

FACULTAD DE
CIENCIAS AGRONÓMICAS
Y DE LOS ALIMENTOS



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE
VALPARAÍSO

TALLER DE TÍTULO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Evaluación del uso de monoterpenos para el control de la chinche pintada (*Bagrada hilaris* Burmestier) en el cultivo de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.)

ANA MAGDALENA ARANDA GODOY

QUILLOTA, CHILE

2019

Índice

1. Resumen	3
2. Definición del Problema	4
3. Hipótesis	5
4. Objetivos	5
5. Estado del Arte	6
5.1. Cultivo de la coliflor y su importancia	6
5.2. Chinche pintada	6
5.2.1. Morfología y ciclo de vida de la chinche pintada	7
5.2.2. Daños y hospederos	8
5.2.3. Control de la plaga	8
5.3. Características de los monoterpenos	9
5.3.1. Geraniol	9
5.3.2. Eugenol	10
6. Materiales y métodos	11
6.1. Antecedentes generales	11
6.2. ETAPA I: Captura y crianza de la chinche pintada (<i>B. hilaris</i>)	11
6.3. ETAPA II: Degradación de los monoterpenos	12
6.4. ETAPA III: Evaluación de propiedades de monoterpenos	12
6.5. ETAPA IV: Efectividad de monoterpenos en cultivo	14
6.6. ETAPA V: Difusión de la Información	15
7. Referencias bibliográficas	16
8. Plan de Trabajo	20
9. Carta Gantt	21
10. Resultados esperados	22
11. Organización: Cargos y funciones	23
12. Presupuesto	24
12.1. Presupuesto total por cuenta (MM\$)	24
12.2. Presupuesto total por año (MM\$)	25
13. Anexos	

1. Resumen

El año 2016 ingresó a Chile una plaga agrícola llamada chinche pintada (*Bagrada hilaris* Burmestier). Esta plaga, perteneciente a la familia Pentatomidae, a pesar de ser polífaga, presenta una clara preferencia por las especies de la familia Brassicaceae, en especial por el rábano (*Raphanus sativus* var. *sativus* L.), la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) y el repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.).

Ya desde su segundo estado ninfal, esta plaga ataca hojas, semillas y tejidos jóvenes, utilizando su estilete para provocar lesiones cloróticas blanquecinas y, en el caso de brócoli y coliflor, afecta la formación de las pellas, al atacar los ápices de crecimiento. Incluso, en los momentos de mayor vulnerabilidad del cultivo (plantín), es capaz de matar a la planta.

Lamentablemente, los métodos de control disponibles son limitados y potencialmente contaminantes, lo que obliga a buscar otras maneras de controlar la plaga. En este caso se propusieron los monoterpenos, que son la base de los aceites esenciales y responsables de las propiedades de defensa e interacción de las plantas con el medio.

Este proyecto propone evaluar la acción de dos monoterpenos sobre la chinche; el geraniol y eugenol, los que si bien no han sido utilizados contra esta plaga, tienen reconocidas propiedades insecticidas y repelentes. También se determinará el potencial que poseen en la protección de la coliflor en su etapa de mayor vulnerabilidad.

La evaluación se hará principalmente en laboratorio, estudiando las propiedades de ambos monoterpenos sobre diferentes estadios de la plaga, a fin de confirmar su efectividad sobre la chinche. Con ello se obtendrán las concentraciones letales y aquellas que presentan la mayor repelencia, con la finalidad de evaluarlas en plantines de coliflor, probando su eficacia en la protección del cultivo.

Se espera que ambos monoterpenos afecten la supervivencia y el comportamiento de la plaga, así como la relación planta-insecto con la coliflor, de modo de que puedan ser utilizados a futuro en la formación de biopesticidas para controlar la población de la chinche pintada.

2. Definición del Problema

El coliflor (*B. oleracea* var. *botrytis* L.), es uno de los cultivos de brassicas de mayor producción y consumo a nivel nacional (Eguillor, 2018). Lamentablemente, los cultivos de esta hortaliza, así como de múltiples otras, se han visto afectados por el ingreso de una plaga exótica; la chinche pintada (*B. hilaris*).

Dicha plaga es originaria de África y Asia. Ingresó a América el año 2008 y fue detectada en Chile el año 2016 (Faúndez *et al.*, 2016). Actualmente está presente entre la región de Coquimbo y hasta la región del Libertador Bernardo O'Higgins (Bierwirth, 2018).

Es una plaga polífaga, que afecta a más de 70 especies vegetales de 23 familias diferentes, aunque tiene preferencia por las especies de la familia Brassicaceae. Las especies más afectadas son el rábano, el repollo y la coliflor (Reed *et al.*, 2013).

Esta plaga alcanza su estado adulto en 33 días a 28 °C, lo que le permite tener hasta 10 generaciones al año (Azim & Shafee, 1986). Posee un aparato picador-chupador con el cual daña las hojas, cotiledones y ápices de crecimiento de sus hospederos, provocando graves daños en coliflor al afectar la formación de las pellas (Reed *et al.*, 2013).

Durante el año 2010, en Yuma, Arizona se registraron pérdidas de un 20% en el cultivo de coliflor, debido a la formación de plantas sin pella y a los retrasos en la producción (Reed *et al.*, 2013). Por otro lado, Huang *et al.* (2014) determinó que los plantines de coliflor y rábano son especialmente vulnerables al ataque de adultos de *B. hilaris*, tal como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1: Porcentaje de mortalidad de especies vegetales de la familia Brassicaceae en estado de cotiledón.

Hospederos		Mortalidad de plantines (%)
N. común	N. científico	
Rábano	<i>R. sativus</i> var. <i>sativus</i>	83,3
Coliflor	<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	75,0
Mostaza	<i>B. juncea</i> var. <i>rugosa</i>	50,0

Repollo	<i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i>	41,7
Kale	<i>B. oleracea</i> var. <i>acephala</i>	41,7
Brócoli	<i>B. oleracea</i> var. <i>itálica</i>	33,3
Arugula	<i>Eruca sativa</i>	8,3

Fuente: Huang *et al.* (2014)

En Chile, la Región Metropolitana tiene la mayor producción de bráscicas del país. En el primer semestre del 2017, sólo en la región Metropolitana ya existían 430,5 ha afectadas por la plaga (SAG, 2018a).

Es una plaga de difícil control debido a su ciclo de vida corto, el alto número de generaciones por año, la falta de controladores biológicos en Chile y el deficiente plan de manejo integrado existente.

