



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

**COMPARACIÓN DE POBLACIONES DE *Trichoderma* spp. Y *Botrytis Cinerea* EN
DOS VIÑEDOS, UNO ORGÁNICO Y OTRO DE MANEJO TRADICIONAL EN LA
ZONA DE CAUQUENES.**

MEMORIA DE TÍTULO

CRISTIAN EDUARDO HENRÍQUEZ MELLADO

TALCA – CHILE

2006

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

**COMPARACIÓN DE POBLACIONES DE *Trichoderma* spp. Y *Botrytis Cinerea* EN
DOS VIÑEDOS, UNO ORGÁNICO Y OTRO DE MANEJO TRADICIONAL EN LA
ZONA DE CAUQUENES.**

por

CRISTIAN EDUARDO HENRIQUEZ MELLADO

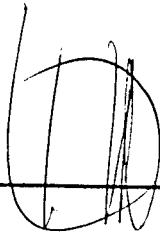
MEMORIA DE TÍTULO

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

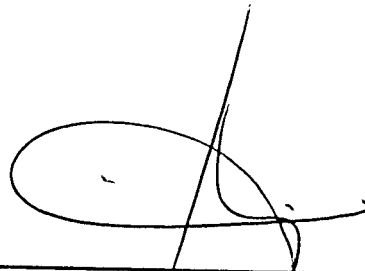
INGENIERO AGRÓNOMO

TALCA, 2006

APROBACIÓN:



**Profesor Guía: Claudio Sandoval B. Ing. Agr. M.Sc. Dr.
Profesor Escuela de Agronomía
Universidad de Talca**



**Profesor Guía: Mauricio Lolas C. Ing. Agr. M.Sc. Ph.D.
Profesor Escuela de Agronomía
Universidad de Talca**

Presentación Defensa de Memoria: 28 de Julio de 2006

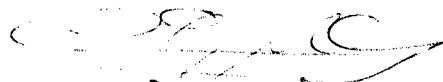
**Autorización para la publicación
de memorias de Pregrado y tesis de Postgrado**

Yo, **Cristian Eduardo Henriquez Mellado** cédula de Identidad N° 14.056.959-3 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:	Comparación de poblaciones de Tricodermas spp. Y Botritis Cinerea en dos viñedos , uno organico y otro de manejo tradicional en la zona de Cauquenes.-
Unidad Académica:	
Carrera o Programa:	
Título y/o grado al que se opta:	Imgeniero Agrónomo
Nota de calificación	5,4

Firma de Alumno



Rut: 14.056.959-3

RESUMEN

Se realizó una comparación entre un viñedo orgánico y otro tradicional en cuanto a población del hongo biocontrolador *Trichoderma* y el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* presente en racimos de Cabernet Sauvignon en la zona de Cauquenes, VII región. Además se obtuvo la población de estos dos hongos presentes en el racimo, específicamente en el raquis, calíptrra y baya. De igual forma se estimaron ambas poblaciones en tres estados fenológicos del racimo correspondiente a inicio floración, plena flor y cuaja.

Para efecto del estudio el racimo fue separado en dichas estructuras en unidades conocidas; raquis (40 trozos), calíptrra (30 trozos) y baya (30 trozos), en donde cada estructura (conjunto de trozos) quedó depositado en una solución de 0.5 ml. de agua destilada estéril más nistatina y posteriormente sembradas en medio de cultivo PDA, dando origen a distintas colonias.

Los resultados obtenidos en el análisis estadístico indicaron que no existe una diferencia poblacional de *Trichoderma* y *Botrytis cinerea* entre un viñedo orgánico y otro tradicional para los viñedos bajo estudio.

La mayor población *Botrytis cinerea* se encontró en el estado de cuaja, localizada en la baya, distribuyéndose un menor numero de colonias en raquis y calíptrra. La población de *Trichoderma* se distribuiría homogéneamente dentro del racimo.

SUMMARY

He/she was carried out a comparison among a traditional organic and other vineyard as for population of the mushroom biocontrolador *Trichoderma* and the mushroom fitopatógono *Botrytis present cinerea* in clusters of Cabernet Sauvignon in the area of Cauquenes, VII region. The population of these two present mushrooms was also obtained in the cluster, specifically in the rachis, calíptras and berry. Of equal he/she is formed both populations they estimated in three states fenológicos of the cluster corresponding to beginning floración, full flower and it clots.

For effect of the study the cluster was separated in this structures in well-known units; rachis (40 pieces), calíptras (30 pieces) and berry (30 pieces) where each structure (group of pieces) it was deposited in a solution of 0.5 ml. of water distilled sterile more nistatina and later on sowed amid cultivation PDA, giving origin to different colonies. The results obtained in the statistical analysis indicated that it doesn't exist a populational difference of *Trichoderma* and *Botrytis cinerea* among a traditional organic and other vineyard for the vineyards under study.

