

Fundación para la Innovación Agraria
MINISTERIO DE AGRICULTURA



Resultados y Lecciones en

Detección de Virus y Fitoplasmas en Vid

Proyecto de Innovación entre

**IV Región de Coquimbo
y VII Región del Maule**



Fundación para la Innovación Agraria
MINISTERIO DE AGRICULTURA



Resultados y Lecciones en Detección y Caracterización de Virus y Fitoplasmas en Vid



**Proyecto de Innovación entre
IV Región de Coquimbo
y VII Región del Maule**

Valorización a junio de 2009



SERIE EXPERIENCIAS DE INNOVACIÓN PARA EL EMPRENDIMIENTO AGRARIO

Agradecimientos

En la realización de este trabajo agradecemos sinceramente la colaboración de los productores, técnicos y profesionales vinculados al proyecto “Elaboración de un sistema confiable para la detección y caracterización de virus y fitoplasmas que afectan la vid” y a los participantes en las entrevistas, en especial a:

- Nicola Fiore, ingeniera agrónoma, Ph D.,
investigadora Facultad de Agronomía, Universidad de Chile.
- Verena Müller A., ingeniera agrónoma, UNIVIVEROS.

Resultados y Lecciones en

Detección y Caracterización de Virus y Fitoplasmas en Vid

Proyecto de Innovación entre IV Región de Coquimbo y VII Región del Maule

Serie **Experiencias de Innovación para el Emprendimiento Agrario**

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Registro de Propiedad Intelectual N° 185.666

ISBN N° 978-956-328-025-8

ELABORACIÓN TÉCNICA DEL DOCUMENTO

Rodrigo Cruzat G. y Carlo Montes V. – AQUAVITA Ltda.

REVISIÓN DEL DOCUMENTO Y APORTES TÉCNICOS

Francisca Fresno y Gabriela Casanova – Fundación para la Innovación Agraria (FIA)

EDICIÓN DE TEXTOS

Gisela González Enei

DISEÑO GRÁFICO

Guillermo Feuerhake

IMPRESIÓN

Ograma Ltda.

Se autoriza la reproducción parcial de la información aquí contenida, siempre y cuando se cite esta publicación como fuente.

Contenidos

Sección 1. Resultados y lecciones aprendidas	5
1. Antecedentes.....	5
2. Base conceptual y tecnológica de la herramienta.....	6
2.1. Virus y fitoplasmas fitopatógenos en vid.....	7
2.2. Técnicas de diagnóstico de virus y fitoplasmas.....	9
3. El valor de la herramienta desarrollada.....	10
3.1. El valor para el sector vitícola chileno.....	11
3.2. La conveniencia económica para el productor.....	12
4. Claves de viabilidad.....	14
5. Asuntos por resolver.....	14
6. Situación actual.....	15

Sección 2. El proyecto precursor	17
1. El entorno.....	17
2. El proyecto.....	18
2.1. Aspectos metodológicos.....	18
2.2. Resultados.....	19
3. Desarrollos posteriores.....	20

Sección 3. El valor del proyecto	21
---	----

ANEXOS	
1. Literatura consultada.....	23
2. Documentación disponible y contactos.....	24



SECCIÓN 1

Resultados y lecciones aprendidas

El presente libro tiene el propósito de compartir con los actores del sector los resultados, experiencias y lecciones aprendidas sobre la detección y caracterización de virus y fitoplasmas que afectan la vid, a partir de un proyecto financiado por la Fundación para la Innovación Agraria, FIA.

Se espera que esta información, que se ha sistematizado en la forma de una “innovación aprendida”,¹ aporte a los interesados una nueva herramienta tecnológica que les permita mejorar la productividad de sus cultivos.

► 1. Antecedentes

Los análisis y resultados que se presentan en este documento han sido desarrollados a partir de las experiencias y lecciones aprendidas en la ejecución del proyecto de innovación (proyecto precursor)² “Elaboración de un sistema confiable para la detección y caracterización de virus y fitoplasmas que afectan la vid”. El proyecto fue financiado por FIA y ejecutado por la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, en asociación con la Viña Santa Rita y Univiveros, entre los meses de diciembre de 2001 y diciembre de 2005.

El objetivo principal de esta iniciativa fue desarrollar un sistema confiable basado en técnicas moleculares (serología y amplificación génica) orientado al diagnóstico y caracterización de los principales virus y fitoplasmas que afectan la vid.

La herramienta tecnológica desarrollada se basa en la utilización conjunta de técnicas moleculares de detección de virus (ELISA y RT-PCR) y fitoplasmas (nested-PCR) en vides viníferas y de mesa, las que, con el proyecto precursor, se ajustaron como técnicas de detección de dichos microorganismos, específicamente en vides.

Cabe señalar que la técnica inmunológica ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay) se utiliza como apoyo (para el caso de detección de virus) de la técnica génica PCR (polymerase chain

¹ “**Innovación aprendida**”: análisis de los resultados de proyectos orientados a generar un nuevo servicio o herramienta tecnológica. Este análisis incorpora la información validada del proyecto precursor, las lecciones aprendidas durante su desarrollo, los aspectos que quedan por resolver y una evaluación de los beneficios económicos de su utilización en el sector.

² “**Proyecto precursor**”: proyecto de innovación a escala piloto financiado e impulsado por FIA, cuyos resultados fueron evaluados a través de la metodología de valorización de resultados desarrollada por la Fundación, análisis que permite configurar la innovación aprendida que se da a conocer en el presente documento. Los antecedentes del proyecto precursor se detallan en la sección 2 de este documento.

reaction), que es adecuada para la detección tanto de virus como de fitoplasmas (ver 2.2 en esta Sección).

Durante la ejecución del proyecto precursor se efectuó una prospección del estado sanitario de vides viníferas y de mesa, entre las regiones de Coquimbo y del Maule, lo que permitió evidenciar la distribución de virus y fitoplasmas en esta especie de tanta importancia para la fruticultura nacional que, además, son causa de preocupación para los productores.

Al momento de la ejecución del proyecto la detección de virus y fitoplasmas en vides y otros frutales se enmarcaba netamente en el ámbito de la investigación, con el objetivo de prospeccionar la presencia e importancia de dichos organismos causantes de enfermedades. Ello se fortaleció con el proyecto precursor, ya que se identificó la presencia de nuevas especies y razas y se elaboró una herramienta confiable que se encuentra disponible como servicio para la industria, cuyo objetivo es mejorar la calidad de la fruta y de las plantas a producir.

