trifmine 30% WP	Triflumizol	Nippon Soda

Fuente: Navia, 1992.

b) Control biológico

El control biológico se ha propuesto como alternativa de control mediante la aspersión de preparados a base del hongo *Ampelomyces quisqualis* (ejemplo AQ10, Ecogen Corporation) que corresponde a un hongo hiperparásito de *U. necator* y de otras especies de oidio. *A. quisqualis* se encuentra en forma natural en otros lugares, sin embargo, no se dispone de información respecto de la presencia de este parásito en Chile. Los resultados obtenidos en otros países con *A. quisqualis* han sido erráticos. En parte esto se puede atribuir a la necesidad de contar con cierta población de oidio al momento de asperjar *A. quisqualis* y a la necesidad de que concurren condiciones ambientales favorables al desarrollo de éste antagonista (Falk *et al.*, 1995a y b). No obstante, este tratamiento puede tener importancia en producción orgánica o en sistemas de manejo integrado de plagas y enfermedades de la vid (Bendek *et al.*, 2002; Falk *et al.*, 1995a y b).

2.3.- Características generales de *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis*.

2.3.1.- *Bacillus subtilis*

La mayoría de las especies de *Bacillus*, son saprofitos y se desarrollan en materia orgánica en descomposición. *Bacillus subtilis* específicamente habita en la rizósfera, asociados a las raíces de las plantas, además se ha demostrado que entra en conducta caníbal, en casos extremos de sobrevivencia (Raupach, 2000).

Bacillus subtilis está considerada dentro de las bacterias más eficientes, junto a *Pseudomonas fluorescens*, para controlar enfermedades foliares y de las raíces. Dada la diversidad genética en el género *Bacillus*, tanto en el suelo como en la rizósfera, se considera a estos organismos como colonizadores eficaces (Atlas, 2002 y Cook, 1989). Además exhiben un amplio rango de habilidades fisiológicas, que le permiten vivir en una alta diversidad de hábitats,

incluyendo muchos ambientes extremos, como desiertos de arena, aguas termales y suelos árticos. Especies de este género pueden ser termofílicas (resistentes a temperatura), psychrofílicas (resistentes a frío), acidofílicas (resistentes a acidez), alkalifílicas (resistentes a pH elevados) y halofílicas (resistentes a salinidad) y son capaces de crecer a pH, temperaturas y concentraciones de sal donde pocos otros organismos son capaces (Atlas, 2002).

Gonzalez y Frangoso (2002), señalan que la bacteria *Bacillus subtilis* no es potencialmente patógena y no produce endotoxinas, pero si secreta proteínas al medio, algunas de ellas con propiedades antifúngicas, como la subtilina y otros antibióticos de la familia de las iturinas. Se utiliza industrialmente como insecticida y fungicida. La subtilina liberada por *Bacillus subtilis* actúa fundamentalmente sobre la pared celular de los hongos.

B. subtilis posee otras características como la producción de endosporas en ambientes hostiles para asegurar su supervivencia, las que son termoresistentes y además resisten factores físicos desfavorables como la desecación, la radiación, los ácidos y los desinfectantes químicos. Esta producción de endosporas es altamente demandante en energía, por lo que una vía fácil es producir antibióticos, que matan a su vecinos y liberan nutrientes para los supervivientes (Raupach, 2000).

Los bacilos en general crecen bien en medios sintéticos que contienen azúcares, ácidos orgánicos, alcoholes, etc., como las únicas fuentes de carbono y el amonio como única fuente de nitrógeno. Viven dentro los límites de temperatura de 55 a 70 °C. El limite inferior de pH para él genero *Bacillus* es de 2 a 3.

B. subtilis es conocido por ser antagonista de muchos hongos patógenos vegetales. Este antagonismo es logrado a través de diversos mecanismos que incluyen la competencia por nutrientes, exclusión de sitio, colonización de la bacteria en el patógeno y/o la liberación de componentes celulares durante el crecimiento, en orden de eliminar o reducir los competidores

en su medio ambiente inmediato. Sumado al antagonismo/competencia y la liberación del contenido celular, *B. subtilis* también ha demostrado inducir la resistencia sistémica natural de la planta contra patógenos bacterianos y fungos, propiedad llamada Resistencia Sistémica Adquirida (SAR) (Butt *et al.*, 1999).

Se han realizado entre otros, tratamientos con *B. subtilis* en:

- Semillas de cereales, maíz dulce y zanahorias con suspensiones acuosas, pastas o polvos que contienen a las bacterias *B. subtilis* cepa A13, lo cual ha dado como resultado un mejor crecimiento y producción de esos cultivos, protegiendo las plantas contra los patógenos de la raíz (Agrios, 1997).
- Varias clases de frutos de hueso (duraznos, nectarinas, damascos y ciruelos), los cuales fueron tratados, después de haber sido cosechados, con suspensiones de la bacteria antagonica *B. subtilis*, los cuales permanecieron libres de la pudrición café causada por el hongo *Monilinia flucticola*, cuando menos durante nueve días (Agrios, 1997).
- En trigo, hallándose un mayor control de patógenos con la aplicación de *Bacillus subtilis* (Kim y col, 1997).
- Se han evaluado para el control de enfermedades fungosas como Cercosporiosis producida por *Cercospora purpura* Cooke, determinándose que aplicaciones de *Bacillus subtilis* en pre y postcosecha en paltas tienen un efecto similar al de los fungicidas comerciales (Korsten y col, 1997).
- Se han realizado ensayos en condiciones de campo, para el control de *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* (Utkhede, 2004) y *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Massomo, 2004), *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*, habiendo sido empleado en todos los casos especies del genero *Bacillus*, con predominancia de *Bacillus subtilis* (Byrne, 2005).

2.3.2.- *Trichoderma* spp.

Este género pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes, orden Hyphales, familia Moniliaceae. Corresponde a un hongo saprofito, habitante común del suelo y reconocidos por sus esporas verdes. Morfológicamente poseen conidióforos erectos, altamente ramificados, más o menos cónicos (Cook y Baker, 1989), produciendo de manera terminal conidias pequeñas, siendo la mayoría de ellas globosas, hialinas o de colores brillantes (Gilman, 1983). Poseen fiálidas con apariencia de racimos o se encuentran separadas, desde las cuales son sostenidas las conidias. Comúnmente forma clamidosporas, intercaladas o raramente terminales, las que son globosas a elipsoides, hialinas y de pared suave, que pueden ser azules o verdes (Cook y Baker, 1989).

Trichoderma spp., tiene diversas ventajas como agente biocontrolador, entre las que se pueden señalar un rápido crecimiento y desarrollo, además de una gran producción de enzimas, inducibles con la presencia de hongos fitopatógenos, desarrollo en una amplia gama de sustratos, lo cual facilita su producción masiva para su uso en la agricultura, resistencia a inhibidores microbiales y poseer la capacidad de producir una variedad de antibioticos. Su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas y hábitats donde los hongos causan enfermedad le permiten ser eficiente como agente de control. De la misma manera puede sobrevivir en ambientes con pesticidas y otros químicos (Tronsmo, 1989). Dentro de las especies estudiadas y utilizadas se encuentran: *T. viride* Pers, *T. hamatum* (Bon), *T. harziatum* Rifai, *T. polysporum* (Link:Fr), *T. koningii* Oud, *T. longibraquiatum* Rifai, *T. pseudokoningii* Rifai, *T. virens* (Cook y Baker, 1989; Gary, 1996).

Se ha demostrado que *Trichoderma* spp. es eficaz contra una amplia gama de hongos patógenos de las plantas dentro de las cuales se incluyen: *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia homoeocarpa* y *Alternaria alternata* (Harman, 1996).

Investigaciones realizadas sobre la acción de *Trichoderma* spp., en el control de patógenos aéreos han resultado positivas, debido a la habilidad presentada por el agente biocontrolador de sobrevivir en el follaje (Lo *et al.*, 1997). Entre otros ejemplos están las aplicaciones acuosas de conidias de *T. viride*, las cuales fueron capaces de proteger frutos de frutilla durante el almacenaje contra la pudrición provocada por *B. cinerea* y *Mucor mucedo* en el campo durante la floración; con aplicaciones de *T. pseudokoningii*, se logró controlar infecciones en manzanos provocadas por las inoculaciones artificiales de *B. cinerea*, pero con infecciones ocurridas en forma natural no presentó buenos resultados debido a la incapacidad del *T. pseudokoningii* de crecer a bajas temperaturas, mientras que si lo podía hacer *B. cinerea* (Cook y Baker, 1983); se suprimió la densidad de conidióforos de *B. cinerea* en hojas de frutillas, tanto en invernadero como en el campo, por medio de la aplicación de *T. viride* (Lo *et al.*, 1997).

Se ha determinado que el mecanismo de acción del hongo *Trichoderma* spp. para controlar hongos fitopatógenos es través de la competencia por nutrientes y espacio, predación, micoparasitismo, antibiosis, desactivación de las enzimas de los patógenos (Cook y Baker, 1983). De éstos los más usados son la competencia y la predación. Los micelios se enrollan alrededor de las hifas del hongo presa, produciendo un estrangulamiento. Asimismo se ha observado que las hifas susceptibles son penetradas, colapsadas y finalmente desintegradas, y posterior a esto el micoparasito se alimenta de este sustrato (Cook y Baker, 1989).

Las distintas especies del género *Trichoderma* se presentan frente a un amplio rango de temperaturas. Sin embargo, su crecimiento óptimo, se sitúa en el rango de 15 - 35 °C. La temperatura máxima se encuentra entre los 30 y 36 °C y el pH óptimo entre 3,7 y 4,7 (Domsch *et al.*, 1990). La humedad favorece positivamente a *Trichoderma* spp., demostrándose una buena eficiencia a 80 - 97% de humedad, en cambio valores cercanos al 100% resultaron negativos (Elad *et al.*, 1993).