The biggest population *Botrytis cinerea* was in the state of it clots, located in the berry, being distributed a minor numbers of colonies in rachis and calíptras. The population of *Trichoderma* would be distributed homogeneously inside the cluster.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	8
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Generalidades de la vid	11
2.1.1. Cabernet Sauvignon	12
2.2. <i>Botrytis cinerea</i>	13
2.2.1. Ciclo de la enfermedad.....	13
2.2.2. Condiciones para el desarrollo de la enfermedad	14
2.2.3 Síntomas.....	15
2.2.4. Prevención y control	16
2.3. <i>Trichoderma</i>	17
2.3.1. Control biológico de <i>Trichoderma</i>	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1 Descripción de la zona de estudio y toma de muestras.....	19
3.2. Características de los viñedos	20
3.3. Recolección y análisis de muestras	20
3.4 . Identificación de las colonias desarrolladas.....	21
3.5. Cuantificación de poblaciones	22
3.7. Diseño experimental y análisis de resultados.....	22
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
4.1 Comparación entre un viñedo orgánico y otro tradicional en base a la población del hongo biocontrolador <i>Trichoderma</i> y el hongo fitopatogeno <i>Botrytis cinerea</i> presente en racimos de Cabernet Sauvignon.....	23
4.1.1. Comparación de poblaciones de <i>Trichoderma</i> y <i>Botrytis cinerea</i> presentes en un viñedo orgánico y tradicional.....	23
4.2 Estimación de la población de <i>Botrytis cinerea</i> en tres estructuras del racimo (raquis, caliptra y baya).....	25
4.2.1 Estimación de la población de <i>Botrytis cinerea</i> a inicio de floración.....	26
4.2.2 Estimación de la población de <i>Botrytis cinerea</i> en plena flor.....	27
4.2.3 Estimación de la población de <i>Botrytis cinerea</i> en cuaja.....	28
4.3 Estimación de la población de <i>Trichoderma</i> en tres estructuras distintas (raquis, calíptra y baya).....	30
6. BIBLIOGRAFÍA.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 4

	Pág.
4.1. Comparación de la poblaciones de <i>Trichoderma</i> y <i>Botrytis cinerea</i> presentes en racimos de un viñedo bajo manejo tradicional y otro bajo manejo orgánico, ambos de la variedad Cabernet Sauvignon. Periodo comprendido entre inicio de floración y cuaja. Cauquenes. Temporada 2004/2005.	17
4.2. Número de colonias de <i>Botrytis cinerea</i> desarrolladas a partir de distintas estructuras de racimo del cultivar Cabernet Sauvignon colectados a inicio de floración. Cauquenes. Temporada 2004/2005.	19
4.3. Número de colonias de <i>Botrytis cinerea</i> desarrolladas a partir de distintas estructuras del racimo del cultivar Cabernet Sauvignon colectados en plena flor. Cauquenes. Temporada 2004/2005.	21
4.4. Número de colonias de <i>Botrytis cinerea</i> desarrolladas a partir de distintas estructuras del racimo del cultivar Cabernet Sauvignon colectados en cuaja. Cauquenes. Temporada 2004/2005.	22
4.5. Número de colonias de <i>Trichoderma</i> desarrolladas a partir de distintas estructuras de racimo del cultivar Cabernet Sauvignon colectados desde inicio de floración a cuaja. Cauquenes. Temporada 2004/2005.	23

1. INTRODUCCIÓN

Chile, en la actualidad, forma parte del grupo de productores del nuevo mundo vitivinícola; junto a Australia, Estados Unidos, Argentina y Nueva Zelanda. Todos ellos deben competir con fuertes productores de vino, de tradición como son algunos países europeos (Italia, Francia, España, Portugal) (Pszczólkowski, 2000).

Son muchos los factores que intervienen en la obtención final de un producto que nos permita posicionarnos en el mercado mundial. Uno muy relevante es el manejo que se realiza a nivel de campo en pre y post cosecha en las viñas nacionales, controlando plagas y enfermedades como es el caso de la pudrición gris de la vid causada por el hongo *Botrytis cinerea*. Este patógeno, durante los últimos años, ha aumentado su incidencia y severidad lo que ha determinado que sea una de las patologías más temidas de la viticultura nacional, debido a las importantes pérdidas económicas que provoca (Auger, 1981).

En el mercado mundial existe una gran demanda por productos orgánicos o biológicos. En particular, en el caso del vino, se está lentamente incorporando mostos orgánicos como es el caso de España e Italia (Pino e Hinojosa, 2000). Chile, por supuesto, como país en vías de desarrollo no puede quedar exento a satisfacer estos mercados, por lo que a nivel de campo ha adquirido gran relevancia el control 100% biológico de plagas y enfermedades, convirtiéndose en una herramienta indispensable para poder acceder algunos nichos dentro de los mercados internacionales. Actualmente, en la mayoría de los artículos que se relacionan con el tema, destaca el hongo biocontrolador *Trichoderma* que ataca a

una gran variedad de hongos fitopatógenos responsables de las enfermedades que causan mayor daño económico a nivel mundial en especies de interés agrícola.

De acuerdo a lo anterior, en el presente estudio se plantea como hipótesis que un viñedo bajo manejo orgánico favorece el desarrollo de poblaciones naturales e introducidas de *Trichoderma* las que a su vez al ejercer un control sobre el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*, llevan a una reducción de las poblaciones de este microorganismo. Por el contrario, viñedos bajo manejo tradicional, debido a la aplicación de fungicidas presentarán una menor población del hongo biocontrolador *Trichoderma*.

En base a la hipótesis planteada, el presente proyecto de memoria se ha propuesto como objetivo general:

- Comparar la población natural del hongo biocontrolador *Trichoderma* spp. y del fitopatógeno *Botrytis cinerea* presentes en racimos colectados en viñedos bajo manejo tradicional y orgánico.

Por otra parte, como objetivos específicos se señalan:

- Analizar la población de *Botrytis cinerea* presente en tres estructuras del racimo(raquis, calíptrra y baya)

- Determinar a través de siembra en medio de cultivo, la presencia de hongos, específicamente *Trichoderma* spp. y *Botrytis cinerea*, en racimos provenientes de dos viñedos bajo diferente manejo; tradicional y orgánico.

- Analizar la población de ambos hongos en racimos provenientes de viñedos bajo distintos manejos, en los estados fenológicos de: inicio floración, plena flor y cuaja.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Generalidades de la vid

El nombre científico de la vid es *Vitis vinifera*, siendo conocida también como parra o uva. Es originaria del continente Asiático de donde fue difundida a los demás países, principalmente a los que poseen un clima mediterráneo. Es una planta anual perenne, de crecimiento arbustivo, hábito trepador, produce zarcillos y brotes anuales de crecimiento ilimitado, por lo tanto es necesario controlarla mediante poda. Su fruto corresponde a una baya, las cuales se agrupan en un racimo ubicado opuesto a la hoja. Pertenece a la familia vitácea (Martínez, 1991).

