

FACULTAD DE
CIENCIAS AGRONÓMICAS
Y DE LOS ALIMENTOS



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE
VALPARAÍSO

TALLER DE TÍTULO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Evaluación del control de *Drosophila suzukii* (Díptera: Drosophidae) mediante técnica del insecto estéril (TIE) sobre huertos de arándano de la Región del Biobío.

JULIO ANTONIO SEGURA CORTEZ

QUILLOTA, CHILE

2018

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS Y DE LOS ALIMENTOS

ESCUELA DE AGRONOMÍA

TALLER DE TÍTULO

Taller de Título presentado como parte de los requisitos para optar al título de
Ingeniero Agrónomo

EVALUACIÓN DEL CONTROL DE *Drosophila suzukii* (DIPTERA:
DROSOPHILIDAE) MEDIANTE TÉCNICA DEL INSECTO ESTÉRIL
(TIE) SOBRE HUERTOS DE ARÁNDANO DE LA REGIÓN DEL
BIOBÍO.

JULIO ANTONIO SEGURA CORTEZ

APROBACIÓN

Nombre

Firma

Profesor Guía

Sr. WILSON BARROS P.

Ingeniero Agrónomo, Dr.

Quillota, Septiembre 2018

Índice

1. Problema y oportunidad	3
2. Hipótesis	6
3. Objetivos	6
3.1 Objetivos generales	6
3.2 Objetivos específicos	6
4. Estado del arte	7
4.1 Características y ciclo biológico	7
4.2 Condiciones limitantes	9
4.3 Arándanos en Chile	9
4.4 Arándano Orgánico	10
4.5 Técnica del insecto estéril.	11
4.6 Centro de Producción de Insectos Estériles (CPIE).	¡Error! Marcador no definido.
5. Metodología	13
5.1 Crianza controlada de <i>D. suzukii</i>	13
5.2 Proceso de estudio de dosis e irradiación:	14
5.3 Monitoreo de efectividad de irradiación.	15
5.4 Sistema de monitoreo de <i>Drosophila suzukii</i> en campo.	16
5.5 Evaluación de presencia de <i>D. suzukii</i> en terreno.	¡Error! Marcador no definido.
6. Referencias	18

1. Resumen

En junio de 2017 por primera vez en Chile se reporta de manera oficial la presencia de *Drosophila suzukii* en trampas del programa establecido por SAG desde el año 2013 para el monitoreo y vigilancia específica de la plaga, dentro de la región de La Araucanía, y es desde entonces que se han tomado las medidas necesarias para controlar y frenar el avance de este díptero hacia otras regiones. Sus hábitos alimenticios y gran capacidad reproductiva generan alarma entre los productores de frutales de piel delgada (ciruelo, durazno, damasco, cereza, frambuesa, arándanos, frutilla y vides), el daño producido por el ovipositor acerrado de la hembra y posteriormente la alimentación de las larvas, una vez eclosionadas desde los huevos. Generan una pérdida económica importante en el proceso productivo, provocando como principal factor, la pérdida total del valor comercial de los frutos atacados.

Actualmente, existen reportes oficiales sobre la presencia de *D. suzukii* en un total de seis regiones, desde la Región de Los Lagos hasta la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins, y frente al rápido avance de esta mosca en territorio chileno, se hace necesario evaluar la efectividad de las técnicas de control, para que sean eficientes en ejecución y amigables con el entorno. De esta manera, se plantea el desarrollo y utilización de la Técnica del Insecto Estéril (TIE) como método de control efectivo sobre *D. suzukii* en cultivos de arándano (*Vaccinium myrtillus*) en la Región del Biobío.

La TIE ha sido probada con gran efectividad y eficiencia a nivel mundial en países tales como Sudáfrica, en donde actualmente, se combaten cuatro plagas de importancia agrícolas, tales como, mosca de la fruta (*Ceratitis capitata*), barrenador de la caña de azúcar (*Eldana saccharina*), polilla de la manzana (*Cydia pomonella*) y falsa polilla de la manzana, FCM (*Thaumatotibia leucotreta*).

Para evaluar esta técnica y aceptar o rechazar la hipótesis se procederá a generar pruebas tanto de laboratorio como en campo, donde se deberá desarrollar un plan de trapeo específico para *D. suzukii* en predios con presencia o potencialmente amenazado por la llegada de esta mosca. Sumado a esto, se deberá realizar una crianza controlada de individuos parentales obtenidos desde fruta infestada con estadios inmaduros, para así generar un gran volumen de pupas que serán irradiadas con Cobalto-60 y obtener de esta manera individuos estériles, pero con las mismas capacidades de competencia sexual frente a ejemplares silvestres, una vez liberadas.

2. Problema y oportunidad

Drosophila suzukii (Diptera: Drosophilidae) es una plaga cosmopolita invasiva originaria del sudeste asiático (IPPM, 2016). Debido a su alto nivel de polifagia, es responsable de grandes pérdidas tanto productivas como económicas, atacando diferentes cultivos frutales, tales como: ciruelo, durazno, damasco, cereza, frambuesa, arándanos, frutilla y vides. Generalmente se encuentra relacionada a huertos frutales de piel delgada, concentrándose en los frutales menores. En Chile se detecta de manera oficial por el SAG en junio de 2017 en Pucón, Región de la Araucanía (Portalfrutícola, 2017)

La gran mayoría de las moscas pertenecientes al género *Drosophila* atacan frutas que presentan sobremaduración o tejido vegetal en descomposición, por lo cual, no son consideradas plagas de importancia agrícola. Sin embargo, *D. suzukii* presenta hábitos biológicos y alimenticios diferentes al resto de las especies del género. Es debido a esto, que esta especie supone un alto riesgo en los cultivos comerciales de arándano, atacando frutos entrando en pinta, provocando la pérdida total del valor comercial de los frutos dañados y por consiguiente de su producción (Funes et al., 2018).

D. suzukii es considerada una plaga peligrosa e invasiva en todas las zonas donde se encuentra presente. Esta plaga puede llegar a atacar diferentes cultivos frutales, tales como: ciruelo, durazno, damasco, cereza, frambuesa, arándanos, frutilla y vides. Generalmente se encuentra relacionada a huertos frutales de piel delgada, concentrándose en los frutales menores. Esta especie se ha visto favorecida por la presencia de flora silvestre típica del centro sur de Chile, tal como la zarzamora (*Rubus ulmifolius*), una especie hospedera con una amplia distribución en la zona (SAG, 2018).

En estricto rigor, el concepto de aislamiento en un programa de erradicación y control se refiere a que, tras el análisis e identificación de las áreas de infestación, no se debe dejar de considerar ningún fragmento sin control, por muy pequeños que estos sean. Cada una de las nuevas zonas identificadas de infestación deberán ser integradas al total (Olalquiaga y Lobos, 1993). La identificación práctica y en terreno de las zonas de expansión de *D. suzukii* en nuestro territorio será determinante para el buen funcionamiento del control de erradicación sobre esta nueva amenaza.