► 2. Base conceptual y tecnológica de la herramienta

Los virus y fitoplasmas se caracterizan por ser parásitos obligados (necesitan vivir siempre junto a su hospedero) que afectan a diversas plantas cultivadas, como la vid. Comúnmente las enfermedades virales se denominan sobre la base de la descripción de los síntomas observados en las plantas enfermas, por ejemplo: enrollamiento de la hoja (leafroll), corteza corchosa y fanleaf (hoja en abanico).

Diversos estudios han mostrado que las vides pueden presentar infecciones mixtas y muchas veces los mismos síntomas pueden ser causados por más de un virus. Además, los síntomas pueden estar influidos por condiciones estacionales y climáticas (Monis, 2006b).

Estos patógenos raramente causan la muerte de la planta, pero sí afectan enormemente los rendimientos y calidad de las uvas y acortan la vida útil de las plantas haciéndolas más susceptibles a otros agentes como hongos e insectos.

Algunos virus no producen síntomas en la vid, otros no manifiestan síntomas notorios cuando el grado de infección es leve (por lo que a veces pasan inadvertidos o se confunden con los efectos de otros factores), mientras que otros causan clorosis o necrosis, mosaico, detención del crecimiento y enanismo, y encarrujado de hojas, entre otros.

Foto 1. Los síntomas del leafroll incluyen el enrollamiento de la hoja hacia abajo y el enrojecimiento o amarilleo de las áreas internervales de las hojas, dependiendo del color de la fruta o de la variedad de uva (Monis, 2006a).



Por otro lado, los fitoplasmas producen cambios de color, principalmente en hojas (amarillez o enrojecimiento), enanismo, falta de vigor e incluso la muerte de la planta en casos extremos. Muchos de los síntomas causados por estos patógenos pueden confundirse con desequilibrios nutricionales, daños mecánicos y con enfermedades de origen fisiológico.

Los virus que afectan a la vid se transmiten a través de vectores como nemátodos e insectos. Sin embargo, la causa principal de su diseminación a grandes distancias es el uso de material de propagación infectado; por ello, la prevención de la infección es la única medida efectiva para evitar su presencia, lo que se logra mediante la obtención y multiplicación de plantas libres de virus (al menos de los principales), y del control efectivo de los vectores responsables de su propagación.

De lo anterior se desprende que no existe un control curativo de virus y fitoplasmas, sino acciones preventivas para evitar la contaminación y diseminación de los patógenos. .

2.1 Virus y fitoplasmas fitopatógenos en vid

Los hallazgos e identificaciones de virus y fitoplasmas son relativamente recientes y son un producto del avance científico y tecnológico alcanzado en los últimos años, el que ha permitido implementar procedimientos e instrumentos de gran alcance y precisión.

Las principales virosis que afectan a la vid son:

- grapevine fanleaf virus (GFLV)
- tomato ringspot virus (ToRSV)
- grapevine fleck virus (GFKV)
- grapevine leafroll-associated viruses (GLRaVs)
- rugose wood complex
- arabis mosaic virus (ArMV)
- strawberry latent ringspot virus (SLRSV)

Los virus fanleaf (hoja en abanico o degeneración infecciosa) son nepovirus, cuyas razas inducen malformaciones de las hojas y sarmientos, o decoloración amarillo brillante del follaje. En ambos casos se observa una reducción del vigor y de la calidad y cantidad de producción. La “enfermedad de hoja en abanico” (GFLV) es una de las más graves, y causa un rápido decaimiento en los cultivares más sensibles, baja calidad de la fruta y disminución del rendimiento.

En infecciones severas la producción puede reducirse hasta un 80%. Uno de sus principales síntomas es la deformación de las hojas, las que toman la apariencia de abanico abierto, lo que le da nombre a la enfermedad. Otros síntomas comunes incluyen el amarillamiento de las hojas (mosaico), bandas amarillo claro cercanas a las nervaduras (vein banding), ramificaciones anormales y entrenudos cortos. Las vides afectadas por esta enfermedad tienen un cuajado pobre y una maduración de la fruta heterogénea. El GFLV es transmitido por el estilete del nemátodo *Xiphinema index*, muy común de encontrar en las áreas de cultivo de la vid en Chile.

El virus ToRSV también corresponde a un nepovirus, cuyos síntomas varían según las condiciones ambientales. En climas fríos sus síntomas son más acentuados y se observa una disminución del vigor, detención del crecimiento, deformación de hojas y sarmientos y baja productividad; estos síntomas, a su vez, hacen a las plantas más sensibles al frío. En climas templados se afecta el rendimiento pero no el vigor, y las hojas pueden mostrar bandas amarillas a lo largo de las venas. Este virus es responsable de la virosis llamada “enfermedad del amarillamiento de las nervaduras” (yellow vein disease), también conocida como la “enfermedad del decaimiento moteado del tomate”

(tomato ring spot decline) y del “moteado del tomate” (tomato ring spot). El ToRSV es transmitido por numerosos nemátodos y *Xiphinema americanum* es su principal vector.

El virus fleck o marbruna es latente en vides europeas y en muchos portainjertos americanos. En *Vitis rupestris* los síntomas consisten en el clareamiento de las venas de tercer y cuarto orden, con machas traslúcidas localizadas (manchas cloróticas). En algunos casos se puede observar detención de crecimiento y deformación de las hojas. Cuando el moteado en las hojas es numeroso, éstas se presentan contorsionadas y deformadas. El virus del moteado de la vid (grapevine fleck virus- GFKV) ha sido asociado con esta enfermedad.

Se define como leafroll (hoja enrollada) a la enfermedad producida por siete virus serológicamente diferentes, la cual se manifiesta en hojas más angostas que lo normal, con márgenes enrollados y decolorados, con cambio de color a rojo púrpura o amarillo en variedades rojas (tintas) y blancas, respectivamente. Estos virus pertenecen a dos grupos estrechamente relacionados: Closterovirus (del griego “clostero”, parecido a un hilo) y Ampelovirus (del griego “ampelos”, vid). Uno de éstos, el GLRaV-2, se ha asociado con los síntomas de incompatibilidad de portainjerto y variedad, los que generalmente no se manifiestan, a menos que sea injertado material infectado sobre determinadas variedades de portainjerto.