El cultivo del fruto de la de la vid es el más extensamente plantado en el mundo. Existen unas 5.000 cultivares de la especie *V. vinifera* estableciéndose la mayoría en aquellas regiones que poseen un clima templado.

En Chile la superficie con plantación de viñedos alcanza un total de 172.635 hectáreas, de las cuales 110.097 corresponden a vides para vinificación. Las variedades que más han aumentado su superficie de plantación corresponden a cepas tintas representadas principalmente por Cabernet Sauvignon, Carmenère y Syrah (Catastro vitivinícola, SAG, Cauquenes, 2003).

2.1.1. Cabernet Sauvignon

La variedad Cabernet Sauvignon tiene su origen en la ciudad de Burdeos, Francia, siendo cultivada en regiones templadas de todo el mundo. Es introducida a nuestro país en el año 1851, logrando extenderse en áreas de todo el país, ya sea en regiones de riego o secano.

Sus hojas son de tamaño pequeño, color verde oscuro, forma pentagonal con 5 lóbulos. Sus bayas son redondas y de pequeño tamaño. Pulpa carnosa con un breve sabor herbáceo.

Por lo general, esta planta se puede desarrollar en la mayoría de los suelos del país, y dependiendo de la fertilidad de estos se obtendrán mayores o menores rendimientos de fruta.

El clima juega un rol fundamental en la calidad de la producción, ya que con temperaturas menores se obtiene un vino más fino comparado al obtenido en zonas más cálidas. El vino obtenido es de un color rosado a violáceo con aroma intenso y agradable y un muy leve sabor herbáceo.

La variedad Cabernet Sauvignon presenta susceptibilidad a Oidio y moderada resistencia al Mildiú. En cuanto a pudrición gris es relativamente resistente, salvo cuando se cosecha tarde (Abril) y se dan condiciones muy favorables para que se desarrolle.

2.2. *Botrytis cinerea*

Botrytis cinerea es un hongo patógeno que posee numerosos hospederos tanto en plantas cultivadas como silvestres. Es el agente causal de la pudrición gris de la vid que es la enfermedad fitopatológica que causa mayores problemas en esta especie. (Auger, 1997).

Se encuentra distribuido ampliamente por todo el mundo, corresponde a un hongo imperfecto del orden moniliales, polífago, saprófito y parásito. Su estado asexual lo define como un Ascomycete (Esterio, Auger, 1997).

En el caso de uva vinífera, en especial cepas tintas, este hongo provoca considerables pérdidas económicas debido al deterioro que causa en mostos oxidando los compuestos fenólicos, adquiriendo colores pardos y aspecto turbio acompañado de sabores desagradables causando una merma en la calidad del vino. (INIA, 2003).

2.2.1. Ciclo de la enfermedad

Botrytis logra sobrevivir durante la temporada de invierno como micelio vegetativo bajo la corteza y yemas durmientes, además forma estructuras de resistencia llamadas esclerocios. (Latorre, 2004).

En primavera los esclerocios germinan y producen una gran cantidad de conidias (Auger, 1981). La diseminación de estos ocurre a través del viento, por salpicado producido por lluvias y el contacto que existe entre las bayas enfermas y sanas.

2.2.2. Condiciones para el desarrollo de la enfermedad.

Para que ocurra la infección deben existir temperaturas de 15°C a 22°C con presencia de excesiva de agua libre, o a lo menos un 90% de humedad relativa, durante 15 horas (INIA, 2003).

También viñedos sobrecargados, con racimos muy compactos, exceso de follaje causado por una elevada fertilización con nitrógeno que causa una mayor área con sombra, favorece un microclima adecuado para el desarrollo del hongo.

La penetración en el tejido es facilitada tanto por micro fisuras causadas por la caída de partes florales en un período anterior al cierre del racimo, como también heridas causadas por insectos, pájaros y otros hongos como lo es el ataque de Oidio.

2.2.3 Síntomas.

Las bayas desarrollan una pudrición blanda y acuosa. La piel del racimo se suelta al roce de la mano, toma un color café amarillento y oscuro. La planta muestra muerte parcial o total de tejidos, necrosis de brotes y desarrollo de pequeños canchales en los nudos basales (Latorre, 2004).

La infección avanza lentamente en primavera en los brotes y yemas, pues estos tejidos son sólo atacados en estado juvenil. El período de ataque por *Botrytis* que causa mayor daño económico ocurre en floración y desde pinta a cosecha, cuando es afectado el racimo. La baya antes de pinta no es susceptible al ataque del hongo, salvo cuando excepcionalmente se dan las condiciones óptimas en donde la baya toma un color café para posteriormente caer por sí sola al suelo o permanecer en el raquis hasta que se cierre el racimo y quedar dentro de éste actuando como un foco de infección.

Desde pinta en adelante las bayas son infectadas por las conidias del patógeno que son sus unidades reproductivas. Estas antes de que se manifieste la enfermedad pueden llegar a desprenderse del racimo, cuando la infección se ha producido en su unión con el pedicelo.

2.2.4. Prevención y control

Un adecuado programa para el control de *Botrytis cinerea* debe considerar tratamientos químicos, biológicos y culturales. Es importante que estos métodos de control se basen en la prevención de la enfermedad. Para ello hay que reducir al máximo las distintas fuentes de inóculo como son restos florales y restos de poda contaminados. Por otra parte, se deben utilizar fungicidas de amplio espectro, que presenten distinto modo de acción tratando de evitar el desarrollo progresivo de resistencia de *Botrytis cinerea* a los productos que se ocupan tradicionalmente como fue lo que ocurrió con el grupo de los benzimidazoles y dicarboximidias (INIA, 2003).