III.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- Material vegetal

La investigación se llevó a cabo durante la temporada 2005/2006, en donde se utilizó como material vegetal, vides de la variedad Cabernet Sauvignon, en un viñedo ubicado en el fundo Santa Margarita, sector de Duao a 20 km de Talca. Las plantas están formadas en parronal, con una distancia de plantación de 4 metros entre hilera y 4 metros sobre ésta. El sector en estudio, ha presentado durante los últimos años un historial importante de infecciones por *U. necator*, tanto en hojas como racimos, motivo por el cual fue seleccionado para realizar el ensayo.

3.2.- Efectividad de biocontroladores aplicados en distintos estados fenológicos de la vid.

3.2.1.- Definición del ensayo

Para evaluar el efecto de los biocontroladores *Trichoderma harzianum* cepa nativa Queule + *Trichoderma virens* cepa Sherwood (Trichonativa), *Bacillus subtilis* cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos dos productos (Trichonativa + Nacillus) en el control de *U. necator*, se realizó un programa de pulverizaciones desde el inicio de la enfermedad oidio de la vid, caracterizado por la presencia de manchas cloróticas difusas en el haz de las hojas. Para corroborar la infección de *U. necator* y los síntomas iniciales, las hojas con manchas sospechosas, fueron sometidas a condiciones de alta humedad relativa (mayor al 95%), temperatura de 25 °C y a un período de 4 horas de oscuridad, dentro de una cámara de incubación. Al cabo de 10 días, estas hojas fueron examinadas en búsqueda de esporulación del hongo. En el viñedo, se establecieron programas de aplicaciones de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum* + *Trichoderma virens* cada 30 y 21 días respectivamente, evaluando la

eficacia de estos controladores al compararlos con el tratamiento testigo. Las aplicaciones se realizaron con un pulverizador de carretilla (marca IMPAC), con capacidad de 150 L. Las dosis empleadas, fueron aquellas recomendadas por la empresa Nativa Ltda. para su producto comercial llamado Trichonativa, el cual como fue descrito en la sección anterior, corresponde a *Trichoderma harziatum* cepa nativa Queule + *Trichoderma virens* cepa Sherwood. Lo mismo se consideró para el producto Nacillus correspondiente a *Bacillus subtilis* cepa Antumavida. De igual forma, estos controladores biológicos fueron evaluados individualmente, comparados entre ellos y con la mezcla.

3.2.2.- Diseño experimental

El ensayo se realizó con un diseño experimental completamente al azar, el cual estuvo constituido por 8 tratamientos, con 3 repeticiones cada uno. Cada unidad experimental estuvo compuesta por 10 plantas, marcándose además dentro de este grupo de plantas 45 racimos al azar para realizar las evaluaciones correspondientes.

Los tratamientos a evaluar se presentan en el Cuadro 3.1.

Cuadro 3.1. Tratamientos biológicos (*Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp.) a evaluar en su eficacia para el control de oidio en *Vitis vinifera* variedad Cabernet Sauvignon. Temporada 2005/2006.

Tratamientos	Producto	i. a.	Dosis (cc, g/ HI)	Época de aplicación
1	Testigo			
2	a) Trichonativa	<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Trichoderma virens</i>	a) 150 cc	a) Grano 4 - 5 mm
3	a) Nacillus	<i>Bacillus subtilis</i>	a) 5 g	a) Grano 4 - 5 mm
4	a) Trichonativa + Nacillus b) Trichonativa + Nacillus	(<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Trichoderma virens</i>) + <i>Bacillus subtilis</i>	a) 150 cc + 5 g b) 150 cc + 5 g	a) Grano 4 - 5 mm b) 50% Pinta
5	a) Nacillus b) Nacillus c) Nacillus	<i>Bacillus subtilis</i>	a) 5 g b) 5 g c) 5 g	a) Grano 4 - 5 mm b) 50% Pinta c) 100% Pinta
6	a) Trichonativa b) Trichonativa	<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Trichoderma virens</i>	a) 150 cc b) 150 cc	a) Grano 4 - 5 mm b) 50% Pinta
7	a) Nacillus b) Nacillus	<i>Bacillus subtilis</i>	a) 5 g b) 5 g	a) Grano 4 - 5 mm b) 50% Pinta
8	a) Trichonativa + Nacillus b) Trichonativa + Nacillus c) Trichonativa + Nacillus	(<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Trichoderma virens</i>) + <i>Bacillus subtilis</i>	a) 150 cc + 5 g b) 150 cc + 5 g c) 150 cc + 5 g	a) Grano 4 - 5 mm b) 50% Pinta c) 100% Pinta

3.2.3.- Determinación de la incidencia y severidad de *U. necator* en los racimos

Las evaluaciones se efectuaron a partir de los primeros síntomas observados (esporulación) presentes en el tratamiento testigo. Posteriormente se fue evaluando a medida que los estados fenológicos avanzaban siendo 100% pinta el último estado que se consideró. La incidencia de los racimos enfermos se determinó sobre la base de números de racimos con síntomas de oidio en relación al total de racimos evaluados en cada repetición (45 racimos respectivamente), siguiendo la ecuación:

$$\text{Incidencia} = \frac{\text{Número de racimos enfermos por repetición}}{\text{Número de racimos totales por repetición}} \times 100$$

La severidad se determinó sobre la base de distintos grados de infección en los racimos enfermos, de acuerdo a la siguiente escala:

- 1.- Racimo sano, sin síntomas de *U. necator*.
- 2.- 1 - 25% de las bayas del racimo con síntomas de *U. necator*.
- 3.- 26 - 50% de las bayas del racimo con síntomas de *U. necator*.
- 4.- 51 - 100% de las bayas del racimo con síntomas de *U. necator*.

3.2.4.- Análisis de resultados

Para la incidencia de las bayas de racimos con oidio de la vid, los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) y en caso de existir diferencias significativas se realizó una separación de medias, mediante el Test Duncan ($P \leq 0,05$). Del mismo modo, los grados de severidad de oidio asignados para cada racimo, fueron sometidos a esta prueba estadística.

IV.- RESULTADOS

4.1.- Efectividad biocontroladora de *Trichoderma harzianum* cepa Queule más *Trichoderma virens* cepa Sherwood (Trichonativa), *Bacillus subtilis* cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid.

4.1.1.- Efecto sobre la incidencia de la enfermedad

Los Cuadros 4.1, 4.2 y 4.3, presentan los resultados de incidencia de oidio en racimos de plantas de vid vinífera cv. Cabernet Sauvignon en tres fechas de evaluación respectivamente. En la primera evaluación que correspondió al 27 de Diciembre de 2005, se registró un 59,3% de racimos con oidio en el tratamiento testigo (T1), el cual no fue significativamente diferente de las incidencias alcanzadas por los tratamientos con el producto Trichonativa con una fecha de aplicación (grano 4 - 5 mm) (T2) y dos fechas de aplicación (grano 4 - 5 mm y 50% pinta) (T6). Éstos obtuvieron un 59,9 y 57,8% de incidencia respectivamente. Tampoco hubo diferencias con los tratamientos que incluyen el producto Nacillus en una fecha de aplicación (grano 4 - 5 mm) (T3) y dos fechas de aplicación (grano 4 - 5 mm, 50% pinta) (T7), los que obtuvieron 49,6 y 50,4% de incidencia respectivamente. El ANDEVA realizado indicó que existieron diferencias altamente significativas ($P < 0,001$) entre algunos tratamientos, presentando la mezcla de Trichonativa + Nacillus, aplicados en tres oportunidades (granos 4 - 5 mm; 50% pinta; 100% pinta) (T8), una incidencia significativamente menor a la del testigo y demás tratamientos. Es así como la incidencia presentada por los tratamientos en la primera medición, fluctuó entre 27,4 y 59,97%, correspondiente a la mezcla (T8) y al producto Trichonativa con una fecha de aplicación (grano 4 - 5 mm) (T2) respectivamente (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1. Incidencia del oidio de la vid, causado por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores *Trichoderma harzianum* cepa Queule más *Trichoderma virens* cepa Sherwood (Trichonativa), *Bacillus subtilis* cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid. Temporada 2005/2006. Evaluación 27/12/05.

Tratamientos	Incidencia %
T1 Testigo	59,3 d ¹
T2 Trichonativa grano 4 - 5 mm	59,9 d
T3 Nacillus grano 4 - 5 mm	49,6 cd
T4 Trichonativa + Nacillus grano 4 - 5 mm y 50% Pinta	43,7 bc
T5 Nacillus grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta	34,8 ab
T6 Trichonativa grano 4 - 5 mm y 50% Pinta	57,8 d
T7 Nacillus grano 4 - 5 mm y 50% Pinta	50,4 cd
T8 Trichonativa + Nacillus grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta	27,4 a
Significancia	² **

¹ Tratamientos seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas, según Test Duncan

**² Altamente significativo ($P < 0,01$)

En la segunda evaluación, efectuada el 25 de Enero de 2006, se registró un 80% de incidencia de oidio en los racimos del tratamiento testigo (T1). Los tratamientos restantes fueron efectivos en reducir significativamente ($P < 0,001$) la incidencia, cuyos valores fluctuaron entre 32,6 y 80% (Cuadro 4.2), siendo notoriamente más efectivos aquellos con tres fechas de aplicación (grano 4 - 5 mm, 50% pinta y 100 % pinta) como lo son la mezcla de Trichonativa + Nacillus (T8), presentando una incidencia de 32,6% y Nacillus sólo (T5), con una incidencia de 42,9%. Sin embargo, la incidencia alcanzada por el tratamiento testigo (T1), fue estadísticamente similar a aquella obtenida por el tratamiento que incluyó sólo una aplicación de Trichonativa en grano 4 - 5 mm (T2).

Cuadro 4.2. Incidencia del oidio de la vid, causado por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores *Trichoderma harzianum* cepa Queule más *Trichoderma virens* cepa Sherwood (Trichonativa), *Bacillus subtilis* cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid. Temporada 2005/2006. Evaluación 25/01/06.