Chile es actualmente el principal exportador de fruta fresca del hemisferio sur, además de contar con redes comerciales a nivel global. La calidad de la fruta chilena, en especial la de los arándanos, ha sido reconocida mundialmente por muchos años, ganando así gran prestigio de productores internacionales. Debido a la alta competitividad existente dentro de los diferentes mercados globales, es que la preocupación por estándares de calidad y sanidad fitosanitaria resultan de carácter prioritario dentro del proceso productivo.

La oferta de arándanos producidos en Chile se encuentra disponible entre los meses de octubre y abril de cada año, y esto significa que no existe producción en los principales mercados mundiales ubicados en el hemisferio norte. Chile es hoy el segundo mayor productor de arándanos frescos del mundo y su suministro al consumo mundial es el más relevante del hemisferio sur.

La producción de arándanos en Chile, dentro de su temporada 2016-2017, ha concluido con un nuevo récord en las exportaciones, ya que, por primera vez, se ha superado las 100.000 t, un 13% más que en 2015-2016 (ChileanBlueberry comité, 2017). Según el último boletín del catastro frutícola (julio 2018), emitido por ODEPA, en conjunto con CIREN, la superficie total plantada en territorio nacional corresponde a 16.121 ha cultivadas (Muñoz, 2018). Actualmente, la Región del Bío-bío posee la mayor superficie cultivada de este frutal menor a nivel país, con un total de 5.404 ha (Muñoz, 2018).

El uso de agroquímicos en el control de plagas es una práctica que será cada vez más problemática. Hoy en día, los principales mercados mundiales exigen un producto de mayor calidad y dan valor agregado a un sistema de producción amigable con el medio ambiente, como es el caso del sistema de producción orgánico, por lo que técnicas alternativas a las aplicaciones químicas y en donde se potencie el manejo integrado, favorecerían la producción y su posterior comercio.

Es por lo anteriormente descrito que la producción comercial de arándano en Chile ha tenido un giro importante en su modelo de producción. Tan solo en el transcurso de 2016 a 2017, la superficie cultivada de arándano orgánico aumento un 130% (Díaz, 2018).

La técnica del insecto estéril (TIE), como método de control y erradicación de *D. suzukii*, toma fuerza gracias a que este mecanismo de control biológico consiste en combatir la plaga objetivo con ejemplares estériles de la misma especie, sin producir efectos colaterales, debido a su alta especificidad. De este modo, se reducen las cópulas efectivas en campo sin la necesidad del uso de agroquímicos. Además de ser una técnica amigable con el entorno, es totalmente compatible con otras técnicas de control, tales como la confusión sexual, bio-controladores, entre otros (CCHEN, 2016).

El uso de la TIE en la producción chilena de alimentos es una solución concreta frente al nuevo panorama fitosanitario nacional, en donde cada vez el ingreso de especies exóticas, tales como las plagas agrícolas, es mucho más frecuente. Sumado a esto, contempla una vía efectiva a la reducción del uso de agroquímicos, de esta forma contribuyendo directamente en la disminución de la carga de residuos en la fruta, obteniendo así un producto de mejor calidad y condición.

3. Hipótesis

El uso de la técnica del insecto estéril como método de control de *Drosophila suzukii* disminuye las cópulas efectivas de este díptero, incidiendo directamente en la reducción del daño en frutos de huertos de arándano en la Región del Biobío.

4. Objetivos

4.1 Objetivos generales

Evaluar la eficacia de la técnica del insecto estéril en la reducción del daño de *Drosophila suzukii* en huertos de arándanos de la Región del Biobío.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar la dosis de irradiación para producir esterilidad efectiva en la especie objetivo, sin afectar la competitividad sexual.
- Evaluar el efecto de las dosis de exposición en relación con el comportamiento de cortejo y ausencia de fecundidad de los individuos irradiados.
- Evaluar la efectividad de la TIE a través de la frecuencia de captura de *D. suzukii* en trampas de monitoreo con cebo específico sobre cultivo de arándano y su entorno no manejado.

5. Estado del arte

El orden Diptera posee 240.000 especies distribuida en el mundo. En Chile, se han reconocido aproximadamente 3000 especies distribuidas en 752 géneros y 86 familias, baja población de especies introducidas y un endemismo alrededor al 53% del total (Toro et al., 2009).

La familia Drosophilidae contiene sobre 3000 especies descritas a nivel mundial. En Chile hay presencia de alrededor de 35 especies identificadas, pertenecientes a este grupo (Castro, 2017). Los individuos de esta familia se caracterizan por presentar un pequeño tamaño (3-5 mm de largo), antenas prominentes con aristas plumosas, grandes ojos y la intervención de la vena costa en dos puntos (Toro et al., 2009). *Drosophila suzukii* es parte de esta familia, considerada una especie altamente polífaga, y si bien prefiere climas frescos y húmedos presentes en el sur de Chile, estas condiciones no limitan su establecimiento y desarrollo en climas más secos, permitiendo así, su establecimiento a la fecha desde la Región de Los Lagos hasta la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins (SAG,2018).

D. suzukii es originaria del sudeste asiático (IPPM, 2016), la cual por sus conductas biológicas genera alarma principalmente en productores de cultivos frutales de alto valor económico para Chile, tales como berries, uva de mesa y algunos carozos. De igual manera, y gracias a su capacidad de reproducción y sobrevivencia en especies silvestres (en el caso de Chile se ha detectado su presencia en Zarzamora (*R. ulmifolius*)) es que esta especie puede sobrevivir en hospederos alternantes durante aquellos periodos en que no existen frutos disponibles en los cultivos susceptibles con carácter comercial, esperando las condiciones óptimas para volver a ellos y aumentar su población.

5.1 Características y ciclo biológico

D. suzukii es considerada una especie multivoltina, alcanzando un máximo reportado de 13 generaciones por temporada (este valor es variable según el punto geográfico en donde sea analizado). Las hembras son capaces de oviponer de 7 a 16 huevos por día alcanzando un promedio de 384 huevos durante su vida (SAG, 2018).

Presenta una metamorfosis tipo holometábola, o completa con desarrollo alar interno, y presentando estadios biológicos de huevo, larva, pupa y adulto.

Los adultos de esta especie poseen un tórax amarillo claro o parduzco, abdomen con bandas negras continuas, de unos 2-3 mm de longitud y con ojos rojos. Las antenas tienen el tercer segmento ovalado con arista plumosa (Castro, 2017). Los adultos de esta especie presentan un evidente dimorfismo sexual:

- Los machos generalmente presentan manchas oscuras en el borde superior delantero de cada ala y también poseen dos peines sexuales con setas características en los tarsos del primer par de patas. Son estas características las que los diferencian dentro de los drosófilidos (Escudero, 2014).
- Las hembras poseen un mayor tamaño en comparación a los machos. También, es característico su ovipositor de gran tamaño, esclerotizado y aserrado que le permite penetrar la piel de la fruta (Escudero, 2014).