Foto 2. Las plantas infectadas con la enfermedad de enrollamiento de la hoja son ligeramente más chicas que las sanas. A veces la nervadura principal de la hoja permanece verde. Los racimos de uva son más chicos de lo normal y tienen un menor contenido de azúcar (Monis, 2006a).

La enfermedad “complejo de la madera rugosa” (rugose wood complex) se asocia a cuatro virus:

- rupestris stem pitting
- corky bark (GVB)
- kober stem grooving (GVA)
- LN33 stem grooving

Los diferentes síntomas del complejo de la madera rugosa son difíciles de distinguir en el campo. Comúnmente se observa reducción en el vigor de las plantas, brotación tardía, disminución de la producción y, en algunos casos, planta infectada declina y muere en pocos años. Puede ocurrir un engrosamiento y rugosidad de la corteza, presentarse una textura esponjosa y la madera del injerto, portainjerto o ambos, resulta deformada. El estrés ambiental y/o la combinación del síndrome de la madera rugosa con otras enfermedades pueden intensificar los síntomas de la enfermedad.

Los síntomas asociados con el virus mosaico de arabis (arabis mosaic virus, ArMV), son similares al decaimiento que provoca “fanleaf” e incluye clorosis foliar, necrosis y deformación, entrenudos más cortos, crecimiento reducido y, especialmente, decaimiento. El virus infecta a muchos hués-

pedes y tiene una distribución mundial. Numerosos nemátodos son responsables de su transmisión, pero su principal vector natural es *Xiphinema diversicaudatum*.

Otros nepovirus relacionados con el GFLV (grapevine fanleaf virus) y transmitidos por nemátodos pueden encontrarse en las vides, entre otros:

- moteado de la frambuesa (raspberry ringspot, RpRSV)
- anillo negro del tomate (tomato black ring, TBRV)
- mosaico cromado de la vid (grapevine chrome mosaic)
- moteado latente de la frutilla (strawberry latent ringspot, SLRSV)
- virus búlgaro latente (bulgarian latent virus)

Los fitoplasmas causan en la vid síntomas que incluyen el amarillamiento de las hojas, además de disminución del vigor y del rendimiento. Estos síntomas se denominan en conjunto “amarillez de la vid”, no difieren significativamente de los descritos para virus y son producto de la acción de diversos fitoplasmas, entre otros:

- flavescencia dorada
- bois noir
- vergilbungskrankheit

2.2 Técnicas de diagnóstico de virus y fitoplasmas

Las metodologías más utilizadas en el diagnóstico de enfermedades virales “copian” una pequeña porción de su ácido nucleico, por lo tanto son específicas para el virus objetivo. Las técnicas de diagnóstico más utilizadas en virología vegetal se clasifican en inmunológicas, génicas y biológicas.

Entre las inmunológicas la principal es ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay) y entre las génicas la RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction). De la unión de estas dos se obtiene una tercera técnica de diagnóstico muy utilizada en el último tiempo: la IC-RT-PCR (immuno capture reverse transcription polymerase chain reaction).

Estos métodos tienen la ventaja de ser seguros, sensibles y aceptados en numerosos protocolos oficiales mundiales. Con las técnicas biológicas se utilizan indicadores herbáceos o leñosos diferenciados para cada especie. En el primer caso se infectan las plantas mediante transmisión mecánica; para aquellos virus que no se transmiten mecánicamente se hacen injertos en plantas leñosas indicadoras. En ambos casos existe la desventaja de necesitar más tiempo para el diagnóstico en relación a la utilización de otras técnicas.

La prueba ELISA involucra la unión de la cubierta externa del virus con un anticuerpo específico; los anticuerpos (tipo de proteína elaborada por el sistema inmunológico de un animal en respuesta a una invasión extraña) presentan sitios específicos de unión que “reconocen” una forma molecular. Debido a la capacidad de la molécula del anticuerpo para reconocer con precisión y unirse a determinadas formas en otras moléculas, la actividad de acoplamiento del anticuerpo es usada para identificar específicamente virus y otros patógenos vegetales (Monis, 2006a).

Con el método ELISA, los extractos del tejido vegetal se colocan en un plato de prueba que ha sido recubierto con anticuerpos específicos. Si el virus está presente en la muestra se unirá a los anticuerpos específicos del plato, los que serán detectados por una reacción enzima-sustrato que produce un color de reacción. Una de las ventajas de ELISA es que se pueden procesar muchas muestras simultáneamente; además es de relativamente bajo costo y es un método rápido (los resultados pueden obtenerse aproximadamente en tres días). Sin embargo, sólo debe usarse como un méto-

do filtro porque podría no detectar infecciones si el virus se encuentra en bajas concentraciones. Lo anterior es común en el caso de los virus causantes de las enfermedades de leafroll (enrollamiento de la hoja), incompatibilidad de injerto y madera rugosa. Para asegurar la ausencia de infección, un resultado negativo con ELISA debería ser siempre confirmado usando PCR (Monis, 2006a).

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite la amplificación (es decir, producir múltiples copias) del RNA viral que podría estar presente en la vid en bajas concentraciones. Todos los virus conocidos que infectan a la vid están conformados por RNA, que previamente a la PCR debe ser convertido en DNA. Esta técnica se denomina RT-PCR (PCR transcriptasa inversa) y requiere una porción de RNA viral e iniciadores para lograr el inicio del proceso de copiado.

Los iniciadores o “primers” son segmentos cortos de DNA que activan el proceso de copiado genético. La ayuda de la polimerasa (molécula que facilita el proceso de copiado del DNA) produce duplicados del RNA viral inicial. La duplicación se repite varias veces con cada copia haciendo más copias, así, luego de 40 ciclos, se ha producido más de 1 millón de millones de copias, y el virus puede ser detectado.

En los últimos años se ha avanzado en la comprensión de la composición del genoma de los virus de la vid, por lo que la PCR se ha transformado en un método usado de preferencia para la detección sensible y específica. Sin embargo, la PCR es laboriosa y cara, y debería ser usada para la detección de virus encontrados en baja concentración y para la confirmación de ausencia de infección (Monis, 2006a). Por el contrario, ELISA se utiliza fundamentalmente para la detección e identificación de virus en laboratorio y se considera como la prueba de rutina y el primer acercamiento al conocimiento del estado sanitario de las plantas.