Tratamientos	Incidencia %
T1 Testigo	80,0 e ¹
T2 Trichonativa grano 4 - 5 mm	80,0 e
T3 Nacillus grano 4 - 5 mm	68,1 d
T4 Trichonativa + Nacillus grano 4 - 5 mm y 50% Pinta	54,1 c
T5 Nacillus grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta	42,9 b
T6 Trichonativa grano 4 - 5 mm y 50% Pinta	64,4 d
T7 Nacillus grano 4 - 5 mm y 50% Pinta	64,4 d
T8 Trichonativa + Nacillus grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta	32,6 a
Significancia	² **

¹ Tratamientos seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas, según Test Duncan

² Altamente significativo ($P < 0,01$)

En la tercera evaluación, efectuada el 16 de Febrero de 2006, se registró un 98,5% de incidencia de oidio en los racimos del tratamiento testigo (T1). Los tratamientos con la aplicación de biocontroladores fueron efectivos en reducir significativamente ($P < 0,001$) la incidencia de racimos con oidio, cuyos valores fluctuaron entre 37 y 98,5% (Cuadro 4.3). Los tratamientos que tuvieron tres oportunidades de aplicación, como lo fueron la mezcla de Trichonativa + Nacillus (T8) y Nacillus sólo (T5), registraron incidencias de 37 y 45,2% respectivamente, presentando diferencias altamente significativas con el testigo (T1), el que obtuvo una incidencia de 98,5% y los demás tratamientos. Aquellos tratamientos en los cuales sólo se aplicó en una fecha (grano 4 - 5 mm), como lo fueron el producto Trichonativa (T2) y Nacillus (T3), obtuvieron incidencias cercanas al tratamiento testigo, con valores de 85,2 y 77%

respectivamente.

Cuadro 4.3. Incidencia del oidio de la vid, causado por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores *Trichoderma harzianum* cepa Queule más *Trichoderma virens* cepa Sherwood (Trichonativa), *Bacillus subtilis* cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid. Temporada 2005/2006. Evaluación 16/02/06.

Tratamientos	Incidencia %
T1 Testigo	98,5 d ¹
T2 Trichonativa grano 4 - 5 mm	85,2 c
T3 Nacillus grano 4 - 5 mm	77,0 c
T4 Trichonativa + Nacillus grano 4 - 5 mm y 50% Pinta	60,7 b
T5 Nacillus grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta	45,2 a
T6 Trichonativa grano 4 - 5 mm y 50% Pinta	66,7 b
T7 Nacillus grano 4 - 5 mm y 50% Pinta	67,4 b
T8 Trichonativa + Nacillus grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta	37,0 a
Significancia	** ²

¹ Tratamientos seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas, según Test Duncan

**² Altamente significativo ($P < 0,01$)

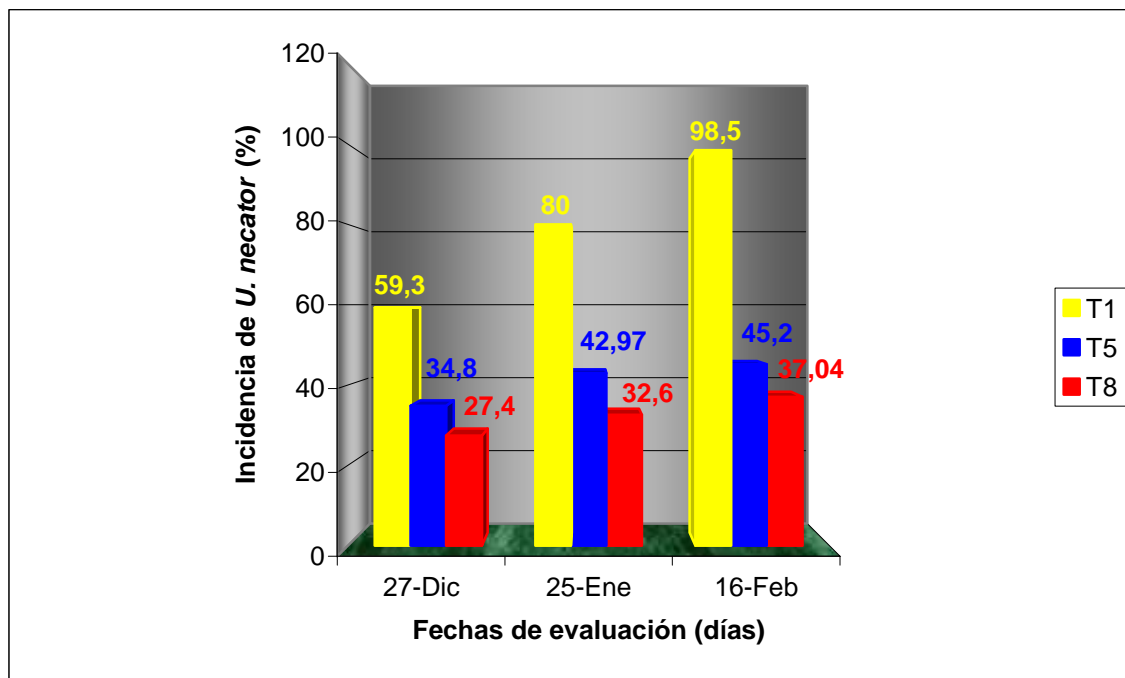


Figura 4.1. Incidencia del oidio de la vid, causado por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores *Trichoderma harzianum* cepa Queule + *Trichoderma virens* cepa Sherwood (Trichonativa) más *Bacillus subtilis* cepa Antumavida (Nacillus) (T8) y *B. subtilis* cepa Antumavida (T5), en comparación con el tratamiento testigo (T1), evaluados en tres fechas (27 de Diciembre; 25 de Enero y 16 de Febrero). Temporada 2005/2006.

4.1.2.- Efecto sobre la severidad de la enfermedad

Los cuadros 4.4, 4.5 y 4.6, presentan los resultados de severidad o avance del oidio en el racimo de vid cv. Cabernet Sauvignon. Para la primera evaluación, según el test estadístico Duncan, dentro de la severidad 2 (1 - 25% de las bayas del racimo con signos de oidio) los tratamientos biocontroladores aplicados en uno, dos y tres estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm; grano 4 - 5 mm y 50% pinta; grano 4 - 5 mm, 50% pinta y 100% pinta) y el tratamiento testigo (T1), no presentaron diferencias significativas entre ellos. Para la severidad 4 (51 - 100% de las bayas del racimo con signos de oidio) los tratamientos biocontroladores Trichonativa y Nacillus, empleados en uno y dos estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm; grano 4 - 5 mm y 50% pinta) (T2, T3, T6 y T7) y el tratamiento testigo (T1), no presentaron diferencias significativas entre ellos. Por el contrario los tratamientos biocontroladores que incluyeron la

aplicación de la mezcla Trichonativa + Nacillus en dos y tres estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm, 50% Pinta; grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta) (T4 y T8) y Nacillus en tres estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta) (T5), presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) en comparación con el tratamiento testigo (T1) (Cuadro 4.4). Es así como dentro de esta severidad en la primera evaluación, los resultados mas destacados fueron obtenidos por los tratamientos 8, 5 y 4 con valores de 0; 1,5 y 1,5% respectivamente. Por el contrario los peores resultados fueron logrados por el tratamiento que incluyó el producto Trichonativa en sólo una fecha de aplicación (grano 4 - 5 mm) (T2) con un 10,4% y por el tratamiento testigo con un 8,1% (Cuadro 4.4).

Cuadro 4.4. Severidad del oidio de la vid causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores *Trichoderma harzianum* cepa Queule más *Trichoderma virens* cepa Sherwood (Trichonativa), *Bacillus subtilis* cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid. Temporada 2005/2006. Evaluación 27/12/05.

Tratamientos	Sev1%	Sev 2 %	Sev 3 %	Sev 4 %
T1 Testigo	40,7 a ¹	28,1 ab ¹	22,9 f ¹	8,1 c ¹
T2 Trichonativa (grano 4 - 5 mm)	40,0 a	31,9 ab	17,8 ef	10,4 c
T3 Nacillus (grano 4 - 5 mm)	50,4 ab	31,1 ab	2,6 bcd	5,9 bc
T4 Trichonativa + Nacillus (grano 4 - 5 mm y 50% Pinta)	56,3 bc	36,3 ab	5,9 ab	1,5 ab
T5 Nacillus (grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta)	65,2 cd	25,2 a	8,1 abc	1,5 ab
T6 Trichonativa (grano 4 - 5 mm y 50% Pinta)	42,2 a	39,3 b	6,9 bcd	5,9 bc
T7 Nacillus (grano 4 - 5 mm y 50% Pinta)	49,6 ab	31,1 ab	14,1 de	5,2 abc
T8 Trichonativa + Nacillus (grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta)	72,6 d	25,2 a	2,2 a	0,0 a
Significancia	** ²	n.s	** ²	** ²

¹ Tratamientos seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas, según Test Duncan

**² Altamente significativo ($P < 0,01$)

n.s. No significativo ($P > 0,05$)

Severidad: valores asignados de acuerdo al rango de porcentaje. 1= Racimo sano, sin síntomas de *U. necator*, 2= 1 – 25% de bayas del racimo con síntomas de *U. necator*, 3= 26 – 50% de bayas del racimo con síntomas de *U. necator*, 4= 51 – 75% de bayas del racimo con síntomas de *U. necator*.

Tratamientos: Testigo (T1); Trichonativa grano 4 - 5 mm (T2); Nacillus grano 4 - 5 mm (T3); Trichonativa + Nacillus grano 4 - 5 mm y 50% Pinta (T4); Nacillus grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta (T5); Trichonativa grano 4 - 5 mm y 50% Pinta (T6); Nacillus grano 4 - 5 mm y 50% Pinta (T7); Trichonativa + Nacillus grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta (T8).