Actualmente, el sistema de control más utilizado, ha sido la aplicación de plaguicidas, en especial piretroides y neonicotinoides, que representan el 70,6 % de los productos autorizados por SAG para el control de la plaga (SAG, 2018b). Estos son de rápida acción, pero requieren múltiples aplicaciones por temporada, lo que afecta a nivel ambiental y económico (Shimat *et al.*, 2016).

Se han buscado opciones ecológicas que puedan apoyar en la protección de sus cultivos, tales como pesticidas naturales y el control biológico (Grasswitz, 2016).

Con ello en mente, se propone evaluar diferentes monoterpenos, que podrían ser utilizados para apoyar en el control de la plaga.

Los monoterpenos son compuestos presentes en diferentes aceites esenciales, los cuales son reconocidos como los responsables de las propiedades repelentes e insecticidas de estos aceites. Se producen como metabolitos secundarios que apoyan las funciones biológicas de las plantas, tales como los sistemas de defensa directa e indirecta contra plagas (Tripathi *et al.*, 2009)

Basándose en ello, se evaluará la acción de dos diferentes monoterpenos, que podrían tener un potencial uso en el control de la chinche pintada, permitiendo su utilización en un plan de manejo integrado en las primeras etapas de la producción de coliflor, las cuales son las más vulnerables al ataque de la plaga.

3. Hipótesis

Los monoterpenos, geraniol y eugenol presentan acción repelente e insecticida sobre ninfas y adultos de *B. hiliaris*, lo que permite reducir el daño foliar sobre el cultivo de coliflor y protegerlo en su etapa de mayor vulnerabilidad.

4. Objetivos

4.1. Objetivo General

Evaluar el potencial de los monoterpenos; geraniol y eugenol en el control de adultos y ninfas de *B. hiliaris* en la etapa inicial del cultivo de coliflor, analizando el efecto insecticida y repelente en diferentes concentraciones.

4.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto repelente de diferentes concentraciones de monoterpenos sobre los adultos de *B. hiliaris* en condiciones de laboratorio.
- Evaluar el efecto insecticida de diferentes concentraciones de monoterpenos sobre las ninfas de *B. hiliaris* en condiciones de laboratorio.
- Evaluar la efectividad de los diferentes monoterpenos sobre adultos y ninfas de *B. hiliaris* en plantines de coliflor.
- Obtener las curvas de degradación de los monoterpenos al estar expuestos al aire libre.

5. Estado del Arte

5.1. Cultivo de la coliflor y su importancia

La coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) es una hortaliza perteneciente a la familia Brassicaceae. Es un cultivo de gran importancia económica, ya que es una de las bráscicas de mayor consumo a nivel nacional y mundial, en conjunto con el repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*) y el brócoli (*Brassica oleracea* var. *itálica*) (Aljaro, 2000).

Es una hortaliza anual. Presenta dos épocas de plantación; primavera- verano y verano-otoño. En la zona central de Chile, la variedad primaveral se trasplanta entre agosto y noviembre, mientras que para la variedad otoñal es entre diciembre y febrero (González, 2012). Se suele cultivar por almácigo. La temperatura óptima de germinación es de 20 a 30°C, mientras que el rango óptimo de crecimiento es de 20 a 25 °C (Maroto *et al.*, 2007).

A nivel nacional, fue la segunda bráscica con mayor área de cultivo en el 2017, con aproximadamente 1.500 (ha), siendo superada por el repollo, tal como se observa en el anexo 1.

Se ha de mencionar que entre el año 2016 y 2017, la producción de coliflor a nivel nacional aumentó en un 23%, pasando de 1.251,7 (ha) a 1.539,6 (ha), destacándose la región de Coquimbo, que incrementó en un 187,8% la superficie de cultivo (Eguillor, 2018).

5.2. Chinche pintada

La chinche pintada (*B. hilaris*) es una plaga agrícola, originaria de África y se ha expandido por el sudeste de Asia y Europa. El año 2008 fue registrada por primera vez en América, en Estados Unidos (Reed *et al.*, 2013). En septiembre del año 2016, se registró en Chile por primera vez (Faúndez *et al.*, 2016).

5.2.1. Morfología y ciclo de vida de la chinche pintada

B. hilaris pertenece a la familia Pentatomidae.

Sus huevos, con forma de barril, cambian de color crema a rojo oscuro con el paso del tiempo. Miden entre 0,8 – 1 mm de diámetro. Se caracterizan por ser colocados individualmente bajo el suelo o en grupos de cerca de 15 huevos, escondidos entre el material vegetal de los hospederos (Taylor *et al.*, 2015).

Posee cinco estados ninfales. Las ninfas son terrestres y ápteras hasta el tercer estado ninfal (Taylor *et al.*, 2015). Sus cuerpos elípticos van cambiando de color, pasando de rojizos a café oscuro y adquieren su patrón característico, tal como se observa en fig. 1.

Los adultos miden entre 5 a 7 mm, siendo la hembra de mayor tamaño que el macho. Posee un exoesqueleto de coloración negra con un patrón característico de manchas blancas y anaranjadas (Azim & Shafee, 1986).

El ciclo de vida de la chinche pintada dura aproximadamente 33 días a una temperatura de 28 °C (Azim & Shafee, 1986). El insecto sobrevive en el rango de temperatura de 16 - 40 °C. Sin embargo, sus huevos y el primer estado ninfal, no sobreviven a temperaturas menores a 20 °C (Taylor *et al.*, 2015).

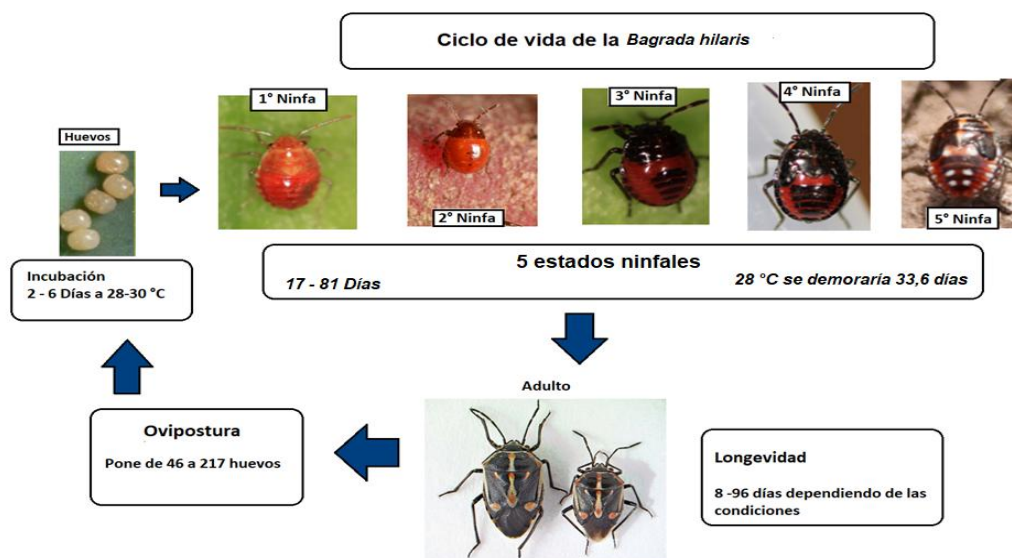


Figura 1: Ciclo de vida de *B. hilaris*.

