

## INFORME ANUAL 2016

### *PROYECTO “BIOCONTROL FOR SUSTAINABLE FARMING SYSTEMS, ECUADOR”*

**Elaborado por:** William Viera, Francisco Báez y Trevor Jackson

**Contraparte INIAP:** Programa de Fruticultura y Departamento de Protección Vegetal

**Equipo multidisciplinario:** En la ejecución del Proyecto participan funcionarios de distintas instituciones como se describe a continuación.

Programa de Fruticultura-INIAP: William Viera, Andrea Sotomayor, Aníbal Martínez, Rosendo Jácome y Pablo Viteri.

Departamento de Protección Vegetal-INIAP: Francisco Báez, Cristina Tello, Pablo Llumiquire, Daniel Navia, Mirian Arias, Carmen Triviño y Alex Delgado.

Universidad de las Américas (UDLA): Wilson Vásquez y Mauricio Racines.

Universidad de las Fuerzas Armadas: Francisco Flores

Instituto Internacional de Cooperación para la Agricultura (IICA): Lorena Medina.

AgReserach: Trevor Jackson, Jayanthi Swaminathan y Sarah Mansfield.

Plant and Food Research: Jim Walker.

United States Department of Agriculture (USDA): Stefan Jaronski

AgriBusiness Group: Geoff Mavromatis.

**Socios Estratégicos para Investigación en Ecuador:** Universidad de las Américas (Melissa Rivadeneira y Mónica Jarrín) y Universidad de las Fuerzas Armadas (Paola Iturralde y Byron Pallo).

**Empresas productoras de bioinsumos:** AGROARGENTINA (Ing. Gustavo Moreno), AGRODIAGNOSTIC (Ing. Karla Garcés), EQUABIOLOGICA (Ing. Gabriel Montero), MICHOTEC (Ing. Alexandra Bermudez), SUELO FIX (Sr. Jorge Livermool), YURA (Ing. Sofía Solórzano), NEOCONTROL (Ing. Andrea Jara), MAGAP – Tungurahua (Ing. Pedro Lara), MAGAP – Azuay (Ing. Edison Encalada), MAGAP – Bolívar (Ing. Fernando Rosillo), MAGAP – Loja (Ing. Patricio López), MAGAP – Santo Domingo de los Tsáchila (Ing. David Narváez), UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR – Laboratorio de Microbiología Diserlab (Lcda. Vismeli Santana).

### **Componente Normativa**

#### **1) Elaboración de la Normativa para el Registro de Bioinsumos en el Ecuador**

Conjuntamente IICA con AGROCALIDAD y la participación de MAGAP e INIAP se ha venido realizando talleres para la elaboración de la normativa para el registro de bioinsumos en el Ecuador. Se ha venido desarrollando talleres de socialización y validación de la “Norma Nacional para el Registro y Control Post-Registro de Agentes de Control Biológico (ACB), Extractos Vegetales (EV), Preparados Minerales (PM), Semioquímicos de Uso Agrícola (SM) y Reguladores de crecimiento orgánico (RCO)” y el manual de procedimientos de la normativa mencionada.

Para iniciar el proceso se mantuvieron en el mes de marzo reuniones de trabajo con los técnicos de AGROCALIDAD del área de Registro de Insumos.

La primera ronda de talleres se realizó del 30 de mayo al 1 de junio del 2016: un primer taller con los Expertos docentes de universidades, el segundo día con AGROCALIDAD y el MSP y MAE, y el tercer día con AGROCALIDAD y las empresas privadas que desearían registrar un bioplaguicidas, el objetivo de estos talleres fue recopilar información necesaria para la formulación de una norma de bioplaguicidas acorde a la realidad nacional.

Los días 19, 20 y 21 de septiembre se realizaron los talleres en las instalaciones de AGROCALIDAD, donde se recogieron las últimas observaciones al manual y a la norma por parte de las empresas, academia y técnicos; AGROCALIDAD con toda esta información ha emitido una aprobación de estos documentos borradores para tomarlos como documentos de su normativa. El día 19 de septiembre, el taller se lo realizó con 10 técnicos de la Coordinación de Registro de Insumos agropecuarios, donde se trabajó en la revisión del Manual técnico, se entregó el manual versión borrador a todos los participantes y se fue leyendo cada parte del documento para recopilar las observaciones sobre el manual. El 20 de septiembre, el taller se lo realizó con 4 técnicos de la Coordinación de Sanidad Vegetal, 5 técnicos de la Coordinación de Laboratorios y 3 técnicos de la Coordinación de Inocuidad de los Alimentos. En este taller se revisó el manual técnico y se tuvieron pequeñas recomendaciones al mismo. Se trabajó con 3 técnicos del Ministerio de Ambiente en el capítulo VII que hace referencia al tema ambiental. El 21 de septiembre se trabajó con especialistas de INIAP, Universidades, técnicos de empresas privadas y técnicos de las diferentes coordinaciones de AGROCALIDAD. Se contó con la presencia de aproximadamente 30 personas, con las cuales se realizaron 3 mesas de trabajo; dentro de cada mesa se encontraban técnicos de las diferentes instituciones logrando grupos heterogéneos que permitieron enriquecer las observaciones al documento.