En la segunda evaluación, el ANDEVA realizado indicó que existieron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) dentro de las 4 severidades. En la severidad 2 (1 - 25% de las bayas del racimo con signos de oidio) los tratamientos biocontroladores Trichonativa y Nacillus, empleados en uno y dos estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm; grano 4 - 5 mm y 50% pinta) (T2, T3, T6 y T7) y Trichonativa + Nacillus aplicados en dos estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm y 50% pinta) (T4), presentaron diferencias altamente significativas en comparación con el tratamiento testigo (T1). Los tratamientos biocontroladores que incluyeron la aplicación de Nacillus y la mezcla Trichonativa + Nacillus en tres estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta) (T5 y T8), no presentaron diferencias significativas en comparación con el tratamiento testigo (T1). Es así como dentro de esta severidad en la primera evaluación, los resultados mas destacados fueron obtenidos por los tratamientos 1, 8 y 5, encontrándose un porcentaje menor a los tratamientos restantes (20,7; 26,7 y 31,1% respectivamente). Por el contrario los peores resultados fueron obtenidos por los tratamientos 2, 4, 7 y 3 con valores de 37; 43,7; 44,4 y 44,4% correspondientemente. (Cuadro 4.5). Para la severidad 4 (51 - 100% de las bayas del racimo con signos de oidio) el tratamiento con el producto Trichonativa, empleado sólo en un estado fenológico de la vid (grano 4 - 5 mm) (T2) y el tratamiento testigo (T1), no presentaron diferencias significativas. Los tratamientos biocontroladores que incluyeron la aplicación de Trichonativa en dos estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm y 50% pinta) (T6), Nacillus en una, dos y tres oportunidades (grano 4 - 5mm; grano 4 - 5 mm y 50% pinta; grano 4 - 5 mm, 50% pinta y 100% pinta) (T3, T7 y T5) y la mezcla Trichonativa + Nacillus en dos y tres oportunidades (grano 4 - 5 mm y 50% pinta; grano 4 - 5 mm, 50% pinta y 100% pinta) (T4 y T8), presentaron diferencias significativas en comparación con el tratamiento testigo (T1). Es así como dentro de esta severidad en la segunda evaluación, los resultados mas sobresalientes fueron obtenidos por los tratamientos 8, 5 y 4, encontrándose un porcentaje mínimos de estos (0, 1,5 y 2,2% respectivamente). Opuesto a lo anterior, los peores resultados fueron obtenidos por el tratamiento testigo con un 16,3% y por el tratamiento que incluye el producto Trichonativa en solo una fecha de aplicación (grano 4 - 5 mm) con un 18,5% (Cuadro 4.5).

Cuadro 4.5. Severidad del oidio de la vid causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores *Trichoderma harzianum* cepa Queule más *Trichoderma virens* cepa Sherwood (Trichonativa), *Bacillus subtilis* cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid. Temporada 2005/2006. Evaluación 25/01/06.

Tratamientos	Sev1%	Sev 2 %	Sev 3 %	Sev 4 %
T1 Testigo	20,0 a ¹	20,7 a ¹	42,9 d ¹	16,3 c ¹
T2 Trichonativa (grano 4 - 5 mm)	20,0 a	37,0 bc	24,4 c	18,5 c
T3 Nacillus (grano 4 - 5 mm)	31,9 b	44,4 c	13,3 ab	10,4 b
T4 Trichonativa + Nacillus (grano 4 - 5 mm y 50% Pinta)	45,9 c	43,7 c	8,1 a	2,2 a
T5 Nacillus (grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta)	57,0 d	31,1 ab	10,4 a	1,5 a
T6 Trichonativa (grano 4 - 5 mm y 50% Pinta)	35,6 b	34,8 bc	19,3 bc	10,4 b
T7 Nacillus (grano 4 - 5 mm y 50% Pinta)	35,6 b	44,4 c	11,1 a	8,9 b
T8 Trichonativa + Nacillus (grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta)	67,4 e	26,7 ab	5,9 a	0,0 a
Significancia	** ²	** ²	** ²	** ²

¹ Tratamientos seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas, según Test Duncan

**² Altamente significativo ($P < 0,01$)

n.s. No significativo ($P > 0,05$)

Severidad: valores asignados de acuerdo al rango de porcentaje. 1= Racimo sano, sin síntomas de *U. necator*, 2= 1 – 25% de bayas del racimo con síntomas de *U. necator*, 3= 26 – 50% de bayas del racimo con síntomas de *U. necator*, 4= 51 – 75% de bayas del racimo con síntomas de *U. necator*.

Tratamientos: Testigo (T1); Trichonativa grano 4 - 5 mm (T2); Nacillus grano 4 - 5 mm (T3); Trichonativa + Nacillus grano 4 - 5 mm y 50% Pinta (T4); Nacillus grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta (T5); Trichonativa grano 4 - 5 mm y 50% Pinta (T6); Nacillus grano 4 - 5 mm y 50% Pinta (T7); Trichonativa + Nacillus grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta (T8).

En la tercera evaluación, el ANDEVA realizado indicó que existieron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) dentro de las 4 severidades. En la severidad 2 (1 - 25% de las bayas del racimo con signos de oidio) los tratamientos biocontroladores Trichonativa, Nacillus y su mezcla, empleados en uno, dos y tres estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm; grano 4 - 5 mm y 50% pinta; grano 4 - 5 mm, 50% pinta y 100% pinta) (T2, T3, T4, T5, T6, T7 y T8) presentaron diferencias altamente significativas con el tratamiento testigo (T1). Dentro de esta severidad en la tercera evaluación, los mejores resultados fueron obtenidos por los tratamientos 1, 5 y 8, encontrándose un bajo porcentaje en comparación al resto de los tratamientos (10,3; 23,7 y 28,9% respectivamente. Por el contrario, los peores resultados fueron obtenidos por el tratamientos 2, 3, 7 y 4 (40,7; 44,4; 45,2 y 48,9% respectivamente) (Cuadro 4.6). Para la severidad 4 (51 - 100% de las bayas del racimo con signos de oidio) los tratamientos biocontroladores Trichonativa, Nacillus y su mezcla, empleados en uno, dos y tres estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm; grano 4 - 5 mm y 50% pinta; grano 4 - 5 mm, 50% pinta y 100% pinta) (T2, T3, T4, T5, T6, T7 y T8) presentaron diferencias altamente significativas con el tratamiento testigo (T1). Es así como dentro de esta severidad en la tercera evaluación, los resultados mas sobresalientes fueron obtenidos por los tratamientos 8, 4 y 5, encontrándose un porcentaje ínfimo dentro de esta (0, 2,2 y 4,4% respectivamente). Opuesto a lo anterior, los peores resultados fueron obtenidos por el tratamiento testigo con un 43,7% y por el tratamiento que incluye el producto Trichonativa en solo una fecha de aplicación (grano 4 - 5 mm) con un 20% (Cuadro 4.6).

Cuadro 4.6. Severidad del oidio de la vid causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores *Trichoderma harzianum* cepa Queule más *Trichoderma virens* cepa Sherwood (Trichonativa), *Bacillus subtilis* cepa Antumavida (Nacillus) y la mezcla de éstos, aplicados en distintas dosis y estados fenológicos de la vid. Temporada 2005/2006. Evaluación 16/02/06.

Tratamientos	Sev1%	Sev 2 %	Sev 3 %	Sev 4 %
T1 Testigo	1,5 a ¹	10,4 a ¹	44,4 d ¹	43,7 e ¹
T2 Trichonativa (grano 4 - 5 mm)	14,8 b	40,7 de	24,4 c	20,0 d
T3 Nacillus (grano 4 - 5 mm)	22,9 b	44,4 de	22,2 c	10,4 c
T4 Trichonativa + Nacillus (grano 4 - 5 mm y 50% Pinta)	39,3 c	48,9 e	9,6 ab	2,2 a
T5 Nacillus (grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta)	54,8 d	23,7 b	17,0 bc	4,4 ab
T6 Trichonativa (grano 4 - 5 mm y 50% Pinta)	33,3 c	35,6 cd	20,7 c	10,4 c
T7 Nacillus (grano 4 - 5 mm y 50% Pinta)	32,6 c	45,2 de	12,6 ab	9,6 bc
T8 Trichonativa + Nacillus (grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta)	62,9 d	28,9 bc	8,1 a	0,0 a
Significancia	** ²	** ²	** ²	** ²

¹ Tratamientos seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas, según Test Duncan

**² Altamente significativo ($P < 0,01$)

n.s. No significativo ($P > 0,05$)

Severidad: valores asignados de acuerdo al rango de porcentaje. 1= Racimo sano, sin síntomas de *U. necator*, 2= 1 – 25% de bayas del racimo con síntomas de *U. necator*, 3= 26 – 50% de bayas del racimo con síntomas de *U. necator*, 4= 51 – 75% de bayas del racimo con síntomas de *U. necator*.

Tratamientos: Testigo (T1); Trichonativa grano 4 - 5 mm (T2); Nacillus grano 4 - 5 mm (T3); Trichonativa + Nacillus grano 4 - 5 mm y 50% Pinta (T4); Nacillus grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta (T5); Trichonativa grano 4 - 5 mm y 50% Pinta (T6); Nacillus grano 4 - 5 mm y 50% Pinta (T7); Trichonativa + Nacillus grano 4 - 5 mm, 50% Pinta y 100% Pinta (T8).