Además, para prevenir pudrición gris es aconsejable tomar un control de medidas culturales como no plantar variedades de vid que tengan sus racimos apretados en lugares húmedos; restringir la cantidad y tiempo de riego de acuerdo al requerimiento de la planta; eliminar racimos infectados que actúen como foco de infección; utilizar sistemas de conducción y poda que permitan una buena aireación del racimo; eliminar rastrojos de racimos; sarmientos y pecíolos con presencia de la enfermedad después de ocurrida la cosecha.

2.3. *Trichoderma*.

Pertenece a la subdivisión Hyphomycetes. Su estado asexual o telomorfo pertenece a un hongo Ascomycotina.(Agrios, 1996).

Presenta conidióforos que pueden ser erectos o arrastrados y que en su parte final desarrollan conidias agrupadas en forma de pelota. Estas son suaves, verdes y poseen un tamaño de 2,4 a 3,2 * 2.2 a 2.8 um. Por lo general, suelen formar clamidiosporas que son de forma globosa a elipsoidal.

El modo de acción como biocontrolador es a través de la competencia y parasitismo mediante la producción de enzimas pectolíticas que logran destruir hifas, conidias y esclerocios, además sus micelios tienen la capacidad para envolver a su presa provocando su estrangulación. El hongo *Trichoderma* para poder desarrollarse requiere de un ph relativamente ácido, (ph=5) y alto contenido de materia orgánica que presente actividad microbiológica que le sirva de alimento junto a una adecuada humedad. (Cook, 1989).

2.3.1. Control biológico de *Trichoderma*.

Fue en la década del 70 cuando se empezaron a utilizar controladores biológicos del género fungoso *Trichoderma*, cuyas diferentes especies actúan sobre un gran número de hospederos distribuidos por todo el mundo. En la actualidad se ha demostrado la eficacia de *Trichoderma harzianum* sobre *Botrytis cinerea*, con lo cuál se desarrolló el fungicida Trichodex 25% WP a base de un aislado de *Trichoderma harzianum*, siendo utilizado preferentemente en uva de mesa..

Además ha logrado observar el control de un 80 – 83% de *Trichoderma Harzianum* sobre *Fusarium* en cultivos creciendo sobre suelo infectado en forma natural (Dennis y Webster citados por Cook, 1981)

El 2001 se determinó que *T. Harzianum* cepa nativa Queule presentó un efectivo control sobre *Fusarium solana*, con un 70% de sobrevivencia de plantas de tomate (Cifuentes, 2001).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción de la zona de estudio y toma de muestras.

El estudio fue realizado en dos viñedos de la variedad Cabernet Sauvignon, localizados en el Valle del Maule, Cauquenes, 90 Km al suroeste de la ciudad de Talca.

El primero de ellos bajo manejo orgánico, pertenece a Viña Lomas de Cauquenes, cuya bodega y guarda se encuentran en la ciudad de Cauquenes. El segundo viñedo bajo manejo tradicional pertenece a doña Lucía Ojeda, quien es uno de los 240 socios con que consta Cooperativa vitivinícola Lomas de Cauquenes. Su viñedo se encuentra al lado suroeste de la ciudad de Cauquenes con una plantación de 60 ha. Ambos se localizan en la misma zona de estudio por lo que se rigen bajo las mismas condiciones de clima y suelo.

La serie Cauquenes corresponde a suelos profundos, formados a partir de rocas graníticas, de textura arcillosa en el perfil del suelo. Su topografía está compuesta por cerros y lomas, con moderados problemas de erosión (Ciren, 1996).

Por otra parte, el clima es de tipo mediterráneo sub húmedo con una marcada estacionalidad de las lluvias, las que se concentran en la época de invierno y una larga estación seca en donde es requerido el riego. Debido a que esta zona se encuentra cercana

al mar (45 kms.), presenta una fuerte influencia oceánica, con baja oscilación térmica diaria y una elevada humedad relativa. (Gobierno Regional Del Maule, 1999).

3.2. Características de los viñedos

Viña Lomas de Cauquenes el año 1995 inicia su proyecto para producir vinos orgánicos. En la actualidad consta con 60 hectáreas 100 % orgánicas, en donde la certificación de sus vinos esta dada por IMO- Suiza ,una de las empresas más rigurosas de validez internacional.

En la caracterización de los viñedos en estudio, se realizó una entrevista a los administradores a cargo de ambas viñas, de modo de conocer los productos aplicados junto a los manejos realizados en cada uno. De esta forma se pudo determinar la posible influencia del manejo efectuado en los resultados obtenidos en el presente estudio. (Anexo 6.1)

3.3. Recolección y análisis de muestras

Se recolectó material vegetal proveniente de plantas de vid de ambos viñedos, específicamente del racimo, en distintas etapas de desarrollo, las cuales corresponden a inicio de floración, plena flor y cuaja. Se tomó un total de 5 racimos para cada una de las 3 etapas de desarrollo, en cada viña bajo distinto manejo. Estos se mantuvieron refrigerados a 4° C hasta su posterior análisis.

Cada estructura del racimo fue separada en cantidades equitativas para cada uno: 40 raquis, 30 caliptras y 30 bayas para posteriormente depositarlas en tubos de ensayo conteniendo una solución de agua destilada estéril y Nistatina (0.0025 gr./lt.).

Una vez agregadas las estructuras se dejó agitar por una hora para su homogeneización. Luego con una pipeta Pasteur se procedió a sembrar 0.5 ml. de cada suspensión en cada placas petri (3) conteniendo medio de cultivo agar papa dextrosa.