Con los comentarios y sugerencias que se obtuvieron en los diferentes talleres realizados se ha logrado tener la versión final de la normativa y del manual, las cuales han sido entregadas oficialmente a AGROCALIDAD y aprobadas por la Coordinación General de Registro de Insumos quienes a su vez la han entregado al departamento legal de AGROCALIDAD.

Adicional a los talleres se obtuvieron fondos para poder fortalecer las capacidades de los técnicos y directivos del área de Registro de Insumos y de Laboratorios de AGROCALIDAD, con el apoyo del IICA y del Proyecto se logró llevar al Director y un técnico de las dos áreas mencionadas anteriormente y a la Especialista SAIA del IICA de Ecuador, quienes realizaron una gira técnica visitando cada una de las Direcciones del ICA y de LANIA Colombia que se encargan del proceso de Registro y control de calidad de los bioinsumos, esta gira se la realizó del 15 al 18 de noviembre en la ciudad de Bogotá, con esta gira técnica se pudo apreciar los procesos que realizan los laboratorios, las pruebas de calidad, las pruebas pos registro y los bioensayos que se realizan bajo invernadero y en campo. Además se pudo conversar con los técnicos encargados del registro de bioinsumos y de los procesos que están estipulados en la normativa colombiana.

Como esta es una normativa en la cual participan también el Ministerio de Salud Pública – MSP, así como el Ministerio de Ambiente – MAE, a estas dos instituciones también se ha realizado la entrega de los documentos para que puedan revisar sus departamentos legales.

En resumen, la normativa cuenta con varios aspectos como: objetivo y ámbito de aplicación, términos y definiciones, autoridad nacional competente, entidades nacionales co-responsables y comité técnico nacional de plaguicidas, para el registro y control, registro de actividad como productor, formulador, envasador, importador, comercializador y distribuidor, emergencias fitosanitarias, registro nacional, vigilancia y control oficial, sensibilización y fortalecimiento de capacidades, confidencialidad de la información y de los sistemas oficiales de información, infracciones y sanciones, transitoriedad y vigencia de la resolución, tratando de abarcar todos los ámbitos a normar. Los procesos legales que se han considerado viables para esta normativa son: 1. Firmar un Acuerdo Interministerial entre: MAGAP, MAE y MSP y 2. Firmar un Decreto Presidencial, la primera es la opción más viable hasta el momento. Se espera tener esta norma lista para ejecutar en enero del 2017.

En el tema normativo, para el año 2017, el IICA seguirá trabajando conjuntamente con AGROCALIDAD en el tema de Biofertilizantes, ya que es una nueva competencia que se le ha entregado a AGROCALIDAD desde el 26 de octubre del 2016 y de igual manera no existe una normativa actualizada ni un manual de procedimientos, áreas en las cuales vamos a apoyar como Proyecto a esta institución.

### **Componente Entrenamiento y Capacitación**

#### **1) Proceso de conservación y liofilización de cepas comerciales del MAGAP**

El laboratorio se encuentra apoyando en el proceso de conservación y liofilización de cepas del hongo *Trichoderma* sp. producidas en los laboratorios artesanales del MAGAP; al momento se han realizado la multiplicación de 12 cepas pertenecientes a 4 provincias, como se detalla a continuación:

- Laboratorio Artesanal Provincia Bolívar (Códigos de cepas: Guaranda, San Miguel, Chillanes)
- Laboratorio Artesanal Provincia Santo Domingo (Códigos de cepas: SDT1, SDT2, SDT3)
- Laboratorio Artesanal Provincia de Loja (Códigos de cepas: CL1, CL2, CL3)
- Laboratorio Artesanal Provincia del Azuay (Códigos de cepas: A1, A2, A3)

Los laboratorios del MAGAP Santo Domingo y Loja mantienen sus cepas en tubos Eppendorf con discos de agar sumergidos en glicerol, estos tubos son mantenidos en congelación a -20°C; además mantienen cajas Petri con el hongo en crecimiento (cepas madre). En el laboratorio MAGAP Bolívar se han realizado varias multiplicaciones (cajas hijas) a partir de las cajas madre y después las multiplican en sustratos (matriciales) en algunos casos llegando hasta 5 o 6 multiplicaciones sucesivas. Para el caso del laboratorio MAGAP Azuay únicamente han provisto de una formulación líquida por cada cepa en producción, se desconoce su método de conservación.

En el proceso de multiplicación se ha participado activamente con cada uno de los técnicos laboratoristas responsables en cada provincia. Para el proceso de liofilización se coordinará con cada laboratorio para su participación en esta fase.

#### **2) Taller Internacional de Producción Sustentable de Cultivos Agrícolas**

Se participó en este Taller a través de la difusión de conocimiento generado en estrategias de control biológico, formulación de biopesticidas, manejo integrado de plagas y manejo poscosecha. Este evento se llevó a cabo en la Universidad de Las Américas, el 05 de Mayo del 2016, con la asistencia de 150 personas entre estudiantes, profesionales y productores.

Las exposiciones realizadas se enfocaron en la temática de control biológico (Francisco Báez, Trevor Jackson, Wilson Vásquez y William Viera), bioformulación (Stefan Jaronski y Jayanthi Swaminathan), manejo integrado de plagas (Sara Mansfield) y alternativas no químicas para poscosecha (Rosa Vilaplana).

