

**FACULTAD DE
CIENCIAS AGRONÓMICAS
Y DE LOS ALIMENTOS**



**PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE
VALPARAÍSO**

TALLER DE TÍTULO

PROYECTO DE INNOVACIÓN

Uso de dos especies de *Trichogramma* para el manejo de *Plutella xylostella* en cultivos de *Brassica oleracea* y estrategias para potenciar sus resultados

NINOSKA ROCÍO ROJAS GÁLVEZ

QUILLOTA, CHILE

2019

ÍNDICE

| | | |
|----|--|----|
| 1. | Resumen | 4 |
| 2. | Definición del problema u oportunidad | 5 |
| 3. | Hipótesis | 8 |
| | 3.1. Justificación de la Hipótesis | 8 |
| 4. | Objetivos | 9 |
| | 4.1. Objetivo general | 9 |
| | 4.2. Objetivos específicos | 9 |
| 5. | Estado del arte | 10 |
| | 5.1. <i>Plutella xylostella</i> (Linneo) | 10 |
| | 5.1.1. Origen y distribución geográfica