Fuente: Elaboración propia

5.2.2. Daños y hospederos

La chinche pintada es un insecto polífago, atacando a 70 especies de 23 familias diferentes (Palumbo *et al.*, 2016). Se alimenta enterrando su estilete en las capas de células epidermales, provocando manchas cloróticas circulares o estrelladas (Huang *et al.*, 2014). Al alimentarse de los meristemas apicales del coliflor causa la malformación de la pella, provocando la aparición de pellas acéfalas (Palumbo & Natwick, 2010).

Según Palumbo *et al.* (2016) el proceso de selección de los hospederos es apoyado por la presencia de volátiles que ayudan tanto al reconocimiento, como a la selección del hospedero apropiado.

5.2.3. Control de la plaga

El método más eficiente para minimizar los daños de la plaga ha sido el uso de pesticidas, dado que los demás métodos de control no se han desarrollado. Esta plaga no presenta enemigos naturales conocidos en Chile o Estados Unidos (Palumbo *et al.*, 2016). Además, no existen sistema de trampeo que apoyen al monitoreo.

5.2.3.1. Control Químico

A nivel mundial, el método más eficiente para controlar la plaga ha sido el control químico. Los insecticidas más utilizados han sido carbamatos, neonicotinoides, piretroides y organofosfatados (Palumbo *et al.*, 2016).

El año 2017, SAG publicó una lista de pesticidas químicos autorizados para el control de la plaga. Sin embargo, INIA descubrió que, de los 34 productos propuestos, sólo el 41% presentó un control de, al menos el 65% de la población de la plaga, consistiendo mayoritariamente de piretroides (Bierwirth, 2018).

Esta situación es compleja, ya que, si bien los piretroides son de acción rápida, es necesario aplicar varias veces durante la temporada para mantenerla controlada, pero esta solución resulta ser tóxica para insectos benéficos, tal como se observa en el anexo 2.

5.3. Características de los monoterpenos

Los monoterpenos son los componentes más importantes de los aceites esenciales. Corresponden a terpenos de 10 carbonos unidos a diferentes grupos funcionales, los que les otorgan sus diversas características. Son productos volátiles, de bajo peso molecular y de naturaleza lipofílica (Tripathi *et al.*, 2009).

Estos compuestos intervienen de manera activa en la relación planta-insecto, ya que afectan directamente en los procesos metabólicos de los insectos y alteran el proceso de búsqueda del hospedero. Muchos de ellos presentan propiedades de defensa directa e indirecta, siendo el geraniol y el eugenol casos conocidos por su acción insecticida y repelente (Tripathi *et al.*, 2009).

5.3.1. Geraniol

El geraniol es un alcohol monoterpeno acíclico. Está presente en diferentes aceites esenciales, tal como el palmarosa (*Cymbopogon martini*), citronella (*Cymbopogon nardus*) y ninde (*Aeollanthus myrianthus*) (Chen & Viljoen, 2010).

El geraniol afecta de manera neurofisiológica. Al ingresar al cuerpo, provoca un efecto bifásico. Price & Berry (2006) determinaron que en cucarachas (*Periplaneta americana*), a concentraciones mayores a $2 \cdot 10^{-3}$ (M), actúa inhibiendo la producción de impulsos neuronales creados por la detección de estímulos químicos y espontáneos. Sin embargo, a concentraciones menores, producía un aumento de los impulsos, creando contracciones en el tracto digestivo.

Al ser usado como repelente, los insectos son capaces de detectarlos con sus sensores olfativos, ubicados principalmente en las antenas, provocando una interrupción en la búsqueda de los hospederos (Bernay & Chapman, 1994).

Las propiedades repelentes e insecticidas del geraniol han sido estudiadas en diferentes plagas agrícolas, tales en gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*), mosquito (*Aedes aegypti*) (Reis *et al.*, 2016; Müller *et al.*, 2009), afectando directamente los procesos de búsqueda y selección del hospedero.

El geraniol ha sido estudiado en especies de chinches. Zhang *et al.* (2014) utilizaron el geraniol como repelente para adultos del chinche apestoso (*Halyomorpha halys*), el cual presentó un porcentaje de repelencia entre 60 – 85%.

5.3.2. Eugenol

El eugenol es un monoterpenoide fenólico y es el principal componente del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum* (L.)) y la canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) (Raja *et al.*, 2015)

El eugenol es conocido por sus propiedades insecticidas, fungicidas y repelentes. Actúa sobre los receptores de octopamina. El eugenol, sustituye a la octopamina y, en bajas concentraciones causa un incremento del cAMP provocando aceleración cardíaca. En altas concentraciones reduce la producción del cAMP, lo que reduce la actividad neuronal y afecta el funcionamiento del sistema nervioso (Price & Berry, 2006).

Múltiples autores han comprobado la acción insecticida y repelente del eugenol en diferentes insectos, tales como el gorgojo del trigo (*Sitophilus granarius*) y la cucaracha americana (*Periplaneta americana*) (Plata-Rueda *et al.*, 2018; Price & Berry, 2006). Además, Zhang *et al.* (2014) utilizó el eugenol en contra del chinche apestoso, obteniendo un porcentaje de repelencia entre 72-99%.

6. Materiales y métodos

6.1. Antecedentes generales

La investigación será realizada en los laboratorios pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agronómicas y de los Alimentos de la PUCV, ubicada en La Palma s/n, Quillota, Chile. El proyecto se dividirá en 5 etapas y durará 16 meses aproximadamente.

El material vegetal corresponderá a plantines de coliflor de la variedad Incline, la cual es una variedad de alto consumo, intermedia (90 días), con una buena resistencia a las condiciones climáticas frías. El cultivo se mantendrá en invernadero metálico marca Richel ® con control climático, manteniendo una temperatura media de 20 a 25 °C (Maroto *et al.*, 2007) y se producirán en grupos, acorde a las necesidades de consumo y para los ensayos.