La hembra de *D. suzukii* es capaz de oviponer una gran cantidad de huevos dentro del fruto atacado. Se han reportado casos donde 65 individuos han emergido de una sola cereza (Oregon y IPPM, 2016). El comienzo del daño ocurre cuando las hembras introducen los huevos mediante su ovipositor aserrado, perforando la piel de los frutos desde etapa de pinta hasta maduración. Posteriormente, eclosiona una larva neonata que se alimenta de la pulpa desde el interior del fruto, produciendo pérdida de turgencia y disminuyendo su valor comercial (Rota Stabelli et al., 2013).

Los huevos son de forma oval, blancos, de 0,6 mm de longitud con dos filamentos respiratorios llamados espiráculos, los cuales son característicos de este grupo (Castro, 2017). Las larvas son ápodas y acéfalas, con las estructuras bucales bien quitinizadas, llegando a medir hasta 3,5 mm en su madurez, de color blanco o transparente.

Las pupas son de 3,5 mm de largo y 1,2 mm de ancho. Son de forma alargada con tonalidad café rojizo. Es posible identificar dos proyecciones filamentosas (espiráculos) en el extremo anterior, además de los dos espiráculos en su parte caudal (SAG, 2018).

Producto de las heridas generadas por el ovipositor a la fruta y la posterior alimentación de las larvas, el daño producido puede favorecer la llegada de fitopatógenos con hábitos

de penetración indirecta, tales como los hongos *Botrytis cinerea*, *Alternaria spp*, entre otros, así como también de bacterias (INIA Uruguay, 2014).

5.2 Condiciones limitantes

Una de las principales características de esta especie de mosca es su tolerancia a las condiciones climáticas. Una vez establecida, comienza a incrementar su tasa reproductiva, llegando a altos niveles de daño en un corto periodo de tiempo. Sus umbrales térmicos mínimo y máximo son 10 °C y 32 °C respectivamente, siendo su rango térmico óptimo de desarrollo 20-25 °C (SAG, 2016).

El potencial biológico de *D. suzukii* se ve altamente favorecido en localidades frescas y húmedas, siendo este último un factor climático limitante para la supervivencia invernal, principalmente en estado adulto, debido a que presenta intolerancia a la desecación (SAG, 2017).

La formación de la pupa ocurre al interior de la fruta y en el suelo (con menos frecuencia). En regiones de inviernos fríos la forma invernante es el estado adulto, que puede llegar a sobrevivir hasta 200 días refugiándose en lugares protegidos. Con temperaturas menores de 5 °C, la hembra entra en diapausa reproductiva y se activa cuando se superan los 10 °C. (SAG, 2018).

5.3 Arándanos en Chile

El arándano corresponde a una especie originaria de Estados Unidos, que además es el mayor productor y consumidor de este fruto a nivel global. La superficie mundial cultivada es de aproximadamente 110.000 ha. Actualmente, Chile cuenta con una superficie cultivada total, igual a 16.121 ha de arándano (Muñoz, 2018). Este fruto fue introducido a Chile en el año 1979, y desde ahí ha experimentado un enorme crecimiento en la superficie de sus plantaciones comerciales (INIA, 2017).

Entre los factores favorables para el desarrollo comercial del arándano en Chile destaca su ubicación geográfica, que permite abastecer en contra estación la demanda en el hemisferio norte a mercados como Estados Unidos, Europa y Asia, posicionando de esta manera a Chile como el principal exportador de arándanos del hemisferio sur (INIA, 2017).

5.4 Arándano orgánico chileno

Debido al potencial comercial que posee el arándano en territorio chileno y a modo de diferenciación entre la competencia local, muchos de los productores de arándano en Chile han adoptado modelos de producción respetuosos con el medio ambiente, como es el caso de la producción de cultivos orgánicos. Actualmente, Chile posee un 25% de la superficie de arándanos cultivados, certificados como orgánicos o en proceso de transición. (Portalfruticola, 2018). Solo en el transcurso de un año (2016 – 2017), las hectáreas comerciales certificadas aumentaron en un 130%, pasando de 1.400 ha a más de 3.200 a nivel nacional (Díaz, 2018).

El pago por la fruta orgánica puede llegar hasta un 30% más que la fruta producida de manera convencional. Solo durante la temporada 2017-2018 Chile exportó 110.240 (ton) de arándanos frescos, de los cuales 9.984 t son orgánicas (Simfruit, 2018).

5.5 Comisión Chilena de Energía Nuclear (CCHEN)

La Comisión Chilena de Energía Nuclear (CCHEN) fue creada con el objetivo de contribuir de manera activa en áreas tales como salud, investigación, industria, minería, el cuidado del medioambiente, la seguridad alimentaria y agricultura. En la actualidad, nuestro país, por intermedio de la CCHEN, ha desarrollado a lo largo de los años la mayoría de las variadas aplicaciones pacíficas de la energía nuclear que hoy son conocidas globalmente (CCHEN, 2015).

Debido al actual rol de Chile en el mercado frutícola mundial, se han potenciado las investigaciones tanto de los efectos del uso de plaguicidas en los cultivos frutícolas y de cereales, así como en proyectos sobre el aporte de la actividad agrícola a los gases de efecto invernadero.

La utilización de técnicas nucleares para el desarrollo de estrategias de control de plagas en territorio nacional se ha visto reflejado en labores, tales como el control de la mosca de la fruta (*Ceratitis capitata*), o como ocurre en la actualidad con la irradiación de gusanos de tebo, lo que asegura su exportación hacia los mercados del primer mundo (CCHEN, 2018). Con gran éxito, en el marco del área de la salud y los alimentos, se ha llevado a cabo el proyecto FIA, adjudicado a comienzos del año 2015 y en colaboración con la Fundación para el Desarrollo Frutícola (FDF) y el SAG, que estudia la viabilidad de la aplicación de la técnica del insecto estéril en el caso de *Lobesia botrana*, una plaga que

está afectando a las vides, principalmente, y que está extendiéndose hacia arándanos y otros frutos en diferentes regiones del país. Estas actividades se desarrollan en conjunto y en colaboración con universidades e institutos y/o entidades públicas (CCHEN, 2015).

5.6 Técnica del insecto estéril.

La Técnica del insecto estéril (TIE), corresponde a una labor eficiente de control de plagas en los programas donde ha sido ejecutado, contribuyendo así en el manejo integrado (MIP) como un complemento para la supresión o erradicación de una plaga en específico. Esta técnica es el primer método de control que se basa en la alteración genética.