El objetivo de la Nistatina es favorecer el crecimiento lento de las poblaciones en el medio de cultivo para lograr una eficiente identificación y conteo de colonias en estudio, además de impedir el desarrollo de levaduras.

Las placas se incubaron a 27°C por 7 días, al cabo del cual se observó el desarrollo de colonias fungosas, específicamente de *Trichoderma* spp y *Botrytis cinerea*.

3.4 . Identificación de las colonias desarrolladas.

Las colonias fungosas desarrolladas en las placas se identificaron de acuerdo a características propias de ellas, observando preparaciones tanto bajo microscopio con el fin de caracterizar micelio y conidias y observación a simple vista.

3.5. Cuantificación de poblaciones.

De acuerdo a lo observado en las placas se contabilizó el número de colonias de *Botrytis cinerea* y *Trichoderma* obtenidas en las distintas unidades experimentales.

El conteo se realizó para cada unidad experimental correspondiente a 3 placas petri. De esta forma para estimar el número de colonias por placa se sacó un promedio para la unidad experimental, obteniendo el número de estos por placa presentes en 0.5 ml. de suspensión de estructuras recolectados en viñedos, tanto bajo manejo tradicional como orgánico en diferentes estados fenológicos (inicio de floración, plena flor y cuaja).

Se entendió como población, el número de colonias contabilizadas en 0.5 ml. de suspensión. Esta a su vez contenía ya sea trozos de raquis, caliptras o bayas.

3.7. Diseño experimental y análisis de resultados

Para la comparación de poblaciones de *Trichoderma spp.* y *Botrytis cinerea* en los viñedos tratados orgánicamente y en forma tradicional se utilizó un Diseño completamente al azar (DCA), de igual forma para estimar la población de estos hongos en tres estados de desarrollo (inicio de floración, plena flor y cuaja) y estructuras del racimo (raquis, caliptra y baya).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Comparación entre un viñedo orgánico y otro tradicional en base a la población del hongo biocontrolador *Trichoderma* y el hongo fitopatogeno *Botrytis cinerea* presente en racimos de Cabernet Sauvignon.

Para estimar las poblaciones de *Trichoderma* y *Botrytis* presente en los racimos, estos fueron colectados desde inicio floración hasta cuaja, siendo separados en trocitos homogéneos. (raquis, 40 trozos; caliptra, 30 trozos; y baya, 30 trozos) y suspendidos en 0.5 ml. de solución. Luego de sembrar en PDA e incubar por una semana se procedió a contar el número de colonias fungosas de *Trichoderma* y *Botrytis* desarrolladas a partir de estos 0.5 ml. de suspensión. Los resultados se presentan en la figura 4.1.

4.1.1. Comparación de poblaciones de *Trichoderma* y *Botrytis cinerea* presentes en un viñedo orgánico y tradicional.

La figura 4.1 muestra las poblaciones de *Trichoderma* y *Botrytis* (número de colonias desarrolladas a partir de 0.5 ml. de suspensión) en racimos de Cabernet Sauvignon colectados en dos viñedos, uno bajo manejo orgánico y otro tradicional. El viñedo bajo manejo tradicional obtuvo una mayor presencia de colonias de *Trichoderma* en el racimo (0.6 colonias/0.5ml). Sin embargo, esta mayor población no fue significativamente diferente del numero de colonias encontradas en el viñedo bajo manejo orgánico (0.53 colonias).

La población de colonias fungosas de *Botrytis* fue mayor en el viñedo tradicional (0.57 colonias/0.5ml). De igual forma que con *Trichoderma* este mayor número poblacional no fue significativamente superior a la población de colonias (0.48 colonias/0.5ml de solución.) de *Botrytis* encontradas en el viñedo orgánico. En consecuencia para las conclusiones de este ensayo y para las viñas bajo estudio no existen diferencias poblacionales a nivel del racimo de *Trichoderma* y *Botrytis cinerea* entre un viñedo orgánico y uno tradicional.

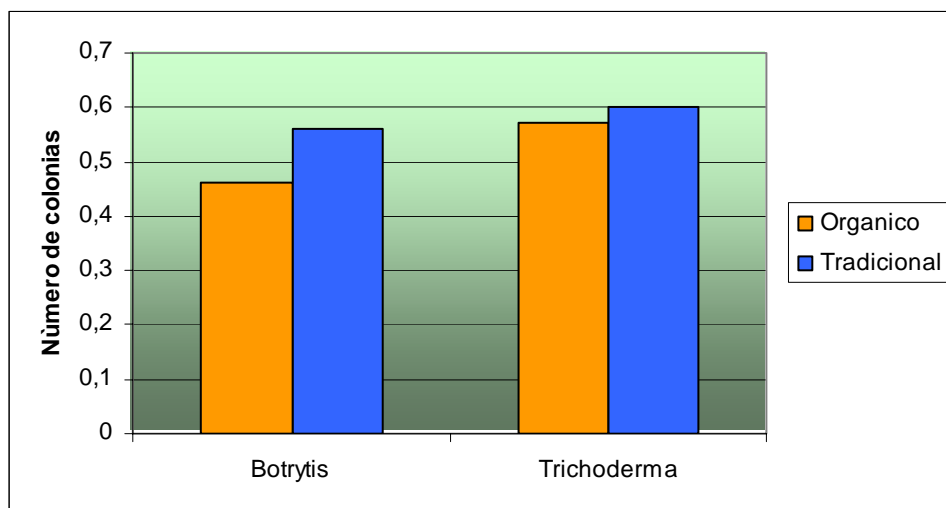


Figura 4.1. Comparación de la poblaciones de *Trichoderma* y *Botrytis cinerea* presentes en racimos de un viñedo bajo manejo tradicional y otro bajo manejo orgánico, ambos de la variedad Cabernet Sauvignon. Periodo comprendido entre inicio de floración y cuaja. Cauquenes. Temporada 2004/2005.