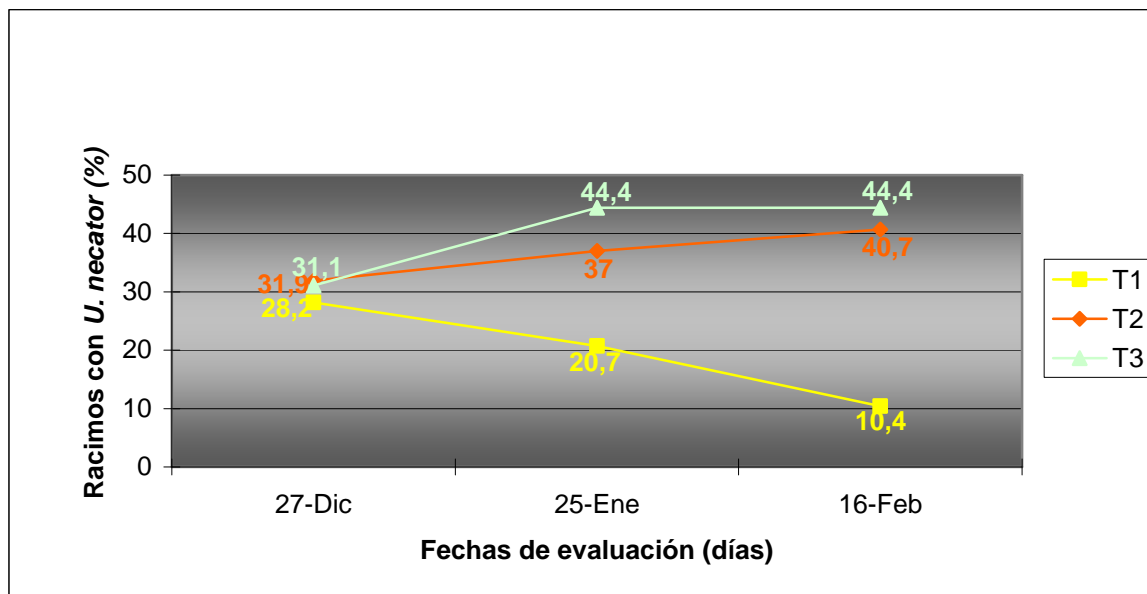


Figura 4.2. Severidad dos, que corresponde a racimos que presentan entre 1 - 25% de sus bayas con signos de oidio de la vid, causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores Trichonativa y Nacillus, empleados sólo en un estado fenológico de la vid (grano 4 - 5 mm). Evaluación realizada en tres oportunidades (27 de Diciembre, 25 de Enero y 16 de Febrero). Temporada 2005/2006.

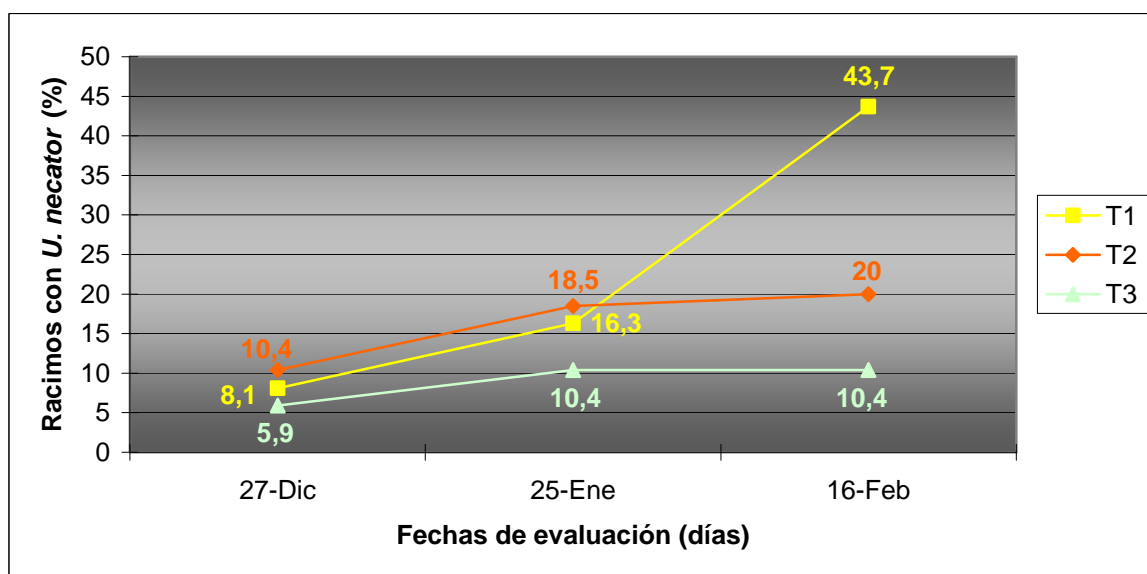


Figura 4.3. Severidad cuatro, que corresponde a racimos que presentan entre 51 - 100% de sus bayas con signos de oidio de la vid, causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores Trichonativa y Nacillus, empleados sólo en un estado fenológico de la vid (grano 4 - 5 mm). Evaluación realizada en tres oportunidades (27 de Diciembre, 25 de Enero y 16 de Febrero). Temporada 2005/2006.

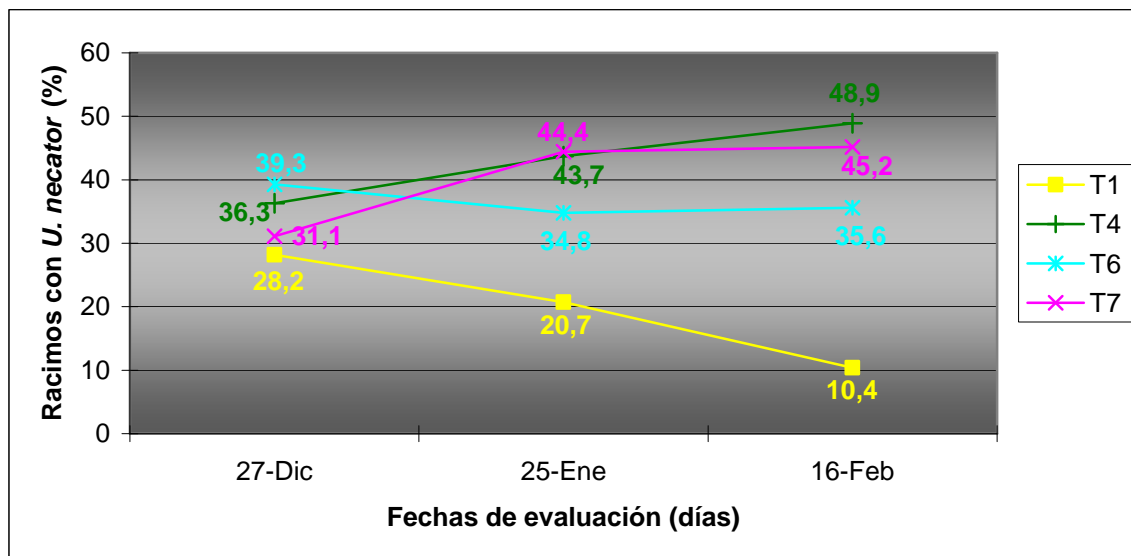


Figura 4.4. Severidad dos, que corresponde a racimos que presentan entre 1 - 25% de sus bayas con signos de oidio de la vid, causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores Trichonativa, Nacillus y la mezcla de estos, empleados en dos estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm y 50% tinta). Evaluación realizada en tres oportunidades (27 de Diciembre, 25 de Enero y 16 de Febrero). Temporada 2005/2006.

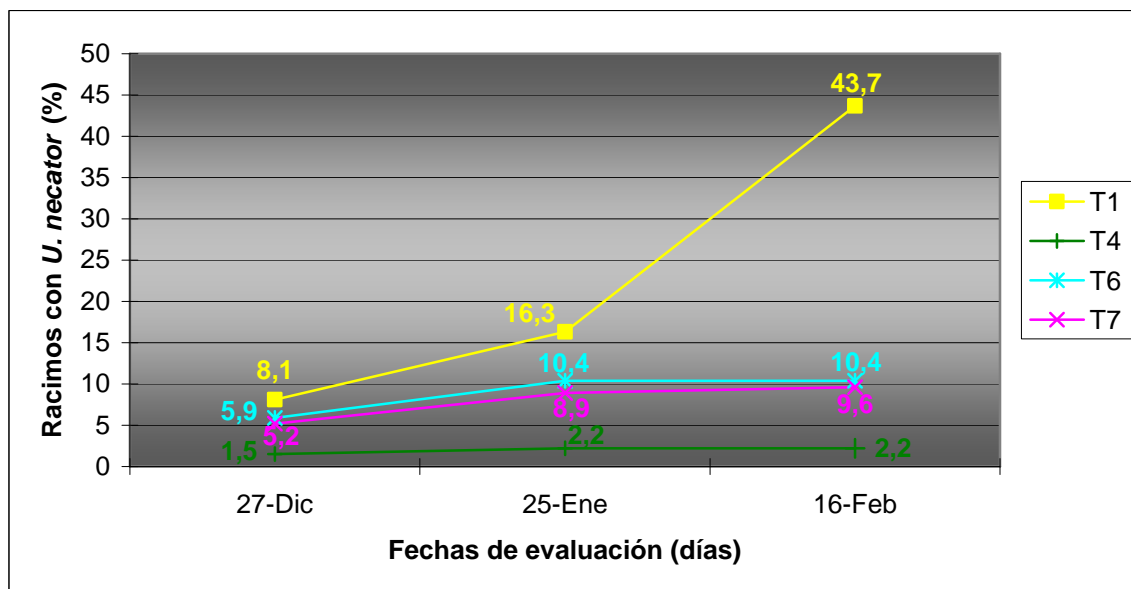


Figura 4.5. Severidad cuatro, que corresponde a racimos que presentan entre 51 - 100% de sus bayas con signos de oidio de la vid, causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores Trichonativa, Nacillus y la mezcla de estos, empleados en dos estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm y 50% tinta). Evaluación realizada en tres oportunidades (27 de Diciembre, 25 de Enero y 16 de Febrero). Temporada 2005/2006.