La TIE consiste en la cría de enormes volúmenes de individuos de la plaga objetivo, generadas bajo condiciones de laboratorio. Esto, con la finalidad de obtener pupas (estado previo a la adultez de la mosca), para ser expuestas a una fuente irradiadora de isótopos radiactivos como lo es el Cobalto-60 aplicando una dosis determinada para cada especie. Este tipo de técnica ha sido evaluada y probada mundialmente, teniendo como resultado una alteración solamente en las células reproductivas sin modificar su capacidad de desarrollo ni de su instinto de reproducción si se aplica debidamente la dosis de irradiación correspondiente a la especie (CNEA, 2017).

Una vez que los individuos son irradiados y se corrobora el éxito del proceso, estos son liberados en las zonas infestadas. Se busca que los machos liberados se apareen con las hembras silvestres. De esta forma, se produce una disminución exponencial de las poblaciones, sin la necesidad de utilizar agroquímicos.

El éxito en terreno de esta técnica se centra en criar insectos de alta calidad, competitivos sexualmente y liberando cantidades superiores por hectárea a las cantidades estimadas de machos silvestres, disminuyendo así la probabilidad de que machos silvestres fecunden a hembras silvestres, y las proporciones recomendables son: 10:1, 50:1, 100:1 o mayores, dependiendo de cada caso (Olalquiaga y Lobos, 1993)

Las ventajas que ofrece este método de control en relación con los convencionales de lucha química son considerables. La ejecución de un programa de TIE se centra únicamente en afectar la especie dañina y no comprometen al resto de los insectos que cohabitan los alrededores, ni a los demás seres que integran la comunidad. Además, es

un método no contaminante, el cual no generar residuos ni percolación hacia perfiles del subsuelo (ISCAMEN, Año indefinido LA FABRICA DE MOSCAS)

Uno de los casos más emblemáticos respecto a la utilización de la TIE para afrontar los daños producidos por diferentes plagas agrícolas es el caso de Sudáfrica, donde se ha podido combatir de manera efectiva la mosca de la fruta (*Ceratitis capitata*), barrenador de la caña de azúcar (*Eldana saccharina*), polilla de la manzana (*Cydia pomonella*) y la falsa polilla de la manzana, FCM (*Thaumatotibia leucotreta*) (CCHEN, 2016).

5.7 TIE aplicada en la familia Drosophilidae

El estudio de la TIE, aplicado en la familia Drosophilidae y en específico en *D. suzukii*, es un nicho poco explorado y con mucho potencial de investigación. Ensayos recientes y en proceso de ejecución han dejado una buena sensación debido a que aseguran que los datos obtenidos sugieren que se puede recomendar utilizar radiación gamma para la implementación de un programa TIE para el control de *D. suzukii* (Krüger *et al.*, 2018).

Una dosis que induce el 100% de esterilidad rara vez se utiliza, ya que generalmente provoca daño somático a los insectos, afectando el nivel de competitividad. El trabajo desarrollado por Lanouette *et al.* (2017), tras exponer a irradiación a pupas de *D. suzukii* de 4 días de vida, a dosis de 30, 50, 70, 80, 90, 100 y 120 Gy, evidenció que las diferentes dosis probadas afectaron de igual manera la tasa de aparición (88,1%). Las hembras irradiadas con ≥ 50 Gy presentaron un nivel de fecundidad muy bajo. En el caso de los machos irradiados con 120 Gy se demostró que, al ser enfrentados a hembras no irradiadas, la eclosión de huevos disminuyó exponencialmente, llegando al 4%.

Ensayos recientes, realizados por Krüger *et al.* (2018), concluyeron que la esterilidad femenina completa se logra a 75 Gy, mientras que se obtuvo un nivel adecuado de esterilidad masculina (99.7%) a 200 Gy de exposición.

6. Metodología

El ensayo será realizado en condiciones controladas, siguiendo los protocolos establecidos por el SAG para el estudio de plagas cuarentenarias presentes. Los estudios se realizarán dentro de un laboratorio autorizado para la crianza y producción de individuos de *D. suzukii*, y tomando todos los resguardos pertinentes para evitar la proliferación de esta especie fuera de las instalaciones.

La cámara de producción deberá presentar las condiciones apropiadas para el óptimo desarrollo del pie de cría de *D. suzukii*, las cuales constan de $23 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, humedad relativa elevada (60% - 70%) y fotoperiodo de 16:8 (Luz:Oscuridad) (IVIA,2014).

6.1 Crianza controlada de *D. suzukii*

El núcleo de crianza de *D. suzukii* será desarrollado a partir de parentales obtenidos de fruta dañada colectada en terreno. Estas frutas serán muestreadas desde predios o áreas en donde se haya decretado por SAG la presencia de *D. suzukii* (SAG, 2018).

Una vez recolectada la fruta con potencial daño de estadios inmaduros de la mosca, será llevada al laboratorio, y allí las muestras se dispondrán en frascos de 50mL Falcon®, registrando fecha de recolección, hospedero muestreado, n° de hilera del huerto, localidad y coordenadas geográficas del lugar de muestreo (SAG, 2017). Los frascos Falcon® se ubicarán en cámaras climatizadas con las óptimas condiciones de desarrollo de la mosca. Esto, con la meta de obtener finalmente individuos adultos.

Debido a que no se asegura que el total de adultos obtenidos desde la fruta recolectada sean ejemplares de *D. suzukii* (machos y hembras), todos los adultos obtenidos serán expuestos a -5°C por un tiempo de 15 - 20 min, para de esta manera reducir temporalmente su metabolismo, y así realizar una selección e identificación taxonómica de los diferentes adultos obtenidos.

Una vez separados los adultos de *D. suzukii*, serán dispuestos en baterías de crianza transparentes de acrílico. Una de las caras tendrá uno o dos orificios de 15 cm de diámetro cubierto por una manga de muselina por donde se realizarán manejos propios del desarrollo de la crianza, además, la cara superior de la batería será sellada con muselina como sistema de ventilación.

Basados en la investigación del departamento de entomología perteneciente al Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), es posible proporcionar una dieta apropiada, la cual será suministrada en placas Petri de 8,5 cm de diámetro. Además de servir como alimento para los diferentes estadios, cumplirá el rol de medio facilitador de oviposición de la hembra. La dieta seleccionada se encuentra conformada por lo siguiente:

Material	Cantidad	Unidad
Agua	1,0	Litros (l)
Agar	10,5	Gramos (g)
Levadura fresca	60,0	Gramos (g)
Harina de soja	10,0	Gramos (g)
Harina de maíz	60,0	Gramos (g)
Azúcar	50,0	Gramos (g)
Etano absoluto	10,0	Mililitros (ml)
Nipagin (metil parén)	3,0	Gramos (g)

Tabla 1: Fórmula para dieta específica *D. suzukii*.

Fuente: García, 2014.

Luego de haber realizado todo el proceso anteriormente señalado, se espera tener un pie de cría de óptimas condiciones a lo menos a la tercera generación de individuos obtenidos desde los ejemplares parentales. Una vez incrementada la población de *D. suzukii* en las baterías de crianza, se pasará al proceso de estudio y evaluación de dosis efectiva de irradiación a aplicar.