El viñedo bajo manejo tradicional a pesar de incorporar *Trichoderma* en los cortes de poda, no presentó una mayor población de este biocontrolador respecto al viñedo bajo manejo tradicional que no realiza aplicaciones de este hongo.

En ambas viñas los productos fungicidas aplicados fueron los mismos durante la temporada previa a recolectar los racimos (periodo de cuaja), solo variando las fechas de las aplicación y las dosis utilizadas. Lo anterior indica que no habría un posible efecto del manejo (aplicación de fungicidas) sobre las poblaciones de *Trichoderma* y *Botrytis cinerea* presentes en los racimos. Si bien las dosis aplicadas fueron distintas, se ubicaron dentro de un rango similar.

4.2 Estimación de la población de *Botrytis cinerea* en tres estructuras del racimo (raquis, caliptra y baya).

Para evaluar las poblaciones de *Botrytis cinerea* presente en el raquis, caliptra y baya, se procedió a coleccionar racimos en los estados fenológicos de inicio de floración hasta cuaja.

El racimo de uva de la variedad Cabernet Sauvignon fue separado en dichas estructuras en unidades conocidas; raquis (40 trozos), calípra (30 trozos) y baya (30 trozos), en donde cada estructura (conjunto de trozos) quedó depositado en una solución de 0.5 ml. de agua destilada estéril más nistatina.

4.2.1 Estimación de la población de *Botrytis cinerea* a inicio de floración.

La Figura 4.2 muestra los resultados obtenidos a partir de este ensayo en que se cuantifico el número de colonias del hongo desarrolladas en medio de cultivo PDA a partir de la suspensión sembrada. En este se muestran las poblaciones estimadas para el estado fenológico de plena flor. La estructura en que se encontró una mayor población de *Botrytis* correspondió a la baya (1 colonia/0.5 ml de solución), siendo este valor significativamente mayor al obtenido para raquis y calíptras. Estas últimas dos estructuras no difieren estadísticamente en cuanto a nivel poblacional. Es importante señalar el hecho que su bien hubo diferencias estadísticas, en todas las estructuras existían propágulos del patógeno que dieron luego origen a colonias en PDA.

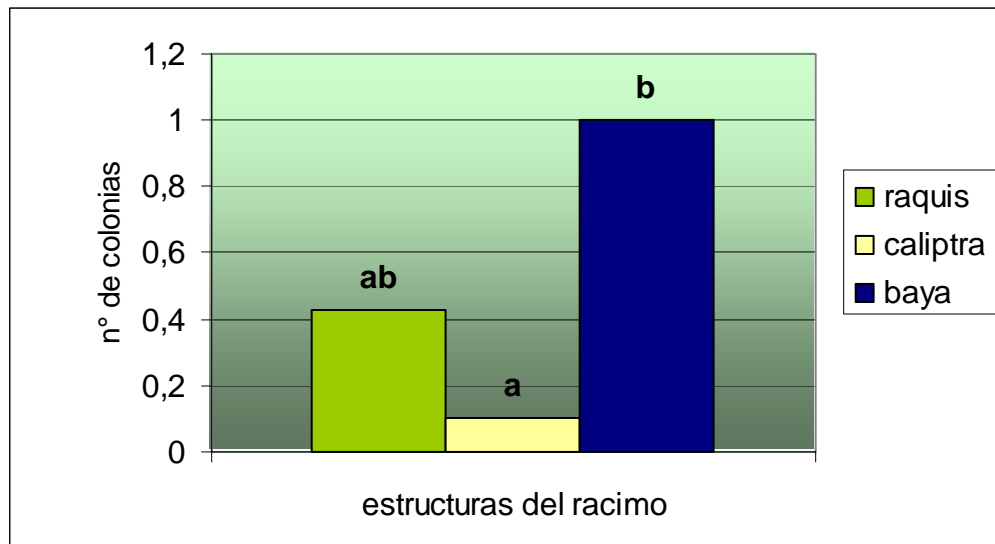


Figura 4.2. Número de colonias de *Botrytis cinerea* desarrolladas a partir de distintas estructuras de racimo del cultivar Cabernet Sauvignon colectados a inicio de floración. Cauquenes. Temporada 2004/2005.

Los resultados obtenidos indican que en ambos viñedos el riesgo de contaminación floral es mínimo, ya que la población de *Botrytis cinerea* encontrada en la calíptria es muy bajo. Sin embargo, existen propágulos del hongo en esta estructura y no deja de ser un riesgo ya que estos pueden quedar dentro del racimo y actuar como focos de infección.

Por otra parte, el que aparezcan las bayas con la mayor población del patógeno indica la efectividad de realizar aplicaciones preventivas de fungicidas al racimo como una forma de prevenir futuras infecciones.

4.2.2 Estimación de la población de *Botrytis cinerea* en plena flor.

En la figura 4.3 se muestran los resultados en el análisis de racimos colectados en plena flor. Para este estado fenológico la mayor población se encuentra nuevamente en la baya del racimo (1.2 colonias/0.5ml de suspensión), existiendo diferencias significativas ($P= 0.037$) con respecto a las otras estructuras analizadas. El raquis y calíptria presentan valores estadísticamente similares en cuanto al número de colonias de *Botrytis cinerea* contabilizadas, 0.1 colonias/0.5 ml de suspensión, resultando inferior a la población encontrada en la baya.