Para el diagnóstico de fitoplasmas la técnica más utilizada es la PCR. Para aumentar su sensibilidad se utiliza un método definido como “nested”, que consiste en una primera amplificación por medio de PCR con partidores universales, cuyo producto se somete a un segundo ciclo de PCR. En esta segunda etapa se utiliza otra pareja de partidores universales o específicos capaces de amplificar una zona interna del producto de la primera amplificación, lo que permite mejorar la sensibilidad de la técnica.

► 3. El valor de la herramienta desarrollada

La industria viverística en Chile ha alcanzado niveles altos de desarrollo. Muchos realizan esfuerzos notables por contar y mantener material sano y la gran mayoría trabaja con materiales Elite, internados desde centros acreditados de diferentes partes del mundo. También una proporción importante realiza prospecciones periódicas de los principales virus, mediante PCR, a sus plantales madres, desde donde obtienen el material de propagación.

Estos esfuerzos son necesarios y meritorios, ya que en Chile la certificación de plantas de vides no es obligatoria, aunque el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) cuenta con la normativa que permitiría a los viveros interesados certificar sus plantas, sin embargo, a la fecha no existen viveros que estén comercializando plantas bajo esta condición. Aún cuando la certificación fuese una realidad, los mecanismos de prevención son fundamentales de aplicar, a fin de evitar la potencial infección de las plantas.

La sintomatología se manifiesta de diferentes formas en las parras, lo cual dificulta una evaluación precisa de las posibles pérdidas, las que pueden estar asociadas a factores como: disminución del rendimiento, menor crecimiento de las plantas, cambios e irregularidades de coloración de la

fruta, disminución del calibre, retardos en la madurez, baja concentración de azúcares, aumento de susceptibilidad a otras formas de daño, efectos sinérgicos con otros patógenos, muerte de plantas e incompatibilidad del patrón-injerto. Estos efectos pueden pasar inadvertidos en plantas asintomáticas, aún cuando la disminución de la producción podría llegar a un 5% por año.

En este contexto, la adaptación y utilización conjunta de las técnicas de ELISA y PCR en el proyecto precursor permitió crear un sistema de diagnóstico de enfermedades causadas por los principales virus y fitoplasmas que afectan a las plantaciones chilenas de vid. Aunque estas técnicas son mundialmente conocidas y aceptadas para el estudio de dichos patógenos y considerando que en Chile ya se habían realizado estudios conducentes a evaluar la presencia de virus y fitoplasmas en vides y otros frutales (Herrera y Madariaga, 2000; 2002; 2003), la utilización conjunta de las dos técnicas otorga sin dudas, una mayor precisión en los resultados, los que han permitido crear las bases para que el sector vitícola cuente, en el corto plazo, con un sistema de diagnóstico confiable y con una interesante proyección a futuro, especialmente con relación al desarrollo de la industria frutícola del país, tanto respecto de la mejora del estado sanitario de las plantaciones, como de la comercialización de plantas libres de virus y fitoplasmas.

Además, la aplicación de estas técnicas permitió constatar el estado sanitario de las vides en Chile, y la presencia de virus y fitoplasmas fitopatógenos, algunos de los cuales fueron detectados por primera vez en el país y cuya presencia era desconocida.

En síntesis, la tecnología desarrollada corresponde básicamente a una herramienta de diagnóstico de la presencia de virus y fitoplasmas que afectan a la vid y, consecuentemente, a su producción.

3.1 El valor para el sector vitícola chileno

La significativa superficie nacional actualmente plantada con vides viníferas y de mesa, y su gran dinamismo, generan la necesidad de contar con material vegetal de alta calidad. Durante las últimas décadas, gran parte de la superficie de vides ha sido reemplazada mediante replantes, por nuevas variedades utilizando los mismos suelos e infraestructura, prácticas que han provocado el aumento de las poblaciones de nemátodos, insectos, hongos y bacterias. Esto también genera condiciones limitantes como el crecimiento débil de las nuevas plantas, producción inicial más tardía y menor productividad.

Como una manera de conservar los aspectos fitosanitarios y de calidad en la vid, al momento de renovar plantaciones se tiende a utilizar plantas injertadas para evitar el problema del replante que requiere de tratamientos químicos del suelo de alto costo, como la aplicación de bromuro de metilo, cuyo uso además se encuentra cuestionado. Sin embargo, junto con las plantas injertadas han aparecido características fenotípicas diferentes a las conocidas, por ejemplo, incompatibilidad mecánica entre el portainjerto y la variedad, lo cual se ha relacionado con la presencia de virus. No obstante, aquellos no necesariamente deben ser consecuencia de problemas sanitarios, y podrían deberse a la natural reacción de la injertación entre dos plantas diferentes; en este contexto, se requiere profundizar el conocimiento del uso de los protainjertos, a fin de llegar a identificar en forma precisa el origen de dichas manifestaciones fenotípicas.

Es fundamental utilizar plantas libres de enfermedades, especialmente de aquellas producidas por virus y organismos afines a los virus, como los fitoplasmas, cuyo control radica exclusivamente en la prevención; para ello, son necesarias las técnicas de diagnóstico y caracterización de estos organismos, con el fin de conocer su condición patológica y utilizar estas herramientas como base para la toma de decisiones, a fin de evitar la propagación de enfermedades en el país. Esto no es lo único, el primer esfuerzo se basa en disponer de material limpio y en preferir aquellos viveros que trabajen bajo protocolos confiables que disminuyan la posibilidad de producir plantas infectadas.

3.2 La conveniencia económica para el productor

El uso de plantas de vides sanas, libres de virus y fitoplasmas de importancia se traduce en una disminución de las pérdidas asociadas con su presencia. Se ha observado que los síntomas de enfermedades producidas por dichos agentes producen una reducción en la producción cercana al 23% y una disminución en el contenido de azúcar de un 5%. La experiencia indica que las pérdidas económicas aumentan si se considera que una parte importante del producto resulta no comercializable por efecto de la coloración incompleta de las bayas maduras y por la elevada mortalidad de las plantas; además, los injertos efectuados con material vegetal infectado en forma latente pueden desarrollar fenómenos de incompatibilidad con la consiguiente muerte de la planta.

Algunos de los virus mencionados anteriormente se han detectado en Chile, con los consiguientes daños para la viticultura nacional. Afortunadamente, los niveles detectados de algunos de éstos son relativamente bajos y merecen atención por las repercusiones económicas que puedan producir en el mediano y largo plazo, sobre todo en aquellos de mayor agresividad y velocidad de propagación.