6.2 Proceso de estudio de dosis e irradiación

La esterilización de *D. suzukii* será realizado en las instalaciones de la Comisión Chilena de Energía Nuclear en Santiago, Chile. Pupas de *D. suzukii* serán esterilizadas con radiación gamma (Cobalto-60), y se establecerá un periodo de prueba de dosis, el cual constará con la aplicación de diferentes cantidades dentro de un rango de 20–160 Gy, correspondiente al umbral óptimo de irradiación estudiado para el caso del orden díptero. En específico las familias Drosophilidae y Agromizyidae presentan una elevada resistencia a los procesos de irradiación (Bakri *et al.* 2005). Recientes trabajos, tales como los de Lanouette *et al.* (2017) y Krüger *et al.* (2018), han aportado en la acotación de los rangos de irradiación.

Debido a que actualmente no existen métodos de diferenciación entre pupas de machos y hembras de *D. suzukii*, como lo son las cepas o líneas sexadas, utilizadas hoy en día en los programa de macho esterilidad aplicado sobre mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata*) (Zapater y Camacho, 1993), el proceso de irradiación en este proyecto no será excluyente con los ejemplares hembra de *D. suzukii*.

6.3 Monitoreo de efectividad de irradiación

Posterior a la irradiación, se espera estimar el éxito del proceso. Esto será analizado enfrentando a los machos irradiados (machos estériles) en dos situaciones diferentes, además del ensayo control:

Batería	Tratamiento
Control	Batería con óptimas condiciones climáticas y alimenticias, en donde los individuos estériles (machos y hembras) solo convivan y desarrollen su ciclo biológico, hasta evidenciar el descenso en la colonia.
B1	Batería con óptimas condiciones climáticas y alimenticias, en donde los machos estériles producto de la irradiación se vean enfrentados solo a hembras fértiles. Aquí se buscará estudiar la tasa de eclosión de huevos puestos en la dieta artificial al igual que en muestras de frutas dispuestas para la ovoposición. Se espera una baja tasa de eclosión de huevos, arrojando así un resultado exitoso en cuanto al proceso de irradiación.
B2	Batería con óptimas condiciones climáticas y alimenticias, en donde los machos estériles producto de la irradiación se vean enfrentado no solo a hembras fértiles, sino que además a ejemplares machos fértiles. De esta manera, se busca estimar el potencial competitivo sexual de los machos irradiados versus los machos "salvajes" o no irradiados.

Tabla 2: Descripción de tratamientos a comparar.

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Al exponer a los machos estériles a ambos escenarios, se busca estimar: tiempo de disminución de población, porcentaje de éxito en la irradiación, efectividad en la técnica del insecto estéril y nivel de competencia con individuos salvajes.

6.4 Sistema de monitoreo de *Drosophila suzukii* en campo

Para conocer la distribución predial y dinámica poblacional se llevará a cabo la puesta en marcha del sistema de monitoreo específico para *D. suzukii* sobre campos de arándanos en la Región del Bío-bío, el cual consiste en la colocación de trampas DROSO-TRAP® patentadas por la empresa Biobest, las que serán cebadas con el atrayente alimenticio específico para *D. suzukii*, elaborado por Bioiberica llamado Suzukii Trap® Maxcapture. La revisión de trampas se efectuará dos veces por semana, en donde se realizarán labores de análisis y recolección de muestras de insectos desde la trampa, recambio de trampas con atrayente alimenticio (proporcionando de esta manera una mayor eficacia de este) y en caso, de ser pertinente, se ejecutará la reubicación de la trampa, ya sea por otro hospedero o bien hacia un lugar con mayor probabilidad de una potencial captura (SAG, 2017). El sistema de monitoreo constará con la colocación de trampas en dos sectores estratégicos para el óptimo funcionamiento en campo:

Ubicación de trampa	Descripción
Trampa de borde	Estas trampas serán ubicadas en flora silvestre presente en el borde del predio. Principalmente, se posicionarán sobre Zarzamora (<i>R. ulmifolius</i>), especie cuya presencia contribuiría potencialmente al desplazamiento de <i>D. suzukii</i> hacia otras zonas.
Trampa de cultivo	Serán trampas ubicadas netamente sobre plantas de arándano, con la finalidad de constatar y cuantificar la presencia de <i>D. suzukii</i> dentro del sector de cultivo.

Tabla 3: Determinación de tipos de trampa según su instalación.

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Todas las muestras provenientes desde el sistema de monitoreo específico serán analizadas posteriormente en laboratorio por profesionales capacitados para poder identificar la naturaleza taxonómica de cada individuo analizado, proporcionando de esta manera datos cuantitativos referentes a presencia de *D. suzukii* en el plan de monitoreo. Todos los datos serán consolidados en una base de datos, con la finalidad de poder contrastar los datos obtenidos desde el comienzo del plan de control, hasta una vez culminado.

El estudio la dinámica de vuelo de *D. suzukii* serán analizados a partir de datos de captura de la especie, gracias al diseño de un sistema de trampeo en zonas atacadas, al igual que zonas potencialmente vulnerables al ataque de esta mosca.

6.5 Análisis de datos

El modelo estadístico a utilizar para interpretar las variables dentro de los parámetros del estudio, será un análisis de varianzas (ANOVA), una vez obtenidos los resultados, estos se someterán al método Tukey (0,05) y así generar intervalos de confianza con un margen de erros menor.

7. Referencias

CCHEN. 2015. Cuenta Publica Participativa correspondiente a la gestión del año 2015. 22 p. Ministerio de Energía. Santiago. Chile.

CCHEN. 2016. Evaluarán implementación de una planta chilena de producción y distribución masiva de insectos estériles para combatir plagas como la de la polilla de la vid. Disponible en

http://www.cchen.cl/index.php?option=com_content&view=article&id=1099:evaluaran- implementacion-de-una-planta-chilena-de-produccion-y-distribucion-masiva-de-insectos-esteriles-para-combatir-plagas-como-la-de-la-polilla-de-la-vid&catid=406:noticias-2016&Itemid=134 Leído el 11 de Mayo del 2018.

CCHEN. 2018. Aplicaciones de la energía nuclear en Chile. Disponible en http://www.cchen.cl/index.php?option=com_content&view=category&id=298&Itemid=101 Leído el 5 de Junio del 2018.

Diaz. P. 2018. Crece área con arándanos orgánicos como opción de buena rentabilidad. Disponible en <http://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Noticias/2018/02/16/Crece-area-con-arandanos-organicos-como-opcion-de-buena-rentabilidad.aspx> Leído el 28 de Junio del 2018.

Funes, C., Kirschbaum, D., Escobar, L., y Heredia, A. 2018. La mosca de las alas manchadas, *Drosophila suzukii* (Matsamura) Nueva plaga de las frutas finas en Argentina. 28 p. INTA. Tucumán. Argentina.