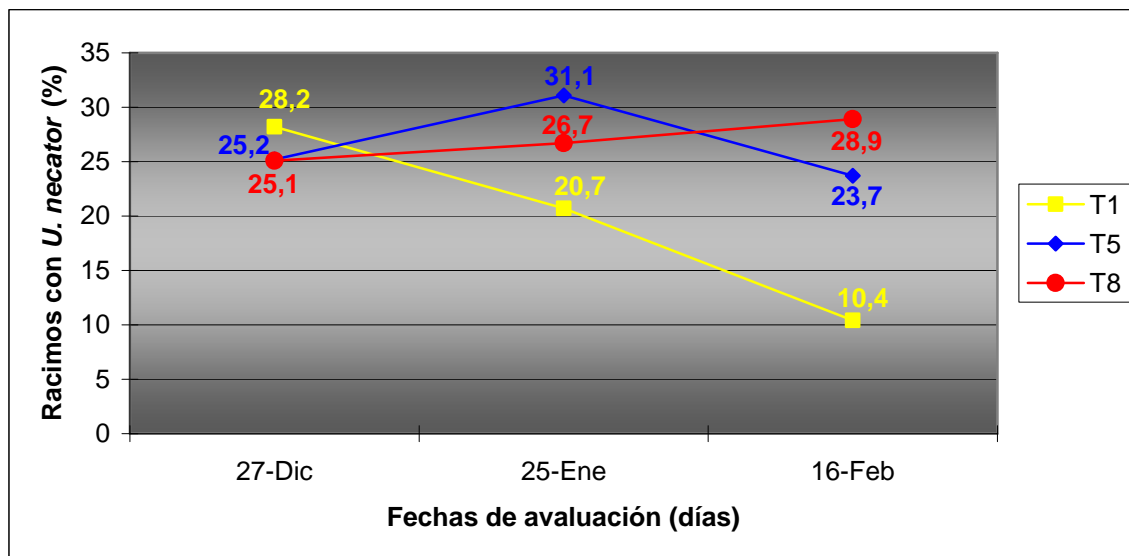


Figura 4.6. Severidad dos, que corresponde a racimos que presentan entre 1 - 25% de sus bayas con signos de oidio de la vid, causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores Nacillus y la mezcla de Trichonativa + Nacillus, empleados en tres estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm, 50% pinta y 100% pinta). Evaluación realizada en tres oportunidades (27 de Diciembre, 25 de Enero y 16 de Febrero). Temporada 2005/2006.

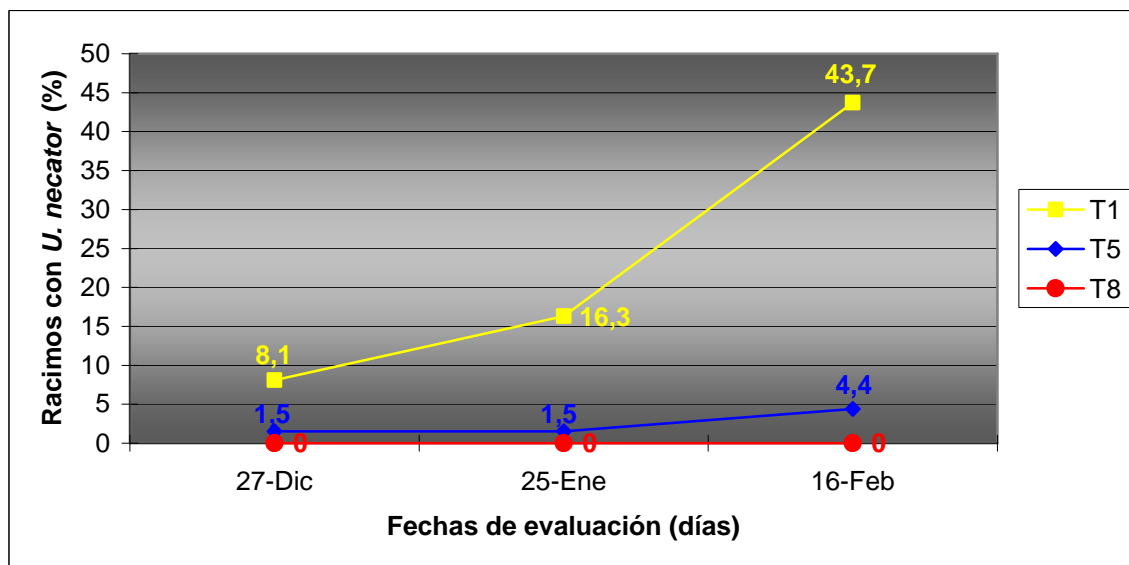


Figura 4.7. Severidad cuatro, que corresponde a racimos que presentan entre 51 - 100% de sus bayas con signos de oidio de la vid, causada por *Uncinula necator* en uva vinífera, cv. Cabernet Sauvignon, en racimos tratados con los biocontroladores Nacillus y la mezcla de Trichonativa + Nacillus, empleados en tres estados fenológicos de la vid (grano 4 - 5 mm, 50% pinta y 100% pinta). Evaluación realizada en tres oportunidades (27 de Diciembre, 25 de Enero y 16 de Febrero). Temporada 2005/2006.

V.- DISCUSIÓN

De acuerdo a los objetivos planteados a comienzos de esta investigación, fue posible evaluar y comprobar la efectividad de los biocontroladores *Trichoderma harzianum* cepa nativa Queule más *Trichoderma virens* cepa Sherwood, cuyo producto comercial es Trichonativa y del producto comercial Nacillus, cuyo ingrediente activo es *Bacillus subtilis* cepa Antumavida, además de la mezcla entre el producto Trichonativa y Nacillus, para el control del oidio de la vid (*Uncinula necator*) en un parronal de *Vitis vinifera* variedad Cabernet Sauvignon. Éste presentó en forma natural una elevada incidencia de *Uncinula necator* en sus racimos, lo cual se vio reflejado en niveles de hasta un 59,3 y 59,9% en el tratamiento testigo (T1) y el tratamiento que incluyó sólo una fecha de aplicación (grano 4 - 5 mm) con Trichonativa (T2). Estos altos niveles de incidencia se obtuvieron posiblemente por el sistema de conducción de la vid en parrón español y la poda deficiente, lo cual ineludiblemente ayuda a la infección, desarrollo y la rápida propagación de éste patógeno en los órganos de la vid vinífera, favoreciendo así las condiciones de temperatura y humedad que *Uncinula necator* requiere, al mismo tiempo reduce la ventilación e iluminación de los racimos, lo que también beneficia enormemente el desarrollo de éste hongo (Bendek *et al.*, 2002; Pearson, 2001 y Latorre, 1992).

Un aspecto importante y fundamental que se debe incluir al momento de programar la aplicación de un controlador biológico para esta enfermedad y de cualquier otra, es sin duda el modo en que ejercen su acción estos agentes antagonistas para limitar el desarrollo de este microorganismo patógeno. Por lo tanto, según la información obtenida se señala que la principal forma de acción de *Trichoderma* spp. sería por medio de la competencia. Una vez realizada la aplicación de éste antagonista, sus propágulos se desarrollan cuantiosamente colonizando de forma superficial los tejidos de la planta hospedera, compitiendo posiblemente con *Uncinula necator* por el substrato y espacio (Cook y Baker, 1989). Sin embargo, existen otros mecanismos de acción para este antagonista como lo son la predación y el micoparasitismo, el primero actúa enrollando el micelio alrededor de las hifas del hongo presa, produciendo un

estrangulamiento y en algunos casos las hifas susceptibles son penetradas, provocándoles el colapso y la desintegración, para luego alimentarse de este substrato (Cook y Baker, 1989). En el micoparasitismo, estarían involucradas ciertas enzimas como *B* 1,3 gluconasas, lipasas y proteolasas que *Trichoderma* spp. liberaría al medio, provocando la destrucción de componentes estructurales de ciertos patógenos (Elad *et al.*, 1982). En el presente estudio, los resultados obtenidos mostraron que las aplicaciones de *Trichoderma harzianum* cepa nativa Queule más *Trichoderma virens* cepa Sherwood, en las épocas descritas anteriormente, fueron efectivas en reducir la incidencia de *U. necator* en racimos de vid vinífera variedad Cabernet Sauvignon. Sin embargo, la aplicación de este biocontrolador se debería realizar en todas las épocas de mayor susceptibilidad de la planta, ya que una sola aplicación en grano 4 - 5 mm, demostró ser insuficiente para reducir la incidencia y severidad de *Uncinula necator*. Como se ha mencionado anteriormente, este hongo inverna como micelio en el interior de las yemas latentes, protegido por las escamas (fase asexual) o bien como cleistotecios en la superficie de los sarmientos enfermos (fase sexual) (Latorre, 1992; Hidalgo, 1993; MAPA, 1992; Reynier, 1989) y una vez que consigue la temperatura adecuada para desarrollarse, las conidias se extienden junto al brote en crecimiento, colonizando los tejidos verdes y jóvenes, pasando a constituir el inóculo primario y las posteriores reinfecciones (inóculo secundario) (Bergamin *et al.*, 1995). Por lo cual, sería una muy buena alternativa poder utilizar *Trichoderma* spp. como un biocontrolador preventivo del oidio de la vid, debiendo aplicarse antes de una condición de infección y durante la etapa de crecimiento y maduración de los racimos. Por lo tanto, pareciera que para obtener un mayor éxito de las aplicaciones de *Trichoderma* spp., éstas dependerían en cierto modo de la oportunidad de su aplicación, lo cual es fundamental para esta investigación ya que se podría mejorar con aplicaciones previas, como actualmente lo realizan los fungicidas preventivos, en la época en que los brotes alcanzan un tamaño de 15 a 20 cm de longitud y el periodo comprendido entre floración y bayas de 2 - 3 mm de diámetro aproximadamente, el cual es de gran importancia en la zona central de Chile ya que coincide con la época en que existe una mayor disponibilidad de inoculo y condiciones ambientales favorables a la infección (Bendek *et al.*, 2002; Besoain, 1990; Latorre *et al.*, 1986). De esta

forma se lograría un establecimiento real y eficiente para evitar la colonización de *Uncinula necator* en las bayas en formación y restos florales.