Como los virus y fitoplasmas deben enfrentarse de manera preventiva, en vez de activa, hay que comenzar su control utilizando plantas sanas. Por lo tanto, la valorización de esta herramienta tecnológica es difícil hacerla sólo desde el punto de vista de su costo, sino que debe entenderse el valor de preferir plantas sanas provenientes de viveros profesionales.

Actualmente los viveros disponen, mediante el uso de esta herramienta, de un sistema confiable que les permite mejorar su capacidad de detección de patógenos en sus plantales madres. El servicio de detección de virus lo presta el laboratorio de la Facultad de Agronomía, Universidad de Chile, y tiene un costo cercano a 2,5 UF/muestra, que corresponde a material lignificado dormante (otoño) de una planta y de la cual se pueden analizar los siguientes virus de importancia:

- grapevine fanleaf virus (GFLV)
- tomato ringspot virus (ToRSV)
- grapevine fleck virus (GFkV)
- grapevine leafroll-associated viruses (GLRaVs)
- rugose wood complex
- arabis mosaic virus (ArMV)
- strawberry latent ringspot virus (SLRSV)

Uno de los problemas que se presenta es determinar el tamaño de la muestra necesario para obtener un diagnóstico confiable, ya que no existe una metodología clara, pues la distribución de los virus es errática. Por lo tanto, el número de muestras debe definirse en conjunto con los

Foto 3. Variabilidad en las formas de la hoja infectada con grapevine fanleaf virus (GFLV), una de las enfermedades virales más serias y devastadoras del viñedo (Monis, 2006b).



especialistas sobre la base de una serie de evaluaciones en el campo, considerando además, que el análisis de cada una de las plantas es económicamente inviable, lo que incide a la hora de definir el material como libre de virus.

Si un productor detecta la presencia de síntomas atribuibles a estos patógenos, debe consultar a un especialista y, según el grado de infección, decidir si replanta en caso de ser una población baja, o si convive con los virus si éstos no se manifiestan en condición patogénica (que causen daños de importancia).

A modo de ejemplo, y para considerar las consecuencias que puede producir el desconocer la importancia de utilizar plantas libres de virus, a continuación se ilustra este efecto en el margen neto de una explotación de uva de mesa, considerando una merma en la producción atribuible a presencia de virus.

En este ejemplo se consideró una producción de la variedad red globe en la V Región de Valparaíso, para la temporada 2007-2008, cuya producción esperada corresponde a 3.200 cajas/ha de 8,2 kg (Cuadro 1).

El retorno a productor por caja fue de US\$ 7. Con este valor un huerto sano produciendo en plena capacidad obtiene un margen neto cercano a los US\$ 900/ha, lo cual difícilmente paga la inversión del huerto. Incluso, si la producción disminuye en un 10% o más, la rentabilidad es negativa.

CUADRO 1. Efecto de la disminución de la producción en margen neto de la explotación de uva red globe, basado en datos de V Región de Valparaíso, temporada 2007-2008

			Producción (cajas 8,2 kg/ha)			
			3.200	3.000	2.800	2.600
			-	-6%	-13%	-19%
EGRESOS	US\$ /caja	US\$/ha	US\$/ha	US\$/ha	US\$/ha	US\$/ha
Mano de obra s/cosecha		3.264	3.264	3.264	3.264	3.264
Maquinarias		672	672	672	672	672
Energía eléctrica		800	800	800	800	800
Fertilizantes		1.024	1.024	1.024	1.024	1.024
Pesticidas		2.176	2.176	2.176	2.176	2.176
Administración		1.344	1.344	1.344	1.344	1.344
Cosecha	0,9		2.880	2.700	2.520	2.340
Costo/ha antes de packing			12.160	11.980	11.800	11.620
Mano de obra embalaje	0,6		1.920	1.800	1.680	1.560
Materiales	1,29		4.128	3.870	3.612	3.354
Transporte		288	288	288	288	288
Frío		928	928	928	928	928
Otros costos		2.080	2.080	2.080	2.080	2.080
Costo packing			9.344	8.966	8.588	8.210
Costos US\$/ha			21.504	20.946	20.388	19.830
INGRESOS NETO PRODUCTOR						
US\$/caja	7,00		22.400	21.000	19.600	18.200
Margen neto			896	54	- 788	- 1.630

Fuente: Basado en información de Madariaga (2008).

Este ejemplo no es imaginario; corresponde a la realidad de muchos productores y, de alguna manera, a la tendencia de una industria que ajusta sus márgenes, por lo tanto, resulta crítica la importancia de prestar atención a estos aspectos. Con otros precios podrían soportarse mermas de 10 y hasta 20%, sin embargo, en las actuales y futuras condiciones no hay lugar para estas pérdidas. Más aún si se considera que el ejemplo se plantea para el ejercicio de una temporada, pero el efecto se debe considerar para la vida de la explotación.

► 4. Claves de viabilidad

La herramienta tecnológica se encuentra en un nivel de desarrollo que permite su aplicación inmediata en la industria vitivinícola. Como resultado del proyecto, se creó un grupo de trabajo especializado en el control, manejo y detección de virus y fitoplasmas que afectan a la vid; sin embargo, el éxito en la aplicación de esta herramienta requiere de una serie de aspectos relacionados no sólo con la propia herramienta, sino también con los agricultores interesados en su utilización.

Luego de la finalización del proyecto precursor, y como resultado de las diversas actividades de difusión realizadas por el equipo ejecutor, se generó una lenta pero constante toma de conciencia, por parte del sector vitivinícola, de los problemas causados por virus y fitoplasmas. No obstante, existe un nivel considerable de desinformación, dado el poco tiempo que lleva la herramienta en el mercado, lo que genera la necesidad de continuar con la difusión acerca de la importancia de dichas enfermedades. Por otro lado, el éxito de la iniciativa ha motivado a personas que no tienen la preparación ni la práctica adecuada en el manejo de estas enfermedades a intervenir en el mercado ofreciendo diagnóstico y asesoría a los productores, situación que ha generando desconfianza en el sector.

El control de las virosis se realiza a través de la prevención de la infección y mediante selección sanitaria, saneamiento, certificación, estudios epidemiológicos, búsqueda de fuentes de resistencia naturales o por el uso de plantas transgénicas. Dada la complejidad involucrada, actualmente se está trabajando en el cumplimiento de todos los objetivos relativos a la optimización de la herramienta y aún se requiere una mayor demostración, mediante ensayos en terreno, de los beneficios de la utilización de plantas sanas.