Los monoterpenos que se han de usar en los ensayos, serán geraniol con un 99,0% de pureza y eugenol con un 99,6% de pureza. Ambos serán comprados a la empresa Sigma-Aldrich Santiago, con su respectivo análisis de pureza química.

6.2. ETAPA I: Captura y crianza de la chinche pintada (*B. hilaris*)

La captura de insectos adultos de ambos sexos se realizará de noviembre a enero en el sector de Quillota, priorizando en sectores con presencia de malezas de la familia Brassicacea.

Se iniciará con la búsqueda de sectores con ejemplares brásicas silvestres, que presenten síntomas de la presencia de la plaga. Luego se buscarán adultos en estado reproductivo. Estos serán atrapados de manera manual y guardados en frascos. Se requerirán un mínimo de 200 parejas de chinches.

Los ejemplares adultos se mantendrán en contenedores en cámaras de cría (25 °C±3 °C, 45±5% H.R., Fotoperíodo 16L: 8O), con disponibilidad de agua y alimento, los que serán repuestos cada 2 a 3 días. Se alimentarán con hojas de coliflor.

Una vez a la semana se revisarán las cámaras, buscando huevos y ninfas, los que se sacarán del contenedor y mantendrán separados en otro contenedor, con el mismo sistema de mantención.

6.3. ETAPA II: Degradación de los monoterpenos

Los monoterpenos son compuestos volátiles, por ello, se solicitará al laboratorio Bioquímico de la Universidad de Valparaíso, determinar las curvas de degradación de ambos compuestos, utilizando una Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC). Esto permite la identificación de los compuestos presentes. Luego, con la ayuda de sistemas de calibración y comparación con muestras estándar, es posible determinar la concentración de los compuestos (Piyal, 2008).

6.4. ETAPA III: Evaluación de propiedades de monoterpenos

Esta etapa comenzará cuatro meses después de iniciar la cría de *B. hilaris*. Constará de dos actividades con dos ensayos cada uno, realizado en los Laboratorios de la Escuela de Agronomía de la PUCV.

6.4.1. ACTIVIDAD 1. Acción insecticida de los monoterpenos

La actividad estudiará la acción insecticida de ambos monoterpenos contra la *B. hilaris* y constará en dos ensayos, evaluando a los monoterpenos por separado, pero utilizando el mismo procedimiento para cada uno. El método se basa en lo descrito por Reis *et al.* (2016), para obtener las CL₅₀ y CL₉₀ del geraniol y eugenol para la plaga.

Los tratamientos (anexo 3) se obtendrán al mezclar los monoterpenos con acetona. En placas Petri (90 mm x 15 mm) se colocarán cuatro hojas jóvenes de coliflor, cultivar Incline, los que previamente serán humedecidos con los diferentes tratamientos. En cada placa se colocarán 10 ejemplares de ninfas entre los estadios 2 y 4 y se sellarán durante el resto del experimento, a fin de reducir la velocidad de volatilización de los monoterpenos.

6.4.1.1. Evaluaciones y análisis de datos

Las placas serán examinadas por 72 horas, evaluando la acción de los monoterpenos, por medio de la mortalidad y sobrevivencia de las ninfas. En el ensayo de geraniol, se identificarán las ninfas muertas y anotará el número de ninjas muertas y vivas, cada 6 hrs. Mientras que en el ensayo de eugenol, el recuento será cada 4 h.

La mortalidad será analizada por medio del método Probit a fin de utilizar regresión no lineal para obtener las concentraciones letales. Para obtener la eficacia del insecticida se recurrirá a la fórmula de Abbott (anexo 4), que utiliza la sobrevivencia de las ninfas

6.4.2. ACTIVIDAD II: Repelencia de los monoterpenos sobre adultos de *B. hilaris*

Esta actividad medirá la capacidad repelente de los monoterpenos contra el chinche pintado. Constará de dos ensayos, evaluando a los monoterpenos por separado, utilizando el método propuesto por Plata-Rueda *et al.* (2018), con las respectivas modificaciones.

Los ensayos tienen 6 tratamientos diferentes, los que se exponen en el anexo 5.

El ensayo se realizará en placas Petri (90 mm x 15 mm). Allí se colocará un cuadrado (20 x 20 mm) de papel filtro, previamente humedecido con los tratamientos a utilizar. Luego se ubicará un ejemplar adulto de *B. hilaris* en el centro de cada una de las placas, las que se sellarán para evitar el escape de los insectos. El comportamiento del adulto será observado y grabado durante un período de 10 minutos.

6.4.2.1. Evaluaciones y análisis de datos

Para evaluar el comportamiento del insecto frente a los productos, se estudiarán las grabaciones con un programa de seguimiento de imágenes (Viewpoint, Lifescience), analizando la distancia recorrida por el insecto, y la repelencia, representado por tiempo promedio que el insecto se posó sobre el papel filtro. Se considerarán repelidos aquellos que pasen menos del 20% del tiempo total sobre el papel filtro.

El porcentaje de repelencia se obtendrá por la fórmula de Cao *et al.* (2018) y clasificada acorde a la tabla de porcentaje de repelencia (anexo 6).

Los datos, se analizarán por ANOVA y sometidos a la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0,05$).

$$PC = [(Nc - Nt) / (Nc - Nt)] \times 100$$

Donde,
Nc es el número de insectos repelidos por el control
Nt es el número de insectos repelidos por el tratamiento

Fig.2. Formula de porcentaje de repelencia

Fuente: Cao *et al.* (2018)

6.4.3. Diseño experimental

Los ensayos de ambas actividades tendrán diseño completamente al azar.

En la actividad 1, los ensayos tendrán 7 tratamientos con 6 repeticiones cada uno. Por otro lado, los ensayos de la actividad 2 corresponderán a 6 tratamientos con 10 repeticiones. La unidad de experimental corresponde a una placa con un insecto

6.5. ETAPA IV: Efectividad de monoterpenos en cultivo

El ensayo comparará la efectividad de los biopesticidas en la protección del cultivo, bajo condiciones de invernadero, utilizando seis tratamientos, obtenidos de los ensayos anteriores (Tabla 2).

En un invernadero (25 ± 5 °C), se colocarán plantines de coliflor, variedad Incline, en maceteros. Los plantines serán rociados con los tratamientos durante la mañana y a no más de 1 hora antes del inicio de ensayo.