Los mecanismos por los cuales actúa *Bacillus subtilis* para controlar el oidio de la vid, además de la competencia por nutrientes, exclusión de sitio, sería por medio de la supresión de la germinación de esporas del patógeno, interrumpiendo el crecimiento del tubo germinativo y del micelio, además de inhibir la adherencia del patógeno a las hojas del hospedero, ya que produciría una zona de inhibición que restringe el desarrollo del patógeno. Conjuntamente ésta bacteria, ha demostrado inducir la resistencia sistémica natural de la planta contra patógenos bacterianos y fungosos, propiedad llamada Resistencia Sistémica Adquirida (SAR) (Butt *et al.*, 1999; Gonzalez y Frangoso, 2002). En la presente investigación, las aplicaciones del producto Nacillus, cuyo ingrediente activo es *Bacillus subtilis* cepa Antumavida, en la dosis comercial recomendada, provocó una eficiente reducción de la incidencia (hasta un 53% de disminución con respecto al tratamiento testigo) y severidad del oidio de la vid en racimos de Cabernet Sauvignon. Estos buenos resultados fueron obtenidos con los tres tratamientos de Nacillus (T3, T5, T7), los cuales controlaron efectivamente el oidio de la vid, sin embargo el tratamiento realizado sólo en una oportunidad (grano 4 - 5 mm) (T3), no fue muy efectivo en la reducción de la incidencia de *U. necator*, disminuyéndola solo en un 13% en comparación con el tratamiento testigo. Por lo tanto, al igual que con el producto Trichonativa, sería interesante realizar nuevos estudios con éstos tratamientos los cuales posiblemente se verían aun mas beneficiados con aplicaciones en épocas previas.

La aplicación de los tratamientos que contenían la mezcla de los productos Trichonativa más Nacillus, obtuvo los mejores resultados, logrando así una eficiente reducción de la incidencia (hasta 61,5% de disminución con respecto la tratamiento testigo) como también de la severidad, la cual fue la única en obtener en las tres evaluaciones un grado de infección de *U. necator* en racimos de Cabernet Sauvignon menor al 50%. Esta mezcla fue efectiva tanto en dos (grano 4 - 5 mm y 50% pinta) como en tres oportunidades de aplicación (grano 4 - 5 mm,

50% pinta y 100% pinta). Según las cualidades descritas anteriormente de *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis*, posiblemente estos dos antagonistas al unirse provocan una especie de sinergismo, por lo cual estos productos se potencian otorgando cada uno sus virtudes y así controlar efectivamente el oidio de la vid. De acuerdo con lo señalado en investigaciones anteriores, el periodo entre el establecimiento del patógeno y su esporulación es el más vulnerable para ser desplazado por el antagonista. También indica que al aplicar inóculos de un agente biocontrolador cuando los propágulos del patógeno se encuentran en vías de formación o antes que sean diseminados, se lograría un mayor control de ellos, debido a que posteriormente el antagonista alcanzará una alta concentración de inóculos cuando el patógeno logre una alta densidad, presentando así el biocontrolador ventajas comparativas sobre el patógeno. Por lo tanto, Como se ha mencionado anteriormente, sería interesante poder realizar nuevos estudios en que la aplicación de la mezcla sea ejecutada en épocas anteriores a las efectuadas en esta investigación, para poder determinar y evaluar su efectividad en reducir aun más la incidencia y el grado de severidad de *Uncinula necator* en racimos de Cabernet Sauvignon.

VI.- CONCLUSIONES

- ❖ La cepa nativa Queule de *Trichoderma harzianum* más la cepa Sherwood de *Trichoderma virens* (Trichonativa), fueron efectivas en reducir significativamente la incidencia y severidad del oidio de la vid causado por *U. necator* en racimos de uva vinífera cv. Cabernet Sauvignon, cuando fue aplicada en grano 4 - 5 mm y/o en éste estado fenológico de la vid más una segunda aplicación en 50% pinta.

- ❖ La cepa Antumavida de *Bacillus subtilis* (Nacillus) fue efectiva en reducir significativamente la incidencia y severidad del oidio de la vid causado por *U. necator* en uva vinífera cv. Cabernet Sauvignon, cuando fue aplicada en grano 4 - 5 mm, la cual fue efectiva en la disminución de la enfermedad, pero fue baja en comparación con los tratamientos que incluyeron las aplicaciones en grano 4 - 5 mm y 50% pinta o en éstos dos estados fenológicos de la vid más una tercera aplicación en 100% pinta. Es así como las aplicaciones realizadas en los tres estados fenológicos de la vid, obtuvo los segundos mejores resultados en el control de *Uncinula necator* en uva vinífera cv. Cabernet Sauvignon.

- ❖ La mezcla de la cepa nativa Queule de *Trichoderma harzianum* más la cepa Sherwood de *Trichoderma virens* (Trichonativa) y la cepa Antumavida de *Bacillus subtilis* (Nacillus), obtuvo los mejores resultados en cuanto a la efectiva reducción de la incidencia y severidad del ataque del oidio de la vid causado por *U. necator* en uva vinífera cv. Cabernet Sauvignon, con respecto al resto de los tratamientos biocontroladores y el tratamiento testigo (sin biocontrolador).

VII.- BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. 1988. Plant Pathology, Third Edition, Academic Press, Inc. San Diego, California. 803 p.
- Agrios, G. 1997. Plant Pathology, 4th Edition, Academic Press, Inc. San Diego. 635 p.
- Alvarez, M. 1989. Resistencia a los fungicidas, fundamentos y aspectos prácticos. En: Latorre, B. Fungicidas y nematocidas, avances y aplicabilidad. Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Chile. Pág. 125 - 138.
- Atlas, R. 2002. Ecología Microbiana y microbiología ambiental. Pearson Educación. Madrid. Pág. 677.
- Bendek C., Torres, R., Campbell, P y Latorre, B. 2002. Aportes al conocimiento y control del oidio de la vid. Aconex 76: Pág. 5 -11.
- Benlloch, M. 1961. Patología vegetal agrícola. Editores Salvat S.A. Barcelona – Madrid. Pág. 238 - 242.
- Bergamin, F., Kimati, H y Amorim, L. 1995. Manual de Fitopatología. Editorial Agronómica Ceres. S.P. Brasil. 920 p.
- Bermejo, P., Guerra, J y Martínez, F. 2000. Gestión Del Riesgo De Resistencia De Patógenos a Los Fungicidas. Novartis Agro SA. Barcelona. Resumen.
- Besoain, X. 1990. Control preventivo del oidio permite evitar millonarias perdidas en cultivo de la vid. Sembrando Futuro 7: Pág. 1 - 2.
- Branas, J. 1974. Viticulture. Ecole Nationale Supérieure Agronomique. Montpellier, Francia. 990 p.
- Braun, U. 1999. Some critical notes on the classification and the generic concept of the Erysiphaceae. Schlechtendalia 3: Pág. 48 - 54.
- Braun, U y Takamatsu, S. 2000. Phylogeny of Erysiphales, *Microsphaera*, *Uncinula* (Erysiphaea) and *Cystotheca*, *Podosphaera*, *Sphaerotheca* (Cysatotheceae) inferred from rDNA ITS sequences, some taxonomic consequences. Schlechtendalia. 4: Pág. 1 - 33.
- Butt, T., Harris, G y Powell, A. 1999. Microbial biopesticides: The European Scene. In "biopesticides. Use and delivery". Eds. F. R. Hill y J. J. Menn. Humana Press, NJ. Pág. 23 - 44.
- Byrne, J., Dianese, A., Campbell, P., Cuppels, D., Louws, F., Miller, S., Jones, J y Wilson, M. 2005. Biological control of bacterial spot of tomato under Weld conditions at several locations in North America. Biological Control 32: Pág. 408 - 418.
- Cortesi, P., Bisiach, M., Ricciolini, M y Gadoury, D. 1977. Cleistothecia of *Uncinulanecator* an additional source of inoculum in Italian vineyards. Plant Disease 81: Pág. 922 - 926.

- Cook, J y Baker, K. 1989. The nature and practice of biological control of plant pathogens. 2nd Ed. The American Phytopathological Society USA. 539 p.
- Cruz, M. 2001. Oidio de la vid. Editorial Stadnik. Brasil. Pág. 361 - 380.
- Chellemi, D. y Marois, J. 1991a. Development of a demographic growth model for *Uncinula necator* by using microcomputer spreadsheet program. *Phytopathology* 81: Pág. 250 - 254.
- Chellemi, D y Marois, J. 1991b. Effect of fungicides and water on sporulation of *Uncinula necator*. *Plant Disease* 75: Pág. 455 - 457.
- Delp, C. 1954. Effect of temperature and humidity on grape powdery mildew fungus. *Phytopathology* 44: Pág. 615 - 626.
- Dell, K., Gubler, W., Krueger, R., Sanger, M y Bettiga, L. 1998. The efficacy of JMS Stylet-oil on grape powdery mildew and *Botrytis* bunch rot and effects on fermentation. *Am.J.Enol.Vitic.* 49: P 11 - 16.
- Domínguez, F. 1993. Plagas y enfermedades de las plantas cultivadas. 9.^a Edición. Ediciones Mundi - Prensa. Madrid. Pág. 755 - 761.
- Domínguez, F. 1972. Plagas y enfermedades de las plantas cultivadas. 4.^a Edición. Editorial Dossant. S.A. Madrid. Pág. 884 - 891.
- Doster, M y Schnathorst, W. 1985a. Effects of leaf maturity and cultivars resistance on development of the powdery mildew fungus on grapevines. *Phytopathology* 75: Pág. 318 - 321.
- Doster, M y Schnathorst, W. 1985b. Comparative susceptibility of various grapevine cultivars to the powdery mildew fungus *Uncinula necator*. *Am. J. Enol. Vitic.* 36: Pág. 101- 104.
- Falk, S., Gadoury, D., Pearson, R y Seem, R. 1995a. Partial control of grape powdery mildew by mycoparasite *Ampelomyces quisqualis*. *Plant Disease* 79: Pág. 483 - 490.
- Falk, S., Gadoury, D., Cortesi, P., Pearson, R y Seem, R. 1995b. Parasitism of *Uncinula necator* cleistothecia by the mycoparasite *Ampelomyces quisqualis*. *Phytopathology* 85: Pág. 794 - 800.
- Elad, y., Chet, I y Henis, Y. 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Canadian Journal of microbiology* 28: Pág. 719 - 725.
- Fallik, E., Grinberg, S y Ziv, O. 1996. Use of bicarbonate salts to reduce decay development in harvest fruits and vegetables. *Phytoparasitica* 24: 153 p (Abstract).
- Ficke, A., Gadoury, D y Seem, R. 2002. Ontogenic resistance and plant disease management: A case study of grape powdery mildew. *Phytopathology* 92: Pág. 671 - 675.
- Flaherty, D., Jensen, F., Kasimatis, A., Kido, H y Moller, W. 1981. Grape Pest Management. Division of Agricultural Sciences, University of California. 62 p.