El momento económico actual, que ha llevado al mínimo la superficie con nuevas plantaciones y replantes, es óptimo para obtener plantas limpias que podrían ser utilizadas cuando la actividad económica se reactive. Para esto existe el compromiso, por parte del equipo ejecutor del proyecto, de continuar sensibilizando a los productores sobre los beneficios del uso de plantas sanas, con la finalidad de mejorar los estándares productivos de las uvas de vino y de mesa.

► 5. Asuntos por resolver

Los productores necesitan disminuir los costos de producción a fin de alcanzar una mayor competitividad en el mercado mundial; sin embargo, evidentemente la adopción de esta herramienta tecnológica, orientada a implementar el proceso de obtención de plantas sanas, incrementa los costos y, por lo tanto, es importante disminuir la reducción del precio de los análisis, cuidando no afectar la sensibilidad y especificidad del método de detección utilizado. Al respecto, existe la necesidad de realizar ensayos comparativos entre diferentes protocolos de análisis.



Relacionado con lo anterior, y por las mismas razones, es urgente realizar estudios de epidemiología para establecer un control más eficiente de las enfermedades causadas por virus y fitoplasmas, con el fin de aumentar la vida útil de los viñedos, ya que, por ejemplo, es escasa la información relativa a la interacción entre virus de la vid y chanchitos blancos o conchuelas, responsables de la transmisión de algunos de éstos, como leafroll.

Al mismo tiempo, se requiere avanzar en la estandarización de los tamaños de muestras de los planteles, de manera de ajustar mejor la efectividad de las prospecciones.

► 6. Situación actual

Los protocolos establecidos por el grupo de trabajo, durante el período de desarrollo del proyecto precursor, actualmente se aplican en forma rutinaria para el diagnóstico y la prevención de las enfermedades, en conjunto con productores y viveristas. Parcialmente se han podido reducir los costos de los análisis, aunque aún es necesario realizar un esfuerzo mayor en este sentido.

Existe una alta disponibilidad del servicio de análisis, ya que también existen otros laboratorios que han ingresado al mercado, aunque todos deberán ofrecer, junto con los análisis, apoyo técnico al productor y asesoría en la toma de decisiones.

Normalmente los nuevos productos generados son optimizaciones de protocolos ya publicados, por lo que no se protegen intelectualmente; ello permitió en parte bajar los costos de análisis y mejorar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico.

SECCIÓN 2

El proyecto precursor

Los resultados en este documento surgen de la ejecución del proyecto “Elaboración de un sistema confiable para la detección y caracterización de virus y fitoplasmas que afectan la vid”, ejecutado por la Universidad de Chile en asociación con Viña Santa Rita y Univiveros, entre diciembre de 2001 y diciembre de 2005.

► 1. El entorno

El desarrollo y uso de herramientas biotecnológicas para el diagnóstico de virus y fitoplasmas fitopatógenos coincidió con un escenario productivo de notable posicionamiento internacional del sector productor de uvas de mesa y viníferas, con productos de calidad creciente y apertura de mercados nuevos y especializados. Junto con lo anterior, el mercado de viveros igualmente ha experimentado un crecimiento y aumento en la calidad de sus productos. Sin embargo, esta expansión facilitó, producto de la ausencia de sistemas de diagnóstico, la expansión de enfermedades causadas por virus y virus-afines, sin el mayor conocimiento por parte de los actores involucrados, a pesar de la superficie existente e historia productiva del país.

Esta nueva herramienta tecnológica queda a disposición de la viticultura nacional en un momento en el que existe un alto nivel productivo y de calidad, además de un mayor grado tecnológico y de mayores capacidades de la biotecnología frutal del país.

En el entorno científico, con anterioridad al proyecto se habían realizado los primeros acercamientos al diagnóstico de algunos virus en vides viníferas en las regiones de Valparaíso y del Maule. Para ello se importaron kits de ELISA desde Italia, aunque no se realizaron estudios de sensibilidad ni comparativos con otros métodos complementarios fundamentales, como PCR.



► 2. El proyecto

El proyecto se desarrolló en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile. En una primera etapa se realizó una prospección sanitaria en vides de mesa y viníferas en las regiones de Coquimbo, Valparaíso, Metropolitana, O'Higgins y Maule y se evidenció una importante presencia de virus y fitoplasmas, debido a la asociación de los síntomas observados en terreno con los resultados de laboratorio.

Algunos de los virus y fitoplasmas identificados no habían sido reportados anteriormente, al igual que nemátodos fitoparásitos responsables de su propagación. Estos resultados han sido difundidos en publicaciones, charlas y días de campo, con la participación de actores del mundo privado y público.

2.1 Aspectos metodológicos

El proyecto precursor fue ejecutado en una secuencia que incluyó los siguientes pasos:

Recolección de material vegetal y suelo

Entre las regiones de Coquimbo y del Maule se colectaron muestras de plantas con síntomas evidentes de virosis y fitoplasmas, así como también plantas asintomáticas, con el objetivo de detectar infecciones latentes (presencia de virus y fitoplasmas sin manifestación sintomatológica) que puedan afectar la calidad de las plantas.

También se colectaron muestras de suelo en los predios visitados para establecer la presencia de los nemátodos fitófagos *Xiphinema index* y *X. americanum*, descritos como vectores de virus que afectan a la vid.

Desarrollo de un sistema de detección de virus y fitoplasmas

Se desarrollaron tres protocolos ELISA:

- para la detección en vides de los virus: GFLV, ToRSV, ArMV, GVA, GVB, SLRSV, GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3 y GfKV;
- para la detección en nemátodos de los virus: GFLV y ToRSV;
- para la detección en vides de virus y fitoplasmas: GFLV, ToRSV, ArMV, GVA, SLRSV, GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GfKV, rupestris stem pitting y amarillamiento de la vid (fitoplasmas).

Caracterización genética de los virus y fitoplasmas más importantes encontrados

Ésta se realizó mediante el análisis de secuencias de dos aislados virales y cuatro de fitoplasmas. Las secuencias se compararon con las del banco de datos GenBank para obtener la caracterización molecular de los virus y fitoplasmas objeto de la investigación.

Posteriormente se determinó el costo de las técnicas de detección, su especificidad, sensibilidad y mejor época de muestreo.