Las memorias de este Taller han sido publicadas en el International Journal of Biological and Clinical Sciences (ISSN 2455-6858) y se puede tener acceso mediante el siguiente link <http://www.ijcbs.com/conference-abstracts-latest.pdf>

### **3) Taller de Producción de Bioformulados**

Trevor Jackson, Jayanthi Swaminathan, Stefan Jaronski y Francisco Báez desarrollaron el Taller de Producción de Bioformulados que se llevó a cabo en el laboratorio de Control Biológico de Santa Catalina, los días 03 y 04 de mayo con la participación de 15 personas de distintas empresas productoras de bioinsumos, universidades, INIAP y MAGAP.

En este taller se trataron las siguientes temáticas: aislamiento, purificación e identificación de hongos benéficos (*Trichoderma* sp y *Beauveria* sp.); inocuidad en laboratorio, selección de hongos para desarrollo de bioproductos, control de calidad, producción masal y propuestas de formulación. Entre los participantes se tuvo a SUELO FIX (Gabriela Anasí), NEOCONTROL (Andrea Jara y Jairo Farinango), MAGAP – Tungurahua (Pedro Lara), MAGAP – Azuay (Edison Encalada), MAGAP – Bolívar (Fernando Rosillo), MAGAP – Loja (Patricio López), MAGAP – Santo Domingo de los Tsáchila (David Narváez), UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR – Laboratorio de Microbiología Diserlab (Vismeli Santana), INIAP (Ing. Catalina Bravo, Ing Norma Quillay, Ing. Tatiana Vera, Ing. Sofía Peñaherrera, Luis Moncayo y Alex Delgado). Se planificará ejecutar un taller en el primer trimestre del 2017 para dar continuidad a las metodologías transferidas a los productores.

### **4) Visitas técnicas de investigadores de Nueva Zelanda**

Con los investigadores de Nueva Zelanda (Trevor Jackson y Jayanthi Swaminathan), USDA (Stefan Jaronski) e INIAP (William Viera y Francisco Báez) se realizaron visitas técnicas a los laboratorios de producción de controladores biológicos de empresas privadas como SueloFix (Tumbaco), Agroargentina (Salcedo), Equabiológica (Quito), Diserlab (PUCE), MAGAP (Tungurahua), ArtRoses (Florícola) y Neocontrol (Cayambe). Trevor Jackson (AgResearch), Jim Walker (Plant and Food Research), Sara Mansfield (Lincoln University) y William Viera (INIAP) mantuvieron una reunión técnica con los investigadores del Departamento Nacional de Protección Vegetal (Daniel Navia, Mirian Arias, Tatiana Vera y Alex Delgado) para conocer los avances de las actividades del proyecto que se están ejecutando con la colaboración de los técnicos de la Estación Experimental Litoral Sur. Se visitó la bananera BorjaBanana (manejo convencional), Ecobanana y la Finca Pucará (ambas de manejo orgánico), donde se pudo determinar que la principal problemática está relacionada a sigatoka, erwinia y trips.

Se implementó dos ensayos en las localidades de Tisaleo y Huachi para la evaluación de establecimiento poblacional de *Trichoderma* sp. en el suelo en el cultivo de mora.

Se visitó la Granja Experimental Tumbaco de INIAP para observar los ensayos en las diferentes especies frutales (mora, tomate de árbol, chirimoya, uva, higo, durazno, aguacate y cítricos) y conocer los avances de investigación en el área de fitomejoramiento, manejo agronómico y control de plagas. Además, se visitó la Granja

Experimental de Nono de la Universidad de las Américas para conocer los bioensayos que se están llevando a cabo en el cultivo de mora.

En Tungurahua, se visitó la planta INALPEV (al momento en construcción) de procesamiento de frutas, la cual planea procesar 10 toneladas de fruta por semana. Además, se mantuvo una reunión técnica con Planhova que es una procesadora de frutas que comercializa pulpas, mermeladas y concentrados.

Se mantuvo reuniones con técnicos del Departamento de Protección Vegetal (INIAP) y Agrocalidad (áreas de Inocuidad, Fitopatología, Entomología, Pesticidas, Sanidad Vegetal y Relaciones Internacionales) para exponer metodologías de monitoreo de plagas, trazabilidad de la producción de frutas y el procedimiento de registro de bioproductos en Nueva Zelanda.

### **5) Entrenamiento de Técnicos de INIAP en Nueva Zelanda**

La capacitación se llevó a cabo del 23 de octubre al 16 de noviembre. El objetivo fue realizar un entrenamiento en elaboración de bioformulados, control de calidad de bioproductos y sistemas de producción integrada de frutales sin residuos químicos, seguros para los consumidores y con un mínimo impacto en el medio ambiente.