Gabarra, R., Riudavets, J., Rodriguez, G., Pujade-Villar, J., y Arnó, J. 2014. Prospects for the biological control of *Drosophila suzukii*. 9 p. International Organization for Biological Control, Barcelona, España.

García, F., Pérez, C., Falcó, J., Tormos, J., y Beitia, F. 2014. La Drosófila de las alas manchadas *Drosophila suzukii*: Cría en laboratorio y ensayos preliminares con parasitoides. *Agricola Vergel* 372: 65 - 69.

INIA Uruguay. 2014. Guía para la identificación de patógenos de poscosecha en frutos de arándano. 38 p. INIA, Salto, Uruguay.

Intagri. 2015. La Mosca del Vinagre de Alas Manchadas (*Drosophila suzukii*) en Berries. Disponible en <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/la-mosca-vinagre-alas-manchadas-berries> Leído el 19 de Octubre de 2017.

Lanouette, G., Brodeur, J., Fournier, F., Martel, V., Vreysen, M., Cáceres, C., y Firlej, A., 2017. The sterile insect technique for the management of the spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*: Establishing the optimum irradiation dose. PLOSONE. 14 p. Quebec. Canada.

Muñoz, M. 2018. Reporte: Frutícola Nacional. Disponible en <https://www.odepa.gob.cl/contenidos-rubro/boletines-del-rubro/boletin-fruta-fresca-julio-de-2018> Leído el 26 de julio de 2018.

Simfruit. 2018. Producción Orgánica de Arándanos: una oportunidad para la zona sur. Disponible en <http://simfruit.cl/nacionales/4065-produccion-organica-de-arandanos-una-oportunidad-para-la-zona-sur.html> Leído el 25 de Junio del 2018.

Olalquiaga, G., y C. Lobos. 1993. La Mosca del Mediterraneo en Chile, Introducción y Erradicación. 268 p. SAG, Santiago, Chile.

Oregon Department of Agriculture and Insect Pest Prevention and Management. 2016. Pest Alert: Spotted Wing Drosophila *Drosophila suzukii*. 2 p. Oregon Department of Agriculture and Insect Pest Prevention and Management, Salem, OR, USA.

Portalfrutícola. 2017. Se detecta en Chile por primera vez ejemplares de *Drosophila suzukii*. Disponible en <http://www.portalfruticola.com/noticias/2017/07/07/se-detecta-chile-primera-vez-ejemplares-drosophila-suzukii/> Leído el 15 de agosto de 2017.

Portalfrutícola. 2018. Arándanos Orgánicos de Chile, un desafío y una oportunidad. Disponible en <https://www.portalfruticola.com/noticias/2018/03/26/arandanos-organicos-chile-desafio-una-oportunidad/> Leído el 18 de Abril de 2018.

Revista del Campo. 2017. Especial Berries: Sólida Demanda y Buena Producción. 32 p. El Mercurio, Santiago, Chile.

SAG. 2016. Ficha Técnica: “Drosófila de alas manchadas”. Disponible en: http://www.sag.cl/sites/default/files/ficha_tecnica_d.suzukii_2016.pdf Leído el 18 de Octubre de 2017.

SAG. 2017. Plan de trabajo para la Vigilancia y Manejo Integrado de la plaga *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) en huertos productivos y lugares de procesamiento de fruta hospedante. 22 p. SAG, Santiago, Chile.

SAG. 2018. *Drosophila suzukii*. Disponible en <http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/drosophila-suzukii> Leído el 20 de julio de 2018.

Toro, H., Chiappa, E., y Tobar, C. 2009. Biología de Insectos. 249 p. 3rd ed. Edición Universitaria de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

Zapater, M., Camacho, H. 1993. El sexado genético de la mosca del mediterráneo: una forma de optimizar la técnica del insecto estéril. Disponible en http://www.mag.go.cr/rev_agr/v17n02_111.pdf Leído el 12 de mayo del 2018.

8. Plan de trabajo

Etapa 0: Red administrativa

Noviembre 2018 – enero 2019: Para el inicio de actividades, se establecerá una red de investigación con el laboratorio INIA Quilamapu, Región del Biobío, en donde se acondicionará un espacio, contemplando todo el equipamiento de laboratorio necesario para generar una crianza de *D. suzukii*. Se deberá considerar todos los ítems del protocolo establecidos por el SAG para la certificación del laboratorio de control.

Etapa 1: Crianza controlada de *D. suzukii*

Enero 2019 – febrero 2019: La obtención individuos parentales silvestres (vivos) comenzará con la colecta de muestras frescas desde especies hospederas en terrenos agrícolas y bordes de predios (250 g por planta muestreada).

Febrero 2019: Se deberá formular la dieta artificial específica para *D. suzukii*, la cual además de alimentar a los individuos, servirá de lugar de ovipostura.

Febrero 2019 – marzo 2019: Cada una de las muestras de fruta provenientes de campo serán analizadas bajo un microscopio estereoscópico en busca de estados inmaduros de *D. Suzuki*. Posteriormente, las muestras serán depositadas en frascos de 50 mL Falcon®, y dispuestas en condiciones óptimas para la incubación y posterior eclosión de adultos.

Marzo 2019 - abril 2019: Una vez emergido un volumen visualmente considerable de insectos, desde la fruta monitoreada, se procederá a la diferenciación taxonómica de adultos de *D. suzukii*. Esto se logrará por medio del análisis de los individuos bajo el microscopio estereoscópico.

Abril 2019 - diciembre 2020: El proceso de incremento de pie de cría se llevará a cabo casi por la totalidad del proyecto.

Etapa 2: Proceso de estudio de irradiación

Agosto 2019 – octubre 2019: Envío de ejemplares de *D. suzukii* a la central de la CCHEN. Una porción de las pupas obtenidas desde el pie de cría será irradiada a diferentes dosis de exposición, y gracias a este procedimiento se establecerá una dosis específica para la efectividad de la irradiación.

Etapa 3: Monitoreo de efectividad de irradiación

Agosto 2019 – octubre 2019: Se realizará el análisis cuantitativo y cualitativo sobre la efectividad de la TIE, exponiendo a las moscas irradiadas en variadas situaciones. Se establecerán dos modelos de análisis diferentes, además de una batería control.

Etapa 4: Implementación en terreno del Sistema de Monitoreo de *D. suzukii*

Octubre 2019 – diciembre 2020: Se generará una red de monitoreo diseñada para predios con presencia de *D. suzukii*, y se respetarán dos criterios de establecimiento: trampas de borde y trampas de campo. Cada una de estas trampas serán de tipo DROSO-TRAP® y cebadas con el atrayente alimenticio Suzukii Trap® Maxcapture.