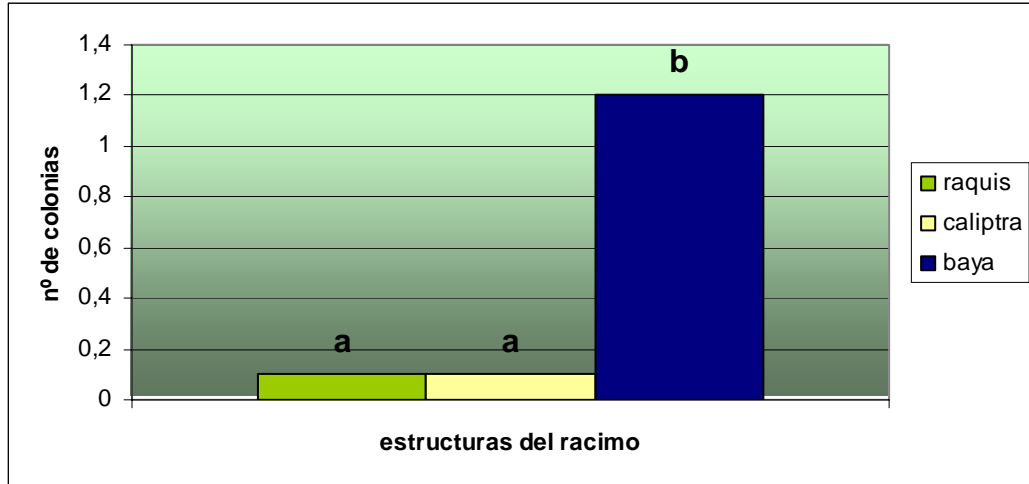


Figura 4.3 Número de colonias de *Botrytis cinerea* desarrolladas a partir de distintas estructuras del racimo del cultivar Cabernet Sauvignon colectados en plena flor. Cauquenes. Temporada 2004/2005.

4.2.3 Estimación de la población de *Botrytis cinerea* en cuaja.

La figura 4.4 muestra los resultados obtenidos para el estado fonológico de cuaja. Se observa que en éste existen diferencias significativas entre las distintas estructuras analizadas encontrándose una mayor población de *Botrytis cinerea* en la baya del racimo (1.8 colonias en 0.5 ml de suspensión). La caliptra presenta la menor población de *Botrytis cinerea* (0.23 colonias en 0.5 ml de suspensión).

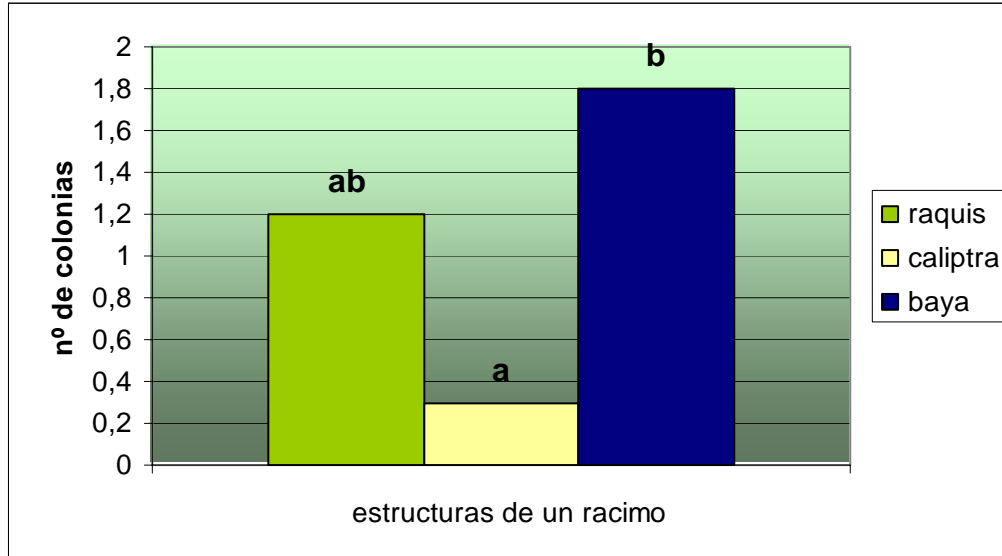


Figura 4.4 Número de colonias de *Botrytis cinerea* desarrolladas a partir de distintas estructuras del racimo del cultivar Cabernet Sauvignon colectados en cuaja. Cauquenes. Temporada 2004/2005.

Es importante señalar que desde el estado de pinta en adelante las bayas pueden ser infectadas por las conidias de *Botrytis cinerea*, sus unidades reproductivas. Las bayas antes de que se manifieste la enfermedad pueden llegar desprenderse del racimo, cuando la infección se ha producido en su unión con el pedicelo. (INIA, 2003)

4.3 Estimación de la población de *Trichoderma* en tres estructuras distintas (raquis, caliptra y baya).

Para evaluar las poblaciones de *Trichoderma* presente en el raquis, caliptra y baya, se procedió a coleccionar racimos en los estados fenológicos de inicio de floración plena flor y cuaja.

El racimo de uva de la variedad Cabernet Sauvignon fue separado en dichas estructuras en unidades conocidas; raquis (40 trozos), caliptra (30 trozos) y baya (30 trozos), en donde cada estructura (conjunto de trozos) quedó depositado en una solución de 0.5 ml. de agua destilada estéril más nistatina.