2.2 Resultados

Con la utilización de la técnica ELISA se estableció la condición sanitaria de las plantas de los predios muestreados, con respecto a los virus investigados. Se determinó la presencia de GFLV, GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GfKV, GVA, GVB y ArMV; no se encontraron los virus SLRV y ToRSV, mientras que ArMV se encontró presente en un porcentaje muy bajo de las plantas analizadas. Lo anterior indica que estos tres últimos virus no serían de gran importancia para Chile. Dentro del grupo de los “leafroll”, se distinguió la presencia de las especies 1, 2 y 3, y se detectó por primera vez en Chile los virus GfKV y GVB.

Con el desarrollo de la técnica RT-PCR se confirmaron los resultados obtenidos con ELISA y, además, dada la mayor sensibilidad es esta técnica, se registraron los virus GRSPaV y GRSLaV por primera vez en las vides chilenas.

La aplicación de la técnica ELISA para la detección de GFLV, ToRSV, ArMV, GVA, GVB, GLRaV-1, 2, 3 y GfKV en material vegetal recolectado al azar, mostró la presencia de algunos de estos virus en porcentajes de incidencia preocupantes; ello indica que hay una importante presencia de virus en viñas y parronales chilenos que, indudablemente, afectan los niveles de producción en cuanto a cantidad y calidad.

Una situación preocupante, constatada con los análisis de suelo, es la abundante presencia de los nemátodos fitoparásitos vectores de virus *Xiphinema index* y *X. americanum*, dado lo frecuente que es encontrar plantas infectadas por GFLV. Esto genera una situación de máxima alerta por los daños que se pueden producir en la viticultura chilena, ya que están dadas las condiciones para iniciar y mantener por largo tiempo el ciclo de la enfermedad viral. Es importante que los nemátodos no adquieran el virus y para esto es oportuno introducir, en estas condiciones de suelos, plantas libres de GFLV.

Los resultados de los análisis de fitoplasmas ponen en evidencia una situación importante a considerar, debido a que se observaron porcentajes de infección altos, a pesar de la dificultad que la baja concentración de estos patógenos en la plantas introduce en su detección. En su mayoría se analizaron plantas sintomáticas, por lo tanto los datos obtenidos no definen la incidencia de estos organismos en los viñedos y parronales de Chile. Si embargo, en algunos sitios muestreados, las plantas positivas a fitoplasmas fueron más del 50%, lo que indica una situación de epidemia.

La colaboración con la Universidad de Bologna (Italia) permitió determinar la presencia de fitoplasmas pertenecientes a los grupos aster yellow (16SrI-B e I-C), ash yellow (16SrVII) y stolbur (16SrXII-A) en infecciones únicas o mixtas. Estos resultados constituyen la primera identificación de fitoplasmas de los grupos 16SrVII y XII en Chile, y al primer reporte mundial de la presencia de miembros del grupo VII en vides.

Se determinó la mejor época de muestreo para la detección de cuatro virus. Los resultados obtenidos con este ensayo permitieron elegir el mejor tejido vegetal a muestrear con relación al virus y al período del año en que se necesite realizar los análisis. Para la detección de todos los virus, desde brotación hasta antes emerjan los sarmientos verdes, es aconsejable realizar los análisis utilizando la RT-PCR, tanto en brotes como en hojas no completamente desarrolladas. En períodos sucesivos se puede realizar una ELISA utilizando los sarmientos verdes y lignificados.

La RT-PCR confirmó ser la técnica más sensible que ELISA cuando la carga viral es baja (durante brotación), sin embargo, su eficiencia disminuye en la medida que aumentan en la planta los azúcares y polifenoles, inhibidores de la enzima polimerasa. Para todos los virus, el tejido más reactivo

(100% de resultados positivos), tanto con ELISA como con RT-PCR, es el floema procedente de sarmientos lignificados.

Con la técnica ELISA se obtienen buenos resultados también con los sarmientos verdes, y en los meses en que se encuentran, también, sarmientos lignificados, éstos son los más sensibles y, además, están disponibles para muestreo durante un mayor número de meses en el año, incluyendo julio y agosto.

► 3. Desarrollos posteriores

El desarrollo de las técnicas de diagnóstico en el proyecto permitió, al grupo de trabajo, participar en la postulación y adjudicación de proyectos relacionados y financiados por los siguientes fondos:

- Fondo de Desarrollo e Innovación INNOVA CORFO, con el proyecto “Incremento de la productividad en parronales de la tercera región a través de un mejoramiento sanitario del sistema radical y de la prevención de infecciones por virus y fitoplasmas” (código 05CR11IAT-07). Permitirá derivar los beneficios generados por el proyecto FIA también a la Región de Atacama.
- Fondo Proyecto GENOMA, con el proyecto “Estudios genómicos y de expresión génica en vides: respuesta a la infección viral y desarrollo de sistemas de diagnóstico” (código G-02-S-1001). Es el resultado de la colaboración entre la Universidad de Chile, la Pontificia Universidad Católica de Chile, la Fundación Ciencias para la Vida y Bios Chile.
- Fondo SAG, con el proyecto “Prospección, disseminación espacial y caracterización molecular de plum pox virus (PPV) en frutales de carozo” (código C4-89-14-15). Es el resultado de la colaboración entre la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile e INIA-La Platina.

Además, se ofrece el servicio de análisis a productores y viveristas, con evidente mejoría del estado sanitario de las plantas en propagación. Se han realizados varias publicaciones científicas y de divulgación, donde las primeras han posicionado al grupo de trabajo en el ámbito internacional, mientras que las de divulgación han contribuido a mejorar el conocimiento de las virosis y fitoplasmosis de la vid en el país.

El éxito obtenido con la vid ha abierto importantes posibilidades de desarrollo del diagnóstico de virus, viroides y fitoplasmas en otras especies vegetales. Esto se refleja en el aumento de los análisis realizados para otras especies en los laboratorios del equipo ejecutor.

SECCIÓN 3

El valor del proyecto

Se desarrollaron todas las actividades contempladas en el proyecto; por lo tanto, se adecuaron las técnicas de detección de virus (ELISA y RT-PCR) y fitoplasmas (nested-PCR) en vid, lo que implica disponer, actualmente, de herramientas muy valiosas para apoyar al sector vitivinícola nacional.

Por otro lado, la prospección realizada en viñedos y parrones de las regiones de Coquimbo, Valparaíso, Metropolitana, O'Higgins y Maule, evidenció que la presencia de virus y fitoplasmas en las vides chilenas es importante, y contribuyó a un mayor conocimiento de las enfermedades producidas por estos organismos en la vid. Además se ha dado respuestas a algunos de los problemas que el cultivo presenta y que son causa de preocupación para los productores nacionales.