Posteriormente, se colocarán 6 insectos adultos y 10 ninfas en ayunas en el suelo de las plantas de cada maceta. Luego, serán sellados con malla antiáfidos, individualizando cada planta.

Tabla 2: Tratamientos para ensayo de eficiencia de pesticida

Tratamiento	Dosis y Producto
T ₁	CL ₅₀ de geraniol
T ₂	CL ₅₀ de eugenol
T ₃	CL ₉₀ de geraniol
T ₄	CL ₉₀ de eugenol
T ₅	Concentración repelente de geraniol
T ₆	Concentración repelente de eugenol

Fuente: Elaboración propia

6.5.1. Evaluaciones y análisis de datos

Se revisarán las macetas cada 6 horas durante 72 horas. En ellas, se contará el número de insectos vivos, a fin de calcular la eficacia del monoterpeno y se fotografiarán las hojas dañadas, para obtener el daño foliar.

El daño foliar se caracteriza por manchas blanquecinas en las hojas y se medirá el porcentaje de la hoja que las presenta, caracterizándose acorde al método de escala de

ataque expuesto en Silva *et al.* (2003), el cual se encuentra en el anexo 7. Los datos serán analizados con ANOVA y sometidos a la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0,05$).

La eficacia como insecticida se medirá con el método de Abbott, con el cual se analizará el comportamiento sobre ninfas y adultos de manera separada. La fórmula de porcentaje de eficacia se encuentra en el anexo 4.

6.5.2. Diseño experimental

Corresponderá a un ensayo completamente aleatorio, de 6 tratamientos con 7 repeticiones. La unidad experimental corresponde a cada planta.

6.6. ETAPA V: Difusión de la Información

Para finalizar el proyecto se pretende exponer la información obtenida a las entidades públicas o privadas, así como personas naturales interesadas en la materia.

De modo de difundir la información obtenida se desarrollarán artículos científicos, los que serán publicados en revistas especializadas.

7. Referencias Bibliográficas

- Aljaro A. 2000. Cultivos de brásicas: repollo, coliflor, brócoli, repollito de Bruselas. Tierra adentro N° 34 p.12-13.
- Azim A. and A. Shafee .1986. The life cycle of *Bagrada picta* (Fabricius). Articulata, Bd. 2, Folge 8: 261-265.
- Bernay E. and R. Chapman. 1994. Host plant selection by phytophagous insects. 312 p. Edition Chapman and Hall. New York, EEUU.
- Bierwirth F. 2018. El aporte de INIA en el combate a la Chinche pintada. Noticias INIA La Platina. Disponible en <http://www.inia.cl/blog/2018/03/06/el-aporte-de-inia-en-el-combate-a-la-chinche-pintada/> Leído 23 abril del 2018
- Cao J., S. Guo, Y. Wang, X. Pang, Z. Geng and S. Du .2018. Toxicity and repellency of essential oil from *Evodia lenticellata* Huang fruits and its major monoterpenes against three stored-product insects. Ecotoxicology and Environmental Safety 160: 342-348.
- Chen W. and A. Viljoen. 2010. Geraniol- A review of a commercially important fragrance material. South African Journal of Botany 76: 643–651.
- Eguillor, P. 2018. Boletín de hortalizas frescas de mayo del 2018. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Disponible en <https://www.odepa.gob.cl/contenidos-rubro/boletines-del-rubro/boletin-de-hortalizas-frescas-mayo-de-2018> Leída 6 julio del 2018
- Faúndez E., A. Lüer, A. Cuevas, D. Rider and P. Valdebenito. 2016. First record of the painted bug *Bagrada hilaris* (Bumesister, 1835) (Heteroptera: Pentatomidae) in South America. Arquivos Entomológicos 16:175-179.
- Grasswitz T. 2016. Laboratory evaluation of predation rates of two native natural enemies on the exotic pest *Bagrada hilaris*. Journal of Applied Entomology 140: 744–756.
- González M. 2012. Nuevas Fichas Hortícolas. Boletín INIA N° 246. 58 p. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Chillán, Chile.

- Huang T., D. Reed, T. Perring and J. Palumbo. 2014. Host selection behavior of *Bagrada hilaris* (Hemiptera: Pentatomidae) on commercial cruciferous host plants. *Crop Prot.* 59: 7–1.
- Maroto J., F. Pomares y C. Baixauli. 2007. Cultivo de la coliflor y el brócoli. 404 p. Editorial Mundiprensa, Madrid, España.
- Müller G., A. Junnila, J. Butler, V. Kravchenko, E. Revay, R. Weiss and Y. Schlein. 2009. Efficacy of the botanical repellents geraniol, linalool, and citronella against mosquitoes. *Journal of Vector Ecology* 34 (1): 2-8.
- Palumbo J., T. Perring, J. Millar and D. Reed. 2016. Biology, ecology and Management of an Invasive Stink Bug, *Bagrada hilaris* in North America. 23 p. *Annual Review of Entomology* 62: 453-473.
- Palumbo J. and E. Natwick. 2010. The Bagrada Bug (Hemiptera: Pentatomidae): A new invasive pest of cole crops in Arizona and California. *Plant Health Progress*. DOI: 10.1094
- Piyal A. 2008. Determination of Thermally Unstable Pesticides in Drinking Water by HPLC with Confirmation of UV/Visible Spectrum. 8p. Central Engineering Consultancy Bureau. Colombo, Sri Lanka. DOI: 10.13140.
- Plata-Rueda A., J. Mendonça, G. Da Silva, L. Martínez, M. Dos Santos, F. Lemes, J. Serrão and J. Zanuncio. 2018. Terpenoids constituents of cinnamon and clove essential oils cause toxic effects and behavior repellency response on granary weevil, *Sitophilus granarius*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 156: 263 – 270.
- Price D. and M. Berry. 2006. Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. *Jou. Insect Physiol* 52 (3): 309-319.
- Raja M., V. Srinivasan, S. Selvaraj, and S. Mahapatra. 2015. Versatile and Synergistic potential of Eugenol: A review. *Pham anal. Acta* 6:367.