La primera visita se realizó en los laboratorios de AgResearch en Lincoln por el tema de bioformulados para conocer metodologías de formulación de hongos y bacterias, y además los métodos de control de calidad de bioproductos. Se visitó los laboratorios de Plant and Food Research en Lincoln donde se desarrollan investigaciones sobre el comportamiento de las abejas y cómo atraerlas para la polinización, compuestos volátiles y muestreo de trampas de insectos. También se visitó las estaciones experimentales de Plant and Food Research en Havelock North y Te Puke donde se observó los sistemas de producción de manzana, aguacate y kiwi. Se destacó la interacción de los investigadores con la industria en la producción comercial de frutas. En Havelock North se conoció metodologías de implementación de ensayos de campo utilizando nuevos conceptos en el manejo de plagas en huertos de manzanas y viñedos; el sistema de monitoreo de plagas utilizado en la industria de frutas de Nueva Zelanda (trampas de feromonas sexuales para especies de polillas y sistemas de trampa para escarabajos); polinización en el programa de mejoramiento de manzanas; y técnicas de tutorío de árboles frutales para mejorar la arquitectura de la copa con máxima recepción de luz e influyendo en el rendimiento. Adicionalmente, se obtuvo conocimiento de bioensayos de laboratorio para patógenos fúngicos y bacterianos de plantas, específicamente con *Phytophthora* (aguacate) y *agrobacterium* (kiwi). Por otro lado, se conoció el sistema de monitoreo de plagas, uso de pesticidas e información sobre residuos para el cumplimiento de GlobalGAP, mediante el uso de programas de capacitación específicos, bases de datos, uso de estaciones meteorológicas y programas de monitoreo con agricultores.

En Te Puke, se pudo observar el manejo agronómico de los cultivos de aguacate y kiwi. Se visitó la Industria del Aguacate que se dedica a la exportación de fruta de alta calidad de aguacate. Esta empresa es responsable de campañas de marketing, investigación y ventas. Se realizó una visita a Plant and Food Research, donde se observó la investigación sobre la fenología de la flor, efecto de las bajas temperaturas en la fructificación, mejoramiento genético y la búsqueda de materiales resistentes en el cultivo de kiwi. Se visitó plantaciones comerciales de aguacate de la empresa Aongate Avocados Limited,

donde se observó el uso de feromonas para el control de una plaga que afecta las hojas de este frutal, el uso de inyecciones de Fosfonato en el tronco de plantas adultas para el control de Phythophthora, escaleras mecanizadas y tecnologías de poda, polinización, fertilización e irrigación.

Como resultado de este entrenamiento se planificará la visita de consultores internacionales con experiencia en control de calidad de formulados (Trichoderma) y producción integrada de frutales con enfoque en control de plagas (mora y aguacate).

Nota: Mayor detalle de este entrenamiento se encuentra en el informe de capacitación de los investigadores de INIAP Andrea Sotomayor y Francisco Báez.

### **Componente Bioensayos**

#### **1) Efecto de *Trichoderma* spp. en el cultivo de mora de castilla (*Rubus glaucus*) plantado en diferentes condiciones ambientales de la granja Experimental de Nono.**

El objetivo de esta investigación fue evaluar la sobrevivencia del hongo *Trichoderma* spp. y su efecto en el cultivo de mora de castilla plantado en dos condiciones ambientales, para lo cual se determinó la población del hongo antagonista a nivel del suelo y se evaluaron el vigor y rendimiento de las plantas cultivadas en invernadero y campo abierto.

En el Laboratorio de Control Biológico de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP se realizó el análisis de calidad del producto comercial Trichoeb de la empresa Equabiológica y el producto Trikofun de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo para conocer la concentración de *Trichoderma* en cada producto. Además se realizó los análisis de suelo provenientes de los dos ambientes de la Granja de Nono (invernadero y campo abierto), donde están cultivadas las plantas de mora, para conocer la presencia o no de *Trichoderma* en el suelo y su fluctuación durante las distintas aplicaciones de *Trichoderma* realizadas en ambos ambientes. Por otro lado, en la granja experimental de la Universidad de las Américas en la parroquia de Nono, se implementó el ensayo experimental mediante la inoculación de los dos productos mencionados anteriormente en plantas de mora de Castilla, con base en los resultados del Laboratorio de Control Biológico del INIAP.

Al realizar el análisis de suelo previo a inoculación de productos, se determinó que el suelo de la granja experimental de Nono contiene colonias de *Trichoderma*, sin embargo con una población pequeña.

Se realizó el análisis de calidad de dos productos comerciales (Trichoeb y Trikofun), resultando con las siguientes concentraciones a nivel de laboratorio ( $3.71 \times 10^8$  UFC/g y  $1.40 \times 10^9$  UFC/g) respectivamente. Estos análisis permitieron definir las dosis a ser aplicadas en los diferentes tratamientos planteados, así tenemos que para Trichoeb se aplicaron 0.27 g/planta y Trikofun 0.07 g/planta; ambas dosis fueron igualadas para obtener una concentración teórica inicial de 10000 UFC/g de suelo en los primeros 30 cm. De los análisis estadísticos realizados se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- Se obtuvieron diferencias significativas en la población recuperada de muestras de suelo a partir de los 30 días hasta los 120 días después de aplicados los productos, en relación al tratamiento testigo.
- La mayor población del hongo *Trichoderma* spp., resultó de la aplicación del producto Trichoeb (6392 UFC/g de suelo), luego se ubicó el producto Trikofun (410 UFC/g de suelo).