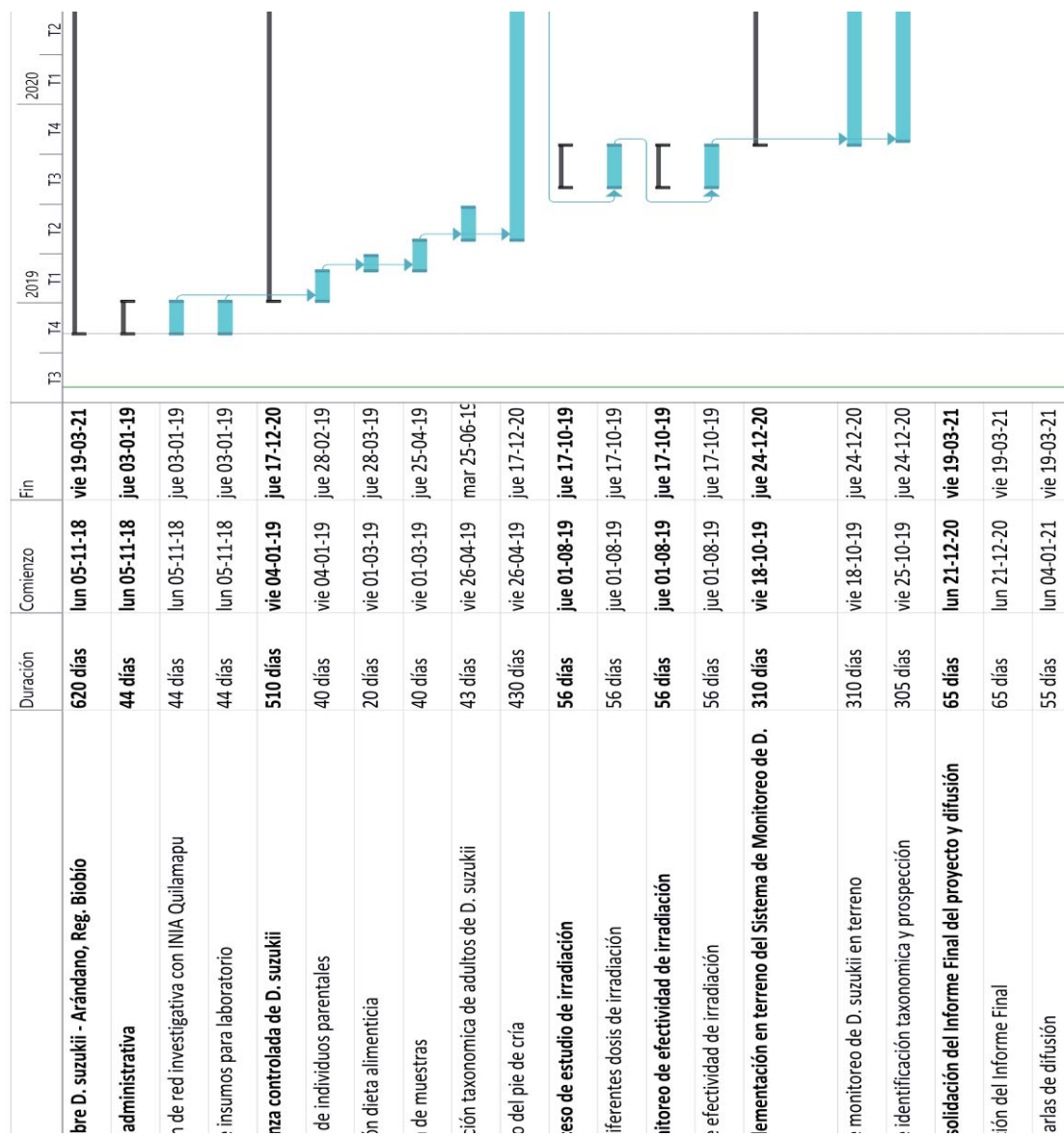
Octubre 2019 – diciembre 2020: Una vez establecido el sistema de monitoreo en campos agrícolas, se proseguirá con las labores de identificación de las muestras prospectadas en las trampas establecidas. Estas prospecciones se realizarán de manera semanal, por lo cual, se estará constantemente revisando las muestras. La finalidad de este manejo es poder cuantificar de manera clara, un efecto en la población de *D. suzukii* residente en los predios monitoreados.

Las muestras ingresadas al laboratorio serán estudiadas bajo el microscopio estereoscópico, analizando cada una de las especies según las “Claves de identificación” de dípteros presentes en Chile. Para concluir con esta labor, se deberá llenar el prospecto de monitoreo correspondiente a la red establecida e ingresar cada uno de los resultados a la base de datos del proyecto.

Etapa 5: Consolidación de Informe Final del proyecto y difusión

Diciembre 2020 – marzo 2021: Se elaborará una consolidación de los informes desarrollados durante el proceso del proyecto, generando así un informe final con todos los datos obtenidos desde el comienzo hasta el fin.

8.1 Carta Gantt



9. Resultados esperados

Objetivos específicos

- Determinar la dosis de irradiación para producir esterilidad efectiva en la especie objetivo, sin afectar la competitividad sexual.
- Evaluar el efecto de las dosis de exposición en relación con el comportamiento de cortejo y ausencia de fecundidad de los individuos irradiados.

- Evaluar la efectividad de la TIE a través de la frecuencia de captura de *D. suzukii* en trampas de monitoreo con cebo específico sobre cultivo de arándano y su entorno no manejado.

Objetivo específico	Descripción	Resultado esperado
1	Se deberá establecer la dosis más efectiva de irradiación que genere la esterilidad de los individuos.	Determinar la dosis efectiva de irradiación, la cual provoca que los individuos expuestos sean inviablemente fértiles.
2	A través de la exposición de los individuos ya irradiados, a diferentes escenarios posibles, se estimará el porcentaje de éxito del proceso por medio del decrecimiento poblacional.	Evidenciar el efecto de las dosis de irradiación al enfrentar a individuos irradiados e individuos no irradiados. Evaluando el proceso a través de la tasa de mortalidad, en función del tiempo.
3	A través del diseño de un programa de trapeo, monitoreo y prevención específica de <i>D. suzukii</i> , evidenciar su real concurrencia en los predios prospectados.	Cuantificar la concurrencia de captura de <i>D. suzukii</i> en predios prospectados. Generar una estimación en el comportamiento poblacional del díptero.