La presencia de virus en las vides chilenas representa una seria amenaza para el cultivo, por lo que su detección es el primer paso para tomar conciencia de la situación y prevenir futuros problemas. Es importante considerar que, en el caso de virus y fitoplasmas, las acciones de prevención son las únicas medidas que se deben tomar para controlarlos.

El desarrollo del proyecto permitió la interacción con el sector involucrado en la producción de vides y en el ámbito exportador, además de la comunidad científica, mediante la participación en congresos nacionales e internacionales donde se dieron a conocer los avances y logros alcanzados y, con ello, se abrió la posibilidad de realizar trabajos en conjunto con investigadores de diferentes instituciones nacionales y extranjeras.

Aunque el trabajo realizado en el proyecto precursor tuvo como objetivo evaluar la presencia de enfermedades causadas por virus y fitoplasmas en vides, también es un tema a considerar la superficie existente de otras especies frutales, cuyas enfermedades causadas por los mismos organismos genera la necesidad de contar con herramientas confiables de diagnóstico. Por lo tanto, los resultados tecnológicos obtenidos en el proyecto precursor constituyen una base importante para otros sectores de la agricultura.

Anexos

ANEXO 1. **Literatura consultada**

- Conti, M., Gallitelli, D., Lisa, V., Lovisolo, O., Martelli, G.P., Ragozzino, A., Rana, G.L. y Vovlas, C.** 1996. Diagnosi delle malattie virali delle piante ortive. In: I principali virus delle piante ortive. Edagricole, Bologna, Italia. Pp: 56-75.
- Digiario, M., Boscia, D., Simeone, V., & Savino, V.** 1997. Detrimental effects of filamentous viruses to table grape varieties newly introduced in southern Italy. 12th Meeting of the International Council for the Study of Viruses and Virus-like Disease of the Grapevine. Lisbon, Portugal.
- Golino, D.A.** 1993. Potential interaction between rootstocks and grapevine latent virus. *Am. J. Enol. Vitic.* 44, 2: 148-152.
- Herrera, G. y Madariaga, M.** 2000. Presencia e incidencia de virus de la vid en la zona central de Chile. *Agricultura Técnica*, 61(4): 393-400.
- Herrera, G. y Madariaga, M.** 2002. Incidencia de Prunus Necrotic Ringspot Virus (PNRSV), Prune Dwarf Virus (PDV), Tomato Ringspot Virus (ToRSV) y Plum Pox Virus (PPV) en viveros frutales de carozo de la zona central de Chile. *Agricultura Técnica*. 62(1), 38:45.
- Herrera, G. y Madariaga, M.** 2003. Evidencias inmunológicas, microscópicas y moleculares de la presencia de fitoplasmas en vides. *Agricultura Técnica*, 63(1):15-22.
- Madariaga, A.** 2008. Realidad productiva en Uva de Mesa en la zona norte de Chile. Exposición en Seminario de Uva de Mesa de ASOEX, 2008. [En línea]. <<http://www.asoex.cl/admin/PaginaWeb/Biblioteca/Archivos/Bajar.asp?Carpeta=SEMINARIOS\2008\SEMINARIO%20UVA%20DE%20MESA%20-%20%20II%20CICLO%20-%20%20MAYO%202008&Archivo=03-Sr.%20Alex%20Madariaga.pdf>> [Consulta: junio 2009]
- Martelli, G.P. y Quacquarelli, A.** 1983. Tecniche di risanamento del materiale di propagazione. In: *Il vivaismo in frutticoltura*. Garda (Verona), Italia. Pp: 75-90.
- Monis, J.** 2006a. Determinación de las enfermedades de la vid causadas por virus. *Revista Enología*, Número 13.
- Monis, J.** 2006b. Determinación de las enfermedades de la vid causadas por virus, Parte II. *Revista Enología*, Número 3.

ANEXO 2. Documentación disponible y contactos

La publicación *Resultados y Lecciones en Detección y Caracterización de Virus y Fitoplasmas en Vid* se encuentra disponible a texto completo en el sitio de FIA en Internet (www.fia.gob.cl), en la sección Banco de Negocios FIA.

El Banco de Negocios FIA se implementó durante el año 2008 y su objetivo es transferir un conjunto de opciones de proyectos y negocios factibles desde el punto de vista de su rentabilidad económica y viabilidad técnica, incluyendo además, información de los ámbitos de mercado, gestión y comercialización.

También incorpora el análisis de los resultados de iniciativas y proyectos con bajo potencial de aplicación inmediata por otros usuarios, aunque con resultados valiosos y orientadores, donde se consignan las oportunidades y las limitantes que quedan por superar en las opciones analizadas.

Este servicio técnico comercial es una instancia pionera en Chile, que se inserta en el trabajo que realiza la Fundación y está orientado a difundir y explotar los resultados valorizados de los proyectos que ha cofinanciado.

Para ingresar directamente a las publicaciones, siga los pasos que se detallan a continuación:

1º: entrar a <http://aplicaciones.fia.cl/valorizacion/home.aspx>

2º: en el menú (izquierda) seleccionar "Planes de negocio y modelos aprendidos-Documentos"

3º: seleccionar "Ver Todo"

4º: seleccionar "Ver Ficha"

5º y último: seleccionar "Documentos Asociados". Aquí se encuentran los libros y fichas correspondientes a cada plan de negocio o modelo aprendido.

En esta misma sección existe el campo "Precursores", que ofrece vínculos hacia los proyectos precursores que dieron origen a los documentos y que se encuentran en la base de datos de iniciativas apoyadas por FIA. Desde esta base de datos se accede a la ficha resumen de cada proyecto precursor, que contiene información adicional sobre éstos, y a los contactos de los ejecutores y profesionales participantes. Adicionalmente, esta ficha contiene un vínculo al SIG (Sistema de Información Geográfica) de FIA, para identificar con precisión la ubicación del proyecto en particular.

Toda esta documentación puede consultarse también en los Servicios de Información para la Innovación de FIA, ubicados en:

Centro de Documentación en Santiago

Loreley 1582, La Reina, Santiago. Fono (2) 431 30 96

Centro de Documentación en Talca

6 norte 770, Talca. Fono-fax (71) 218 408

Centro de Documentación en Temuco

Bilbao 931, Temuco. Fono-fax (45) 743 348