- El mayor rendimiento en plantas de mora bajo condiciones de invernadero resultó con la aplicación del producto Trikofun con un promedio de 428,95 g/planta, en tanto que el tratamiento testigo alcanzó 202,28 g/planta.
- El mayor rendimiento en plantas de mora bajo condiciones de campo resultó con la aplicación del producto Trichoeb con un promedio de 35.70 g/planta, en tanto que el tratamiento testigo alcanzó 8.85 g/planta.
- El análisis estadístico en la variable de vigor mostró que las plantas ubicadas en invernadero mostraron mayor vigor (97.08) que las plantas en campo abierto (72.08). La mejor interacción resultó con el producto Trichoeb aplicado en invernadero (98.75) en tanto que las plantas menos vigorosas fueron del tratamiento testigo en condiciones de campo abierto.

Se ha planificado continuar evaluando este ensayo en el año 2017, enfocándonos en el efecto sobre la calidad de la fruta producto de la inoculación de *Trichoderma* en el suelo del cultivo de mora en campo e invernadero.

Nota: Mayor detalle de este bioensayo se encuentra en el informe anual 2016 del Departamento Nacional de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina.

## **2) Evaluación de la sobrevivencia del hongo *Trichoderma* sp. en plantas establecidas de mora (*Rubus glaucus* Benth) con aplicación de dos productos comerciales**

El objetivo de este estudio es determinar la sobrevivencia y establecimiento del hongo *Trichoderma* spp., presente en dos productos comerciales, se pretende establecer curvas de sobrevivencia del hongo después de su aplicación en campo y evaluar su efecto en el rendimiento en tres localidades de la provincia de Tungurahua (Tisaleo, Píllaro y Huachi). Las dosis a ser aplicadas en campo fueron Trichoeb (0.82 g/planta) y Trikofun (0.13 g/planta) en los primeros 50 cm a nivel del suelo. La población teórica que se desea obtener es de 10000 UFC/ g de suelo en cada aplicación. Actualmente, en las tres localidades se ha observado un incremento en el número de frutos y por lo tanto en el rendimiento en las plantas de mora que fueron inoculadas con Trichoeb.

Hasta el momento se han realizado cinco análisis de suelo más un análisis inicial en el tratamiento con Trichoeb (*T. viridae* y *T. harzianum*), alcanzándose poblaciones entre 2300 y 94200 UFC/g de suelo en la localidad de Píllaro. En la localidad de Huachi, Trichoeb alcanzó valores entre 3430 y 61000 UFC/ g de suelo. Para el caso de la localidad de Tisaleo se obtuvieron valores entre 1630 y 35200 UFC/g de suelo. En todos los muestreos la población de *Trichoderma* en los tratamientos testigos (sin inoculación) obtuvo valores muy bajos (< 10 UFC/g). Para el caso del Trikofun (*T. harzianum*), se realizaron pruebas de sensibilidad de sus cepas comerciales al fungicida Captan que es adicionado al medio de cultivo para la extracción de las colonias de *Trichoderma* del suelo, encontrándose inhibición del crecimiento; por tal razón se ha ejecutado varias pruebas de fungicidas alternos como el PCNB que nos permitan determinar la población existente en estos tratamientos.

Para el año 2017, se realizará los análisis estadísticos de las poblaciones de *Trichoderma* registradas en los muestreos de las tres localidades para determinar el establecimiento del hongo en el suelo de la plantación de mora; y se planea continuar evaluando este ensayo para determinar el efecto en la calidad de fruta.

Nota: Mayor detalle de este bioensayo se encuentra en el informe anual 2016 del Programa Nacional de Fruticultura de la Estación Experimental Santa Catalina.

### **3) Evaluación de la estabilidad y sobrevivencia de esporas de *Trichoderma asperellum* y *Purpureocillium lilacinum* en cuatro tipos de bioformulaciones**

El objetivo de esta investigación es seleccionar un tipo de bioformulación con características de alta sobrevivencia para esporas de *Trichoderma asperellum* y *Purpureocillium lilacinum*. Se realizarán bioformulaciones granuladas, líquidas y en polvo incorporando esporas secas.

Se han realizado ensayos exploratorios para conocer la propiedad de peletización del material bentonita adquirido en Ecuador, resultando un buen material para realizar granulos solubles. Se han desarrollado tres tipos de bioformulaciones: a) líquido con esporas de *P. lilacinum*, b) gránulos solubles con esporas de *T. asperellum* y c) polvo mojable con incorporación de *P. lilacinum*.

Previo a la elaboración de la bioformulación en gránulos solubles, se realizaron pruebas con el mineral bentonita adquirido en Cuenca-Ecuador, cuyos resultados fueron favorables en cuanto a formación de gránulos y consistencia. Se elaboraron lotes de 100g para el caso de prototipos de formulaciones sólidas y 100 ml para el caso de prototipos líquidos. Para cada caso de bioformulación se ha planificado realizar 30 observaciones (cuantificación de UFC/g o ml) con una frecuencia de 15 días desde el día de formulación hasta completar 2 meses de evaluación.

Nota: Mayor detalle de este ensayo se encuentra en el informe anual 2016 del Departamento Nacional de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina.