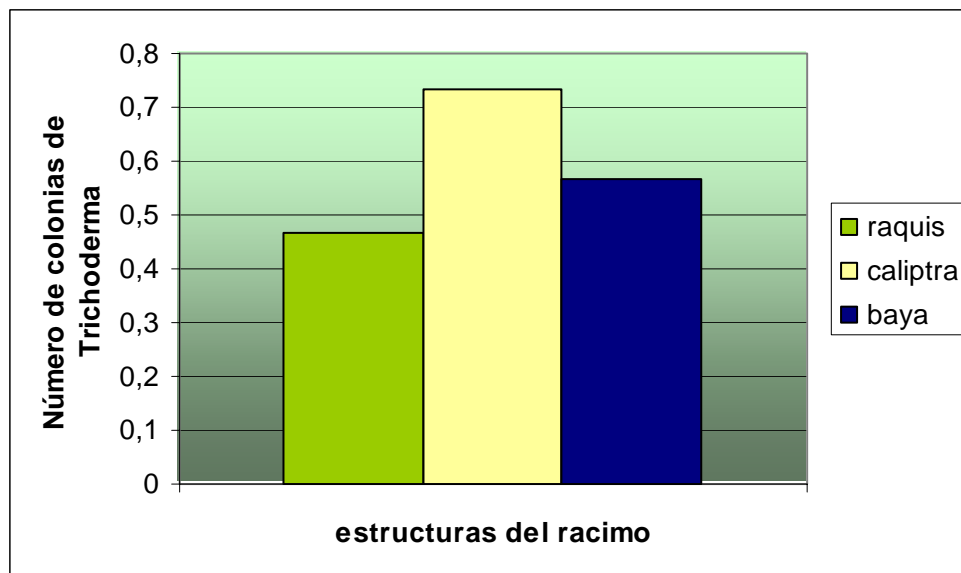


Figura 4.5. Número de colonias de *Trichoderma* desarrolladas a partir de distintas estructuras de racimo del cultivar Cabernet Sauvignon coleccionados desde inicio de floración a cuaja. Cauquenes. Temporada 2004/2005.

La estructura en que se encontró una mayor población de *Trichoderma* correspondió a la caliptra (0.74 colonia/0.5 ml de solución), siendo este valor no significativamente mayor al obtenido para raquis y baya, en los cuales se encontraron 0.48 y 0.58 colonias/0.5ml de solución respectivamente. Estas últimas dos estructuras tampoco difieren estadísticamente en cuanto a nivel poblacional. Es importante señalar el hecho que si bien no hubo diferencias estadísticas significativas, en todas las estructuras existían propágulos del patógeno que luego dieron origen a colonias en PDA.

5. CONCLUSIONES

- Existen poblaciones de *Trichoderma* en forma natural en el viñedo bajo manejo tradicional en la zona de Cauquenes, al igual que poblaciones introducidas y naturales de este hongo en el viñedo orgánico. Sin embargo, el análisis estadístico no indica diferencias de población entre ambos.
- Fue posible determinar poblaciones de *Botrytis* tanto en el viñedo bajo manejo tradicional como orgánico en la zona de Cauquenes. Los niveles poblacionales del patógeno son similar estadísticamente.
- Existe una mayor población de propágulos del hongo *Botrytis* en racimos colectados en el estado de cuaja, en comparación a aquellos colectados en inicio de floración y plena flor.
- La mayor población *Botrytis cinerea* dentro del racimo se localiza en la baya. Por otra parte el hongo se encuentra en menor proporción en el raquis y caliptra.
- La población del hongo *Trichoderma* se encuentra distribuida homogéneamente dentro del racimo en las estructuras raquis, caliptra y baya.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Auger , J. 1981. La pudrición gris de la vid. Revista frutícola. 2(2) : 7-9

- Auger, J.1997. Botrytis. Nuevas estrategias de control cultural, biológico y químico en uva de mesa. Departamento de sanidad vegetal Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad de Chile.125p.

- Austin, C. Roger, C. 1996. Plagas y enfermedades de la vid. Edición Mundi prensa.90p

- Bustamante, L. 1999. Características de variedades de vid vinífera. En: ODEPA. Programa de Desarrollo de Sistemas de Validación y Transferencia de Tecnologías de Riego y Sistemas Productivos en el Área Regada por el Canal Melado. Ediciones Universidad de Talca. Sin numerar.

- Carreño, I. 1983. La pudrición gris de la vid, algunos aspectos epidemiológicos de importancia para su control. Aconex 4: 15-18.

- Cook, R. J. and Baker, K. F. 1989. The nature and practice of biological control of plant pathogens, Segunda Edición. USA. 539p.

- Cruz, M. 2003. La Botrytis o moho gris en vides. Instituto de investigaciones agropecuarias centro regional de investigación Quilamapu. Boletín n° 78 formativo 78 INIA Quilamapu. Chillán. Sin numerar.

- Esterio, M; Auger, J. 1997. Control de *Botrytis cinerea*. Pers. En vid (vitis vinífera. L.)utilizando fungicidas no convencionales: BC - 1000 y Trychodex. Aconex 54: 11-17.

- Hinojosa, G. 2000. El vino orgánico en Chile (IV). Fertilización orgánica de la vid. Chile Agrícola 25. (245): 174- 176.

- Latorre, B. 2004. Enfermedades de las plantas cultivadas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago. Chile p:258 – 260.

- Latorre, G. 1992. Enfermedades de las plantas cultivadas. Edición Universidad de Chile. Santiago.

- Martínez de Toda Fernández. 1991. Biología de la vid. Madrid, Mundi prensa.120p

- Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. 1992. Los parásitos de la vid. Estrategias de protección razonada. Edición Mundi prensa. Madrid. 304p.

- Pino, C. Hinojosa, G. 2000. El vino orgánico en Chile (III). Chile Agrícola.20 (243): 77 – 79.

- Villaseñor, H. 2004. Compatibilidad de Funguicidas de uso común en el control de *Botrytis Cinerea* y *Venturia inaequalis* con tres cepas de *Trichoderma spp.* Tesis de grado. Talca, Universidad de Talca, Facultad de las Ciencias Agrarias. 52p.

- Catastro Vitícola Nacional, 2003. Disponible En: <http://SAG.cl/Framearea.asp?cod=3>. Consultado el 9 de noviembre del 2005.