- Gadoury, D y Pearson, R. 1990 b. Ascocarp dehiscence and ascospore discharge in *Uncinula necator*. *Phytopathology* 80: Pág. 393 - 401.
- Gadoury, D., Seem, R., Pearson, R., Wilcox, W y Dunst, R. 2001. Effects of powdery mildew on vine growth, yield and quality of Concord grapes. *Plant Disease* 85: Pág. 137 - 140.
- Gadoury, D y Pearson, R. 1991. Heterothallism and pathogenic specialization in *Uncinula necator*. *Phytopathology* 81: Pág. 1287-1293.
- Galet, P. 1977. Les Maladies et les Parasities de la Vigne. Tome I. Paysan du Midi. Montpellier, Francia. 871 p.
- Gemmrich, A y Seidel, M. 1996. Immunodetection of overwintering *Oidium* mycelium in bud scales of *Vitis vinifera*. *Vitis* 35: Pág. 63 - 64.
- González, V y Fragoso, S. 2002. *Bacillus Subtilis*. (En - Línea). Disponible en <http://www2.cbm.uam.es/microali/pdfs/Bsubtilis.pdf>. Consultado 24 de Abril de 2006.
- Harvey, J y Pentzer, W. 1972. Enfermedades de importancia comercial de las uvas y otros frutos pequeños. Manual agrícola N° 189. Departamento de agricultura de los E.U.A. México/ Buenos Aires. Pág. 17 - 19.
- Havrylenko, M. 1997. Erysiphales de la región andino - patagónica. Tesis de Doctorado. Centro Regional Universitario de Bariloche. Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, Argentina. Resumen.
- Henríquez, J., Montealegre, J y Lira, W. 1998. Evaluación del aceite mineral ultra fine sun spray en el control del oídio de la vid (*Uncinula necator*). *Investigación Agrícola*. 18: Pág. 25 - 32.
- Hidalgo, L. 1993. Tratado de viticultura general. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. P 873 - 875.
- Horst, R., Kawamoto, S y Porter, L. 1992. Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot of roses. *Plant Disease* 76: Pág. 247 - 251.
- Kasimatis, A., Bearden, B y Bowers, K. 1979. Wine Grape Varieties, in the North Coast Counties of California. Division of Agricultural Sciences, University of California. 30 p.
- Lampkin, N. 2001. Agricultura Ecológica. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. Pág. 220 - 222.
- Latorre, B., Pszczółkowski, Ph., Torres, R y Broome, J. 1996. Efectividad de los ácidos grasos e inhibidores de esteroides contra el oídio de la vid y acción sobre la vinificación en Chile. *Fitopatología*. Pág. 31, 52 - 58.
- Latorre, B. 1992. Enfermedades de las plantas cultivadas. 3.^a edición. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. Pág. 271 - 273.
- Latorre, B. 1989. Fungicidas y Nematicidas. Bernardo Latorre. (Edts.) Facultad de Agronomía. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 216 pp.

- Latorre, B. 1987. Manejo de Botrytis y otras plagas en uva de mesa. Pontificia Universidad Católica de Chile. Pág. 123 - 128.
- Latorre, B., Gonzalez, J., Lolas, M y Pinochet, H. 1986. Oidio de la vid. Evaluación de nuevos fungicidas. Revista Frutícola (Chile). 7: Pág. 43 - 47.
- Latorre, B. 1984. Oídio de los árboles frutales y vides. Aconex (Chile). 7: Pág. 5 - 9.
- Lavin, A., Silva, R y Sotomayor, J. 1999. Manual básico de viticultura. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro experimental Cauquenes. Chile. Pág. 48 - 49.
- Leinhos, G., Gold, R., Dugelin, M y Guggenheim, R. 1997. Development and morphology of *Uncinula necator* following with the fungicides kresoxim.methyl and penconazole. Mycological Research. 101: Pág. 1033 - 1046.
- Massomo, S., Mortensen, C., Mabagala, R., Newman, M y Hockenhull, J. 2004. Biological Control of Black Rot (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) of Cabbage in Tanzania with *Bacillus* strains. Phytopathology 152: Pág. 98 - 105.
- Mendgen, K., Schiewe, A y Falconi, C. 1992. Biological crop protection. Biological control of plant diseases. Bayer AG. Leverkusen. 45: Pág. 5 - 20.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 1992. Parásitos de la Vid. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. Pág. 169 - 173.
- Montealegre, J., Chávez, X y Henríquez, J. 2001. Uso del aceite mineral, Sun Sparay Ultra Fine, en mezcla con Miclobutanil para controlar el oidio de la vid (*Oidium Tuckeri*). Agro sur 29: Pág. 100 - 109.
- Morales, A. 1997. Botrytis en vides. Chile Hortofrutícola 45: Pág. 13 - 16.
- Morales, A. 1986. Resistencia de hongos a los fungicidas. Aconex. 13: Pág. 25-26.
- Mujica, F y C. Vergara. 1980. Flora Fungosa Chilena. Segunda edición. Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 308 p.
- Navia, V. 1992. Vigencia de los fungicidas IBE en el control de oidio en uva de mesa. Aconex. 35: Pág. 11 - 14.
- Nothover, J y. Schneider, K. 1996. Physical modes of action of petroleum and plant oils on powdery mildew in buds of grapevine. Plant Disease. 80: Pág. 544 - 550.
- Pearson, R. 2001. Plagas y Enfermedades de la Vid. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. Pág. 1, 11-13.
- Pearson, R. 1996. Plagas y Enfermedades de la Vid. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. Pág. 9 - 11.
- Pearson, R. 1988. Powdery mildew. pp. 9-11 In: Compendium of Grape Diseases. Edts. R.C. Pearson y A.C. Goheen. APS Press St. Paul, Minn.
- Pearson, R y Gartel, W. 1985. Occurrence of hyphae of *Uncinula necator* in buds of grapevine. Plant Disease. 69: Pág. 149 - 151.

- Piermattei, B., Piva, A., Castellari, M., Arfelli, G y Amati, A. 1999. The phenolic composition of red grapes and wines as influenced by *Oidium tuckeri* development. *Vitis*. 38: Pág. 85 - 86.
- Raupach, G y Kloepper, J. 2000. Biocontrol of cucumber diseases in the field by plant growth-promoting rhizobacteria with and without methyi bromide fumigation. *Plant Dis*. 84: Pág. 1073 - 1075.
- Reynier, A. Manual de viticultura. 1989. 4ª Edición. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid. Pág. 324 - 329.
- Riveros, F. 2000 Control del oídio de la vid en la zona norte de Chile basado en la fenología de dos variedades de vid. *Aconex (Chile)*. 67: Pág. 21 - 25.
- Rugner, A., Rumbolz, J., Huber, B., Bleyer, G., Gisi, U., Kassemeyer, H y Guggenheim, R. 2002. Formation of overwintering structures of *Uncinula necator* and colonization of grapevine under field conditions. *Plant Pathology*. 51: Pág. 322 - 330.
- Sall, M y Wrynski, J. 1982. Perennation of powdery mildew in buds of grapevine. *Plant Disease*. 66: Pág. 678 - 679.
- Santa Maria, R. 1982. El oidio de la vid. *Aconex*. 2: Pág. 13 - 14.
- Smith, I., Dunez, J., Phillips, D., Lelliot, R., Archer, S. 1992. Manual de enfermedades de las plantas. Universidad politécnica de Madrid. Ediciones Mundi - Prensa. Pág. 313 - 314.
- Stapleton, J., Gubler, D., Fogle, D., Chellemi, L., Bettiga, G., Leavitt, P., Verdegaal, R y Kelly, R. 1988. Relationships among climate, primary inoculum source, dormant, and post-emergence sprays, and powdery mildew. *Phytopathology* 78: 1531p (Abstract).
- Staudt, G. 1997. Evaluation of resistance to grapevine powdery mildew (*Uncinula necator* (Schw.) Burr., anamorph *Oidium tuckeri* Berk.) in accessions of *Vitis* species. *Vitis*. 36: Pág. 151 - 154.
- Spurrier, C. 1990. Pesticides there will be change. In: Symposium "Plant Health Management Issues of Public Concern: Focus on Pesticides". California. *Plant Disease*. 74: Pág. 103 - 110.
- Van der Spuy, J y Ante, F. 1977. Overwintering of oidium stage of *Uncinula necator* in the buds of grapevine. *Plant Disease Reporter* 61: Pág. 612 - 615.
- Utkhede, R y Koch, C. 2004. Biological treatments to control bacterial canker of greenhouse tomatoes. *Biocontrol*. 49: Pág. 305 - 313.
- Ypema, H y Gubler, W. 2000. The distribution of early season grapevine shoots infected by *Uncinula necator* from year to year: A case study in two California vineyards. *Am.J.Enol.Vitic*. 51: Pág. 1 - 6.