### **4) Estandarización de una metodología para la inoculación de *Ilyonectria torresensis*, hongo asociado a la marchitez en plantas de mora de castilla (*Rubus glaucus*).**

El objetivo de esta investigación fue estandarizar un método de inoculación (bajo condiciones controladas) del hongo patógeno asociado a la marchitez en plantas de mora de Castilla, enfermedad que afecta a más del 50% de las plantaciones en Tungurahua y Bolívar.

En el laboratorio del Departamento de Protección Vegetal de INIAP se ha realizado el aislamiento del patógeno en medio de cultivo PDA y la identificación morfológica utilizando claves taxonómicas. En el Departamento de Biotecnología se realizó la identificación molecular utilizando primers específicos (Dest1 y Dest4) para *Cylindrocarpon destructans* con un amplicón de 400 pb. Sin embargo, esta especie ha ido variando en su clasificación taxonómica por lo que los aislados fueron evaluados con los primers ef1 y ef2 con un amplicón de 850 pb; los amplicones se enviaron a secuenciar a Macrogen (Corea del Sur); llegándose a la conclusión que el agente causal de la marchitez de la mora es causada por el hongo *Ilyonectria torresensis*.

En la identificación morfológica se pudo observar que las colonias de este hongo poseen tonalidades de café a amarillentas, con una textura poco espesa, tal como se describe en bibliografía. Además, el tamaño y la forma de las microconidias (hialinas, ovaladas, con 1 o sin septos) y macroconidias (hialinas, ovaladas o cilíndricas, con 1 a 3 septos) coinciden por lo descrito en la taxonomía de este patógeno.

El experimento para evaluar los métodos de inoculación (clamidósporas, micelio y conidias) del hongo en raíces con y sin herida, se instaló en invernadero en la Estación Experimental Santa Catalina, utilizando plantas de mora propagadas in vitro. Los métodos utilizados consistieron en la aplicación de clamidósporas multiplicadas en arena, micelio multiplicado en granos de cebada y una suspensión de conidias; cada método fue

aplicado a la raíz (con herida y sin herida) de las plantas. Las variables que se evaluaron en los ensayos son vigor de planta, presencia de síntomas aéreos de marchitez, presencia de necrosis en raíz y cuello de las plantas. Además se realizó el reaislamiento del patógeno, para confirmar que la infección fue efectiva. En las inoculaciones con clamidósporas y conidias (con herida y sin herida de raíz), se pudo observar en mayor frecuencia una ligera marchitez en las hojas basales, así como necrosis en la raíz y cuello de la planta.

Se ha planificado realizar un ensayo para la evaluación d métodos de control (químico, ecológico y biológico) de este patógeno, utilizando el mejor método de inoculación.

Nota: Mayor detalle de este bioensayo se encuentra en el informe anual 2016 del Departamento Nacional de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina.

### **5) Evaluación in vitro de productos convencionales y alternativos para control de *Ilyonectria torresensis*, hongo asociado a la marchitez en mora de castilla (*Rubus glaucus*).**

El objetivo de esta investigación fue evaluar in vitro la eficacia de fungicidas convencionales (de síntesis química) y alternativos (de síntesis orgánica) para el control de *I. torresensis*, hongo asociado a la marchitez de mora de Castilla.

Se evaluaron diez fungicidas convencionales a concentraciones de 1, 10 y 100 ppm y cinco fungicidas alternativos a 1000, 2000 y 3000 ppm. Cada fungicida se mezcló con medio de cultivo PDA, donde se colocó un círculo (5 mm de diámetro) de la colonia del patógeno, para registrar su crecimiento, esporulación y efecto fungiestático.

Al evaluar el crecimiento del micelio y la capacidad de esporulación de los fungicidas convencionales, se identificó a Azoxystrobin y Carbendazim que controlaron el patógeno en todas las dosis evaluadas; otros como Propiconazol, Penconazol, Benomil, Metalaxil, Thiabendazole y Difeconazol tienen efecto sobre el crecimiento del hongo en la dosis alta (100 ppm); mientras que, Himexazol y Fosetyl Aluminio, no tienen control sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno. En lo referente a los fungicidas alternativos, el extracto de mirtáceas (eucalipto) obtuvo los mejores resultados, obteniéndose un bajo porcentaje de crecimiento del hongo patógeno (10%).

Los fungicidas que obtuvieron los mejores resultados en este ensayo, serán incorporados en un nuevo bioensayo para evaluar productos químicos, ecológicos y biológicos para el control de *I. torresensis* en pruebas bajo condiciones controladas en el año 2017.

Nota: Mayor detalle de este ensayo se encuentra en el informe anual 2016 del Departamento Nacional de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina.

### **6) Identificación molecular de nematodos entomopatógenos pertenecientes a la colección del laboratorio de Control Biológico de la Estación Experimental Santa Catalina.**

Esta investigación tiene como objetivo determinar a nivel molecular la especie a la que corresponden los nematodos entomopatógenos, mediante la amplificación de segmentos de ADN ribosomal. Además, se obtendrá secuencias de las muestras amplificadas para comparar con la base de datos BLAST.