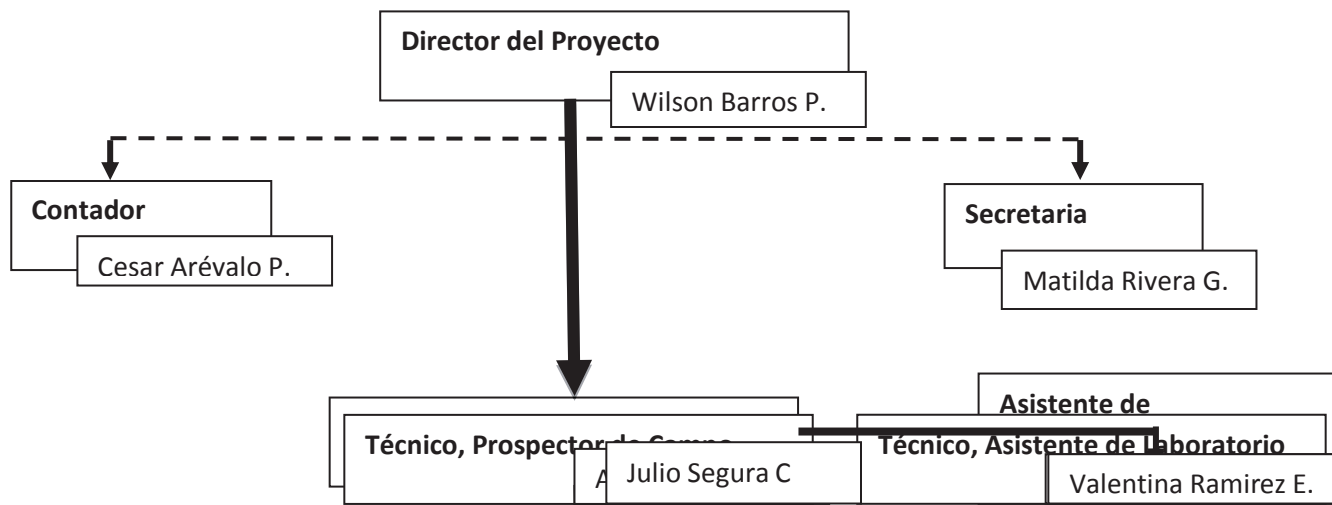
10. Organización administrativa

10.1 Organización Cargos y Funciones

Nombre del profesional	Formación /grado académico	Cargo en el proyecto	Funciones (N°)	Costo del personal (MM\$)	Aporte FONDO CONCURSABLE (MM\$)

Wilson Barros Parada	Ingeniero Agrónomo / Doctorado en Entomología	Director del proyecto	Vínculo directo entre la institución investigadora del proyecto y la empresa. Supervisará la investigación. Organizará y recaudará fondos para la ejecución del proyecto. Concluido el proyecto, difundirá los resultados obtenidos. Rendirá fondos adjuntos al proyecto. Aprobará el informe anual y final del proyecto.	\$3,26	
Julio Segura Cortez	Ingeniero Agrónomo	Director alterno y de ejecución	Supervisará el cumplimiento de las metas y fechas establecidas. Supervisará las funciones de identificación y crianza de <i>D. sukii</i> . Gestionará la ejecución del proyecto con predios que cumplan con las características requeridas. Gestionará la entrega de informes mensuales con estado de avance del proyecto. Consolidará el informe anual y final del proyecto.	\$21,75	
Valentina Ramírez Escobar	Ingeniero Agrónomo	Asistente de investigación, taxónomo	Administrará las labores de laboratorio. Realizará la identificación taxonómica de las muestras de campo. Ingresará datos obtenidos del muestreo en la base de datos del proyecto. Realizará informes mensuales de tareas de laboratorio y resultados.	\$3,36	
Arturo Sanchez Valdivia	Técnico Agrícola nivel superior	Técnico, Prospector de campo	Realizará labores netamente de campo, tales como, instalación, cebado y retiro de las trampas de borde y de cultivo	\$6,75	
Ricardo Vicencio Flores	Técnico Agrícola nivel superior	Técnico, Asistente de laboratorio	Ejecutará las labores de crianza y mantención del pie de cría en condiciones de laboratorio. Realizará la identificación taxonómica del total de las muestras obtenidas desde el sistema de monitoreo en terreno.	\$10,8	
Cesar Arévalo Ponce	Contador Auditor	Contador	Realización y revisión de cláusulas de contratos. Registro de boletas y facturas adjuntas. Administrará la rendición de boletas y facturas.	\$3,48	\$0
Matilda Rivera González	Secretaria Ejecutiva	Secretaria	Coordinación de reuniones de equipo. Consolidación de rendición de facturas y boletas, mensualmente. Recopilación de informes mensuales. Coordinación de difusión del proyecto (seminarios, exposiciones, coloquios, etc)	\$2,175	

10.2 Organigrama de cargos



11. Presupuesto

11.1 Presupuesto total por cuenta (MM\$)

	Cuenta	Fondo concursable	Empresa	Total (MM\$)	TOTAL CLP
A.	Total Recursos Humanos	36,10	15,47	51,58	51.577.500
B.	Total Subcontratos	0,49	0,21	0,70	701.760
C.	Total Difusión	1,63	0,70	2,33	2.329.000
D.	Total Gastos de Inversión	8,78	3,76	12,54	12.543.940
E.	Total Gastos de Operación	8,46	3,62	12,08	12.082.530
F.	Total Gastos de Administración	5,91	2,53	8,45	8.448.233
G.	Total sin imprevistos	61,38	26,30	87,68	87.682.963
H.	5% imprevistos	3,07	1,32	4,38	4.384.148
I.	Total con imprevistos	64,45	27,62	92,07	92.067.111
J.	Porcentaje de Aporte (%)	70%	30%	100%	100%

11.2 Presupuesto total por año (MM\$)

	Cuenta	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Total(MM\$)
A.	Total Recursos Humanos	2.115.000	21.120.000	25.170.000	3.172.500	51.577.500

	Pecuniario	1.500.000	15.750.000	19.800.000	2.250.000	39.300.000
	No Pecuniario	615.000	5.370.000	5.370.000	922.500	12.277.500
B.	Total Subcontratos	-	551.760	37.500	112.500	701.760
	Pecuniario	-	551.760	37.500	112.500	701.760
	No Pecuniario	-	-	-	-	-
E.	Total Difusión	-	-	807.000	1.522.000	2.329.000
	Pecuniario	-	-	571.000	1.050.000	1.621.000
	No Pecuniario	-	-	236.000	472.000	708.000
F.	Total Gastos de Inversión	12.543.940	-	-	-	12.543.940
	Pecuniario	12.543.940	-	-	-	12.543.940
	No Pecuniario	-	-	-	-	-
G.	Total Gastos de Operación	671.960	6.038.770	5.137.440	234.360	12.082.530
	Pecuniario	371.960	1.838.770	937.440	234.360	3.382.530
	No Pecuniario	300.000	4.200.000	4.200.000	-	8.700.000
H.	Total Gastos de Administración	549.308	3.427.300	3.677.300	794.325	8.448.233
	Pecuniario	379.310	3.427.300	3.677.300	794.325	8.278.235
	No Pecuniario	169.998	-	-	-	169.998
	Total(MM\$)	15.880.208	31.137.830	34.829.240	5.835.685	87.682.963
	Pecuniario	14.795.210	21.567.830	25.023.240	4.441.185	65.827.465