- Reed D., J. Palumbo, T. Perring and C. May. 2013. *Bagrada hilaris* (Hemiptera: Pentatomidae) an invasive stink bug attacking cole crops in the southwestern United States. *J. Integr. Pest Manag.* 4(3):2013.
- Reis S., A. Mantello, J. Macedo, E. Gelfuso, C. Da Silva, A. Fachin, A. Cardoso and R. Beleboni. 2016. Typical Monoterpenes as Insecticides and Repellents against Stored Grain Pests. *Molecules* 21, 258; doi: 10.3390
- SAG. 2018a. Plagas presentes cuarentenarias (bajo control oficial): *Bagrada hilaris* o chinche pintada. Servicio Agrícola y Ganadero. Disponible en <http://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/bagrada-hilaris-o-chinche-pintada>. Leído 27 de marzo 2018.
- SAG. 2018b. Lista de plaguicidas autorizados para el control oficial de *Bagrada hilaris*. Servicio Agrícola y Ganadero. Disponible en <http://www.sag.gob.cl/content/lista-de-plaguicidas-autorizados-para-el-control-oficial-de-bagrada-hilaris>. Leído 24 mayo del 2018.
- Shimat J., I. Grettenberger and L. Godfrey. 2016. Insecticides applied to soil of transplant plugs for *Bagrada hilaris* (Burmeister) (Hemiptera: Pentatomidae) management in broccoli. *Crop Protection* 87: 68-77.
- Silva G., C. Rodriguez y D. Pizarro. 2003. Evaluación de insecticidas en laboratorio. En Silva G. y R. Hepp (Ed.) Bases para el manejo Racional de Insecticidas. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía/ Fundación para la Innovación Agraria (FIA). Chillán, Chile.
- Taylor M., C. Bundy and J. McPherson. 2015. Life history and Laboratory rearing of *Bagrada hilaris* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) with descriptions of immature stages. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 108(4): 536–551.
- Tripathi, A., S. Upadhyay, M. Bhuiyan and P. Bhattacharya. 2009. A Review on Prospects of Essential Oils as Biopesticides in Insect-Pest Management. *Journal of Pharmacology and Phytotherapy*, 1, 52-63.

Zhang Q., R. Schneidmiller, D. Hoover, G. Zhou, A. Margaryan and P. Bryant. 2014. Essential oils as spatial repellents for the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Stal) (Hemiptera: Pentatomidae). J. Appl. Entomol. 138 490–499.

8. Plan de Trabajo

La investigación se desarrollará durante 14 meses. Comenzando en agosto del 2020 y finalizando en diciembre del 2021. Se definen cinco etapas principales. Las etapas 1 y 2 se realizarán desde noviembre del 2020 hasta marzo del 2021, mientras que las etapas 3 y 4, desde marzo a agosto del 2021, para finalizar con la última etapa en diciembre.

Al inicio de proyecto se planificará y se llevará a cabo la instalación de la infraestructura necesaria para los ensayos. También se procederá a seleccionar y contratar al personal, además de gestionar la compra de los insumos.

Una vez dispuesto lo anterior, se iniciará con la etapa 1. La captura se desarrollará entre los meses de noviembre a febrero, mientras que la crianza se mantendrá durante todo el periodo del proyecto. La siembra de coliflor iniciará en septiembre del 2020.

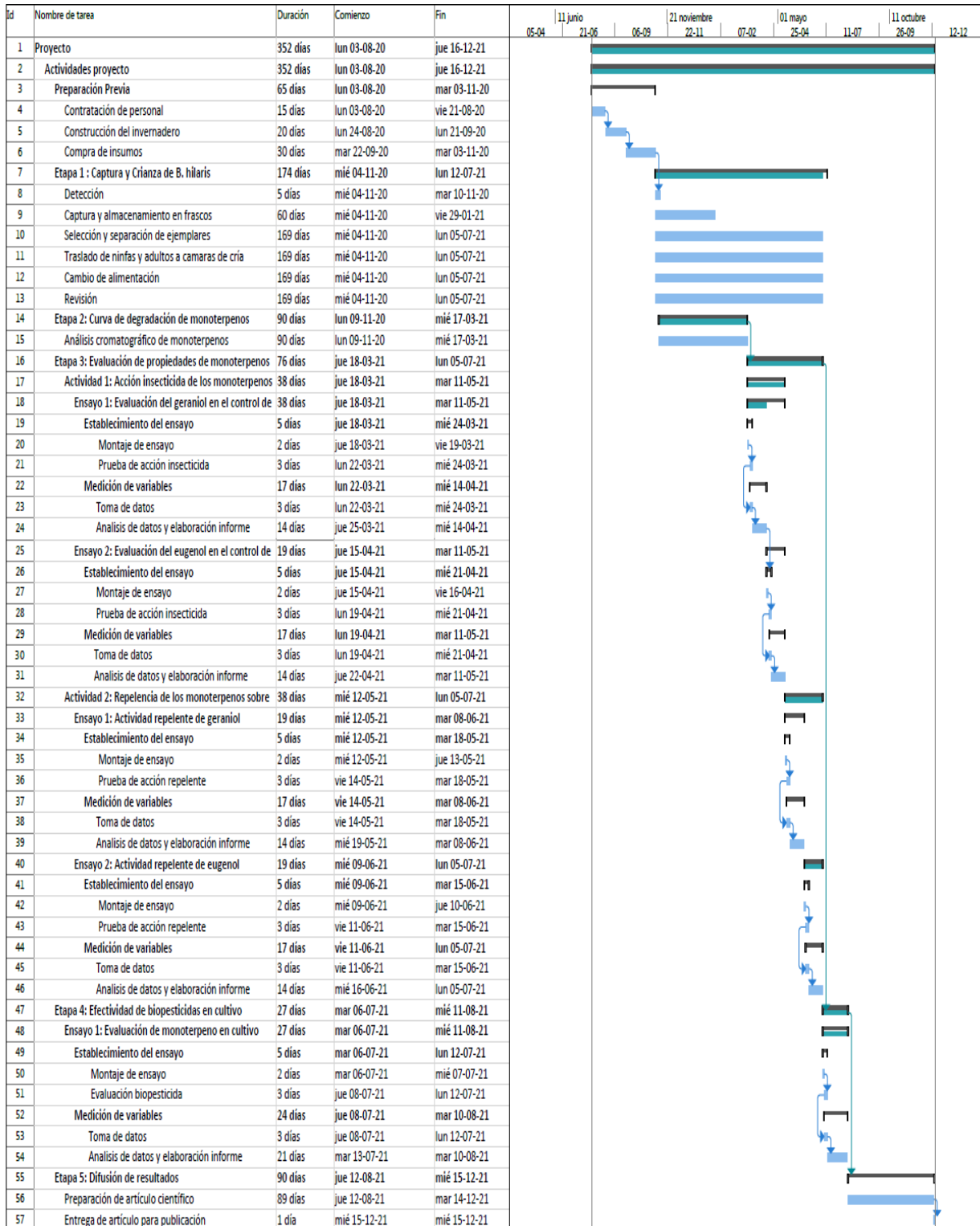
En paralelo, se realizará la etapa 2, esperando los resultados del laboratorio para el mes de marzo del 2021.

En marzo se iniciará con la etapa 3 que consta de dos actividades, con dos ensayos cada una. Estos ensayos durarán un mes. La actividad 2 se iniciará posteriormente al término de la actividad 1 y al que la anterior, se realizarán en el plazo de un mes. La información entregada en ambos informes es necesaria para la etapa 3, por lo que debe estar lista para tal momento.

En julio del 2021, se iniciará con la etapa 4. Esta etapa se demorará un mes.

Una vez obtenidos todos los resultados, se procederá a preparar los artículos de difusión, el cual debe ser terminado y entregado para su publicación en diciembre del 2021.

9. Carta Gantt



10. Resultados esperados

Objetivo	Resultado esperado
<p>Evaluar el efecto insecticida de diferentes concentraciones de monoterpenos sobre las ninfas de <i>B. hilaris</i> en condiciones de laboratorio.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Comprobar el efecto insecticida de los monoterpenos sobre la plaga. - Obtener las concentraciones letales de ambos productos, a fin de permitir el uso eficiente de los monoterpenos.
<p>Evaluar el efecto repelente de diferentes concentraciones de monoterpenos sobre los adultos de <i>B. hilaris</i> en condiciones de laboratorio.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Comprobar la acción repelente de los monoterpenos sobre la plaga. - Obtener una concentración que provoque una repelencia de al menos el 70% de la población.
<p>Evaluar la efectividad de los diferentes monoterpenos sobre adultos y ninfas de <i>B. hilaris</i> en plantines de coliflor.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Reducir el daño foliar en los plantines entre un 50 a 80%.

11. Organización: Cargos y funciones

Formación /grado académico	Cargo en el proyecto	Funciones (Nº)	Costo del personal (MM\$)	Aporte FONDO CONCURSABLE (MM\$)
Ingeniero Agrónomo	Director y Jefe de Crianza	<p>Dirigir la totalidad del proyecto, es decir, formulación, planificación, ejecución y supervisión.</p> <p>Elaboración de informes.</p> <p>Autorizar compra de insumos</p> <p>Encargado de captura y crianza de los insectos.</p> <p>Toma de muestras, revisión de variables, registrar y entregar datos obtenidos.</p>	10,4	10,4
Ingeniero Agrónomo	Jefe de Campo	<p>Diseñar y establecer cultivo en invernadero.</p> <p>Montar y supervisar los ensayos de invernadero.</p> <p>Toma de muestras, revisión de variables, registrar y entregar datos obtenidos.</p> <p>Elaboración de informes.</p> <p>Compra de insumos.</p>	10,4	10,4
Técnico Agrícola	Operario en Invernadero	Mantenimiento del cultivo, colaborar con las tareas de campo y apoyo en los ensayos.	6,6	6,6
Técnico Agrícola	Operario en Laboratorio	Colaborar con las tareas del laboratorio, incluida la crianza, apoyo en el desarrollo de los ensayos.	5,4	5,4

12. Presupuesto

12.1. Presupuesto total por cuenta (MM\$)

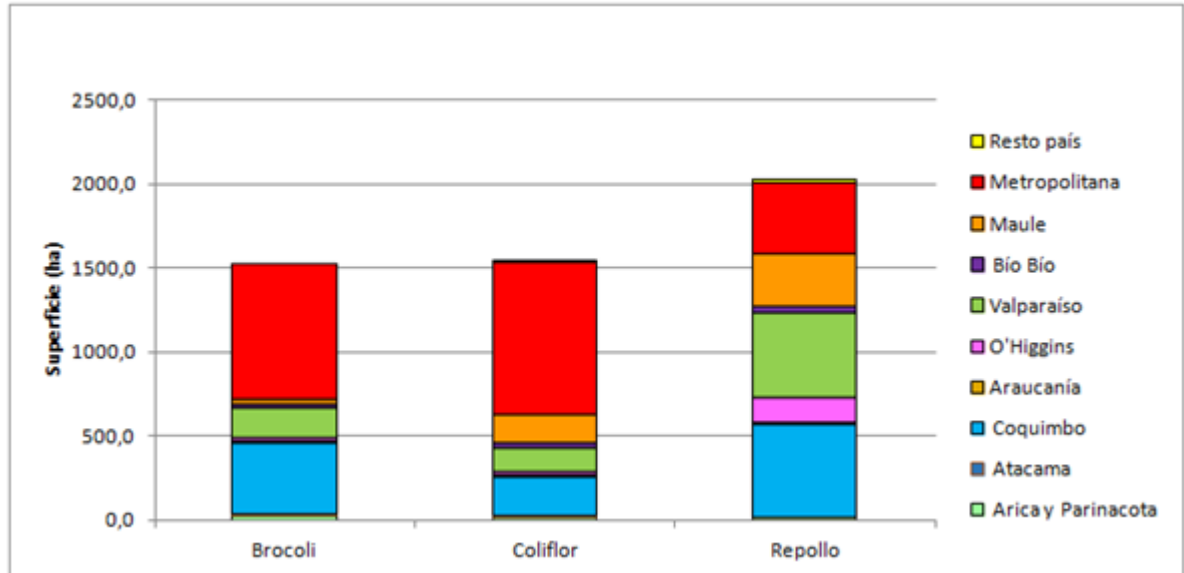
	Cuenta	FONDO CONCURSABLE	APORTE EMPRESA		Total (MM\$)
			Pecuniario	No pecuniario	
A	Total Recursos humanos	32,80	0	0	32,80
B	Total subcontratos	10,30	0	0	10,30
C	Total capacitación	0	0	0	0
D	Total misiones tecnológicas	0	0	0	0
E	Total difusión	0	0	0	0
F	Total Gastos de inversión	15,66	0	2,30	17,96
G	Total gastos de operación	10,24	0	7,79	18,03
H	Total gastos de administración	5,87	0	2,28	8,15
I.	Imprevistos (10%)	7,48	0	0	7,48
	Porcentaje de aporte (%)	80%	-	20%	100%
TOTAL (MM\$)		82,35	0	12,37	94,72