Se realizó la renovación de cada nematodo entomopatógeno. Los nematodos obtenidos de esta renovación fueron utilizados para nuevamente infectar larvas de *Galleria mellonella* con el fin de probar su capacidad infectiva (Postulados de Koch). La cria de

larvas de *Galleria mellonella* se realizó en el laboratorio y las larvas que se utilizaron en los ensayos corresponden al último instar de su ciclo de vida. Pasados 5 días de la infección de las larvas con el nematodo entomopatógeno. Los nematodos demostraron tener capacidad infectiva frente a las larvas de *Galleria mellonella* a pesar del tiempo de almacenamiento de los aislamientos.

Se extrajo ADN de diez aislamientos provenientes de diferentes provincias (Carchi, Chimborazo, Tungurahua y Cotopaxi) para realizar la identificación molecular mediante PCR. Se utilizó los primers AB28 y TW81 para amplificar la región del ITS (800 pb); el resultado de la amplificación se envió a secuenciar a Macrogen (Corea del Sur) y se obtuvo como resultado que todos los aislamientos pertenecen a la especie *Steinernema feltiae*.

Se ha planificado continuar en el año 2017 con la caracterización morfológica (microscopía óptica y electrónica) de algunos aislados dependiendo su sitio de colecta.

Nota: Mayor detalle de este ensayo se encuentra en el informe anual 2016 del Departamento Nacional de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina.

### **7) Evaluación de la eficacia de entomopatógenos formulados por INIAP para el control biológico de *Chaetanaphthrips signipennis* en laboratorio.**

El objetivo de esta investigación fue determinar la eficacia de *Beauveria* spp. (27 cepas) en el control de *Chaetanaphthrips signipennis* en condiciones controladas (laboratorio).

Se evaluó la respuesta de *C. signipennis* a 4 aislados de *Beauveria bassiana*, se procedió a la multiplicación masiva del entomopatógeno en sustrato sólido (arrocillo) para obtener el número de esporas (millones por gramo) necesarias según los tratamientos.

Se realizaron las pruebas de eficacia del hongo benéfico para el manejo de trips de la mancha roja del banano, para lo cual se utilizaron 20 individuos adultos por repetición (por caja petri) con un total de 60 insectos (cinco repeticiones) usando *B. bassiana* en dosis baja ( $18 \times 10^7$ ) y alta ( $21 \times 10^7$ ) en número de esporas en partes por millones. Los insectos fueron colocados por cuatro días en una caja petri con papel impregnado con esporas del hongo antagonista según los tratamientos. Además, se repitió el ensayo pero colocando los trips el hongo entomopatógeno (aspersión) en cámaras plásticas conteniendo dedos de banano para facilitar alimento a la plaga. Como resultado se obtuvo que los aislados de *Beauveria* sp. presentaron una baja mortalidad de los trips (promedio de 2.5 individuos). No se ha podido estandarizar una metodología para evaluar las diferentes cepas de *B. bassiana*; sin embargo se ha desarrollado un método (dedos de banano) donde se ha reproducido el síntoma de la mancha roja, por lo que para el año 2017 se implementará un nuevo bioensayo con productos permitidos en el cultivo orgánico de banano como Spinosad y Piriplus, y adicionalmente un hongo entomopatógeno y se evaluará su efecto sobre la severidad del apareamiento de mancha roja. Una vez concluido este bioensayo, el o los productos que resulten efectivos *in vitro*, serán evaluados en aspersiones al racimo de banano en tres etapas (formación de la bellota, selección de fruta de calidad y colocación de protección entre dedos), esto como parte de la técnica de enfundado que es la actualmente utilizada para el control de mancha roja.

Nota: Mayor detalle de este ensayo se encuentra en el informe anual 2016 del Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Litoral Sur.

### **8) Estudio del efecto de biocontroladores de poblaciones de nemátodos en raíces de banano orgánico.**

El objetivo de esta investigación es determinar el efecto de microorganismos benéficos sobre fitonemátodos que afectan al cultivo de banano orgánico.

En un lote de la plantación, se diseñó 33 parcelas con una superficie para 80 - 90 plantas cada una. Donde se evaluó las poblaciones de nemátodos y la calidad de raíces, previo a la aplicación de los tratamientos, se realizó un muestreo de raíces y suelo en hoyos de 13 cm<sup>3</sup>, tomando por cada parcela una muestra compuesta de cinco plantas hijas de 1,50 – 2,0 m de altura.

Para evaluar el efecto de los tratamientos se realizó un muestreo inicial de suelo y raíces, para determinar las poblaciones iniciales de los nemátodos y la carga de microorganismos benéficos en el suelo. Las aplicaciones de los microorganismos (*Trichoderma asperellum*, *Purpureocillium lilacinum* y *Arthrobotrys oligospora*) fueron dirigidas alrededor de los hijuelos un ángulo de 180°. Se realizan aplicaciones cada 15 días en los primeros 4 meses. Se ha realizado un nuevo muestreo para determinar las dinámicas poblacionales en raíces y suelo. Como resultado se ha obtenido una reducción de las poblaciones de nematodos fitopatógenos, así tenemos que con la aplicación individual de cada hongo antagonico se pudo disminuir de una población inicial de *Radopholus* sp. de alrededor 15000 nematodos/100 g de raíces a una población final de 5000 nematodos /100 g de raíces aproximadamente. Mientras que en el caso de *Helicotylenchus* sp., se redujo de una población inicial de aproximadamente 20000 nematodos/100 g de raíces a una población final de alrededor de 12000 a 15000 nematodos /100 g de raíces aproximadamente. Por otro lado el tratamiento que tuvo la interacción de dos microorganismos (*T. asperellum* + *P. lilacinum*) obtuvo poblaciones finales superiores a las mencionadas anteriormente, por lo que se deduce se produjo un efecto antagonico entre los hongos, esto basado en la agresividad de *Trichoderma*.

Se ha planificado continuar evaluado el efecto en el rendimiento de la aplicación de los microorganismos que obtuvieron los mejores resultados, con frecuencias de aplicación mensuales; además de evaluar su establecimiento en la plantación.

Nota: Mayor detalle de este ensayo se encuentra en el informe anual 2016 del Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Litoral Sur.

### **Difusión de tecnologías en el cultivos de mora**

A continuación se muestran los eventos de transferencia de tecnología donde se ha difundido las tecnologías para el cultivo de mora, incluido los beneficios de la aplicación de *Trichoderma* al suelo.

<b>Fecha</b>	<b>Lugar</b>	<b>Provincia</b>	<b>N° Participantes</b>	<b>Instituciones</b>	<b>Género</b>
08 de Febrero	Píllaro	Tungurahua	15	USLA	9 Mujeres, 6 Hombres
13 de Febrero	Píllaro	Tungurahua	26	MAGAP	7 Mujeres, 19 Hombres
17 de Agosto	Tisaleo	Tungurahua	22	GAD Municipio de Tisaleo/ Comunidad La Amistad	10 Mujeres, 12 Hombres
23 de Septiembre	Tisaleo	Tungurahua	26	GAD Municipio de Tisaleo/Comunidad Santa Lucía	12 Mujeres, 14 hombres

29-30 de Septiembre	Patate	Tungurahua	300	GAD Municipio de Patate	50% mujeres, 50% Hombres
13-14 de Octubre	Pangua	Cotopaxí	30	MAGAP/Comunidad Pangua	60% Mujeres, 40 hombres
18 de Octubre	Píllaro	Tungurahua	18	AGROCALIDAD/Comunidad Sarahuasí	6 Mujeres, 12 hombres
19 de Octubre	Ambato	Tungurahua	32	Productores de los cantones Cevallos, Ambato, Mocha, Tisaleo, Baños, Pillaro	6 mujeres, 26 hombres
7 de Diciembre	Tisaleo	Tungurahua	15	AGROCALIDAD/Comunidad Sarahuasí	11 Mujeres 5 hombre
12 y 13 de Diciembre	Ambato	Tungurahua	20	MAGAP Cotopaxí y Chimborazo	8 Mujeres, 8 hombres

### **Planificación de actividades para el año 2017**

A continuación se muestran las actividades planificadas para el año 2017.

<b>Actividad</b>	<b>Responsable</b>	<b>Inicio</b>	<b>Terminación</b>
Evaluación de hongos antagónicos para el control de nematodos en banano*	Daniel Navia Alex Delgado	Febrero	Diciembre
Bioensayo <i>in vitro</i> de productos para el control de mancha roja en banano*	Daniel Navia Alex Delgado	Enero	Marzo
Evaluación en campo (racimo) de productos para el control de la mancha roja en banano**	Daniel Navia Alex Delgado	Abril	Junio
Evaluación de prototipos de bioformulados*	Francisco Báez Diana Illes	Febrero	Diciembre
Evaluación de productos (químicos, ecológicos y biológicos) para el control de <i>I.</i>	Cristina Tello William Viera	Febrero	Diciembre

<i>torresencis</i> en mora**			
Identificación molecular y morfológica de nematodos entomopatógenos*	Pablo Llumiyinga Byron Pallo Katerine Orbe	Enero	Junio
Prospección de nematodos entomopatógenos en cutzo de mora**	Pablo Llumiyinga	Junio	Diciembre
Evaluación del efecto de Trichoderma en la calidad de fruta de mora (ensayo Nono)*	Wilson Vásquez Francisco Báez Andrea Sotomayor William Viera	Febrero	Octubre
Evaluación del efecto de Trichoderma en la calidad de fruta de mora (ensayo Tungurahua)*	Anibal Martínez Francisco Báez Andrea Sotomayor William Viera	Febrero	Octubre
Prospección de Trichoderma en cultivos de mora**	Antonio León Andrea Sotomayor William Viera	Enero	Diciembre
Evaluación de la aplicación foliar de Trichoderma para el control de Botrytis en mora**	Wilson Vásquez William Viera Andrea Sotomayor Francisco Báez	Febrero	Octubre
Uso de microorganismos (Trichoderma y micorrizas) en plántulas de aguacate**	Andrea Sotomayor William Viera	Enero	Abril
Identificación de agentes causales de enfermedades en frutales**	William Viera Francisco Flores	Enero	Diciembre

\* actividad de continuación en base a ensayos del 2016

\*\* actividad nueva

**Ing. William Viera**  
**Responsable del Proyecto INIAP-Ecuador**