12.2. Presupuesto total por año (MM\$)

	Cuenta	Año 1	Año 2	Total (MM\$)
A.	Total de Recursos Humanos	8,80	24,00	32,80
	<i>Pecuniario</i>	8,80	24,00	32,80
	<i>No pecuniario</i>	-	-	-
B.	Total Subcontratos	9,20	1,10	10,30
	<i>Pecuniario</i>	9,20	1,10	10,30
	<i>No pecuniario</i>	-	-	-
C.	Total Capacitación	-	-	-
	<i>Pecuniario</i>	-	-	-
	<i>No pecuniario</i>	-	-	-
D.	Total Misiones tecnológicas	-	-	-
	<i>Pecuniario</i>	-	-	-
	<i>No pecuniario</i>	-	-	-
E.	Total Difusión	-	-	-
	<i>Pecuniario</i>	-	-	-
	<i>No pecuniario</i>	-	-	-
F.	Total Gastos de Inversión	17,96	-	17,96
	<i>Pecuniario</i>	15,66	-	15,66
	<i>No pecuniario</i>	2,30	-	2,30
G.	Total gastos de operación	3,72	14,31	18,03
	<i>Pecuniario</i>	1,60	8,64	10,24
	<i>No pecuniario</i>	2,12	5,67	7,79
H.	Total gastos administración	2,09	6,06	8,15
	<i>Pecuniario</i>	1,27	4,60	5,87
	<i>No pecuniario</i>	0,82	1,46	2,28
I.	Total gastos de Imprevistos	3,65	3,83	7,48
	<i>Pecuniario</i>	3,65	3,83	7,48
	<i>No pecuniario</i>	-	-	-
	Total (MM\$)	45,42	49,30	94,72
	<i>Pecuniario</i>	40,18	42,17	82,35
	<i>No pecuniario</i>	5,24	7,13	12,37

13. Anexos

Anexo 1: Superficie Nacional de Brásicas durante el 2017



Fuente: Elaboración propia con datos de ODEPA, 2018

Anexo 2: Tabla de plaguicidas SAG para el control de *B. hiliaris*.

Nombre comercial	Grupo Químico	Ingrediente activo	Período de protección (días)	Aplica. por temporada	Tóxico para abejas
Bifentrin 10 EC	Piretroides	Bifentrina	5 a 7	Hasta 6	Tóxico
Talstar 10 EC	Piretroides	Bifentrina	7	5	Tóxico
Invicto 50 CS	Piretroides	Lambda-cihalotrina	7 a 14	4	Tóxico
Karate con tecnología Zeon	Piretroides	Lambda-cihalotrina	7 a 16	4	Tóxico abeja y Bombus
Balazo 90 SP	Carbamatos	Metomilo	7	1	Tóxico
Engeo 247	Neonicotinoides/ Piretroides	Tiametoxam/ Lambdacihalotrina	7 a 16	3	Tóxico
Clorpirifos 48% CE	Organofosfatados	Clorpirifós	15	2	Tóxico

Fuente: Elaboración propia con datos de SAG (2018)

Anexo 3: Concentraciones de geraniol y eugenol para ensayo de acción insecticida

Tabla 1: Concentraciones de geraniol para ensayo de acción insecticida.

Tratamientos	Producto y dosis
T ₀	Hojas humedecidas con acetona
T ₁	Hojas humedecidas con una dilución al 5 x10 ⁻² µL de geraniol (99%)
T ₂	Hojas humedecidas con una dilución al 1 µL de geraniol (99%)
T ₃	Hojas humedecidas con una dilución al 2 µL de geraniol (99%)
T ₄	Hojas humedecidas con una dilución al 8 µL de geraniol (99%)
T ₅	Hojas humedecidas con una dilución al 16 µL de geraniol (99%)
T ₆	Hojas humedecidas con una dilución al 25 µL de geraniol (99%)

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2: Concentraciones de eugenol para ensayo de acción insecticida.

Tratamiento	Producto y Dosis
T ₀	Hojas asperjadas con acetona
T ₁	Hojas asperjadas con una dilución al 5x10 ⁻² µL de eugenol (99%)
T ₂	Hojas asperjadas con una dilución al 1 µL de eugenol (99%)
T ₃	Hojas asperjadas con una dilución al 2 µL de eugenol (99%)
T ₄	Hojas asperjadas con una dilución al 4 µL de eugenol (99%)
T ₅	Hojas asperjadas con una dilución al 8 µL de eugenol (99%)
T ₆	Hojas asperjadas con una dilución al 16 µL de eugenol (99%)

Fuente: Elaboración propia

Anexo 4: Fórmula de porcentaje de eficacia de Abbott (1925)

$$\% \text{ Eficacia} = \frac{\text{Individuos vivos en el testigo} - \text{Individuos vivos en el tratado}}{\text{Individuos vivos en el testigo}} \times 100$$

Fuente: Silva et al. (2003)

Anexo 5: Concentraciones de geraniol y eugenol para ensayo de acción repelente

Tabla 1: Concentraciones de geraniol para ensayo de acción repelente.

Tratamientos	Producto y dosis
T ₀	Papel humedecido con acetona
T ₁	Papel humedecido con una dilución de 1 μ L de geraniol (99%)
T ₂	Papel humedecido con una dilución de 4 μ L de geraniol (99%)
T ₃	Papel humedecido con una dilución de 8 μ L de geraniol (99%)
T ₄	Papel humedecido con una dilución de 16 μ L de geraniol (99%)
T ₅	Papel humedecido con una dilución de 32 μ L de geraniol (99%)

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2: Concentraciones de eugenol para ensayo de acción repelente.

Tratamientos	
T ₀	Papel humedecido con acetona
T ₁	Papel humedecido con una dilución de 2 μ L de eugenol
T ₂	Papel humedecido con una dilución de 4 μ L de eugenol
T ₃	Papel humedecido con una dilución de 8 μ L de eugenol
T ₄	Papel humedecido con una dilución de 16 μ L de eugenol
T ₅	Papel humedecido con una dilución de 32 μ L de eugenol

Fuente: Elaboración propia

Anexo 6: Tabla de porcentaje de repelencia de Cao *et al.* (2018).

Clase	Porcentaje de repelencia
0	< 0,1
I	0,1 – 20,0
II	20,1 – 40,0
III	40,1 – 60,0
IV	60,1 – 80,0
V	80,1 - 100

Fuente: Cao et al., 2018

Anexo 7: Categorías de daño en hojas según Silva *et al.* (2003)

Clase	Ataque	Factor
1	Sin ataque	0
2	< 10% superficie de la hoja dañada	0,1
3	10% - 30% superficie de la hoja dañada	0,3
4	31% - 50% superficie de la hoja dañada	0,5
5	51% - 70% superficie de la hoja dañada	0,7
6	>70% de la superficie de la hoja dañada	1,0

Fuente: Silva et al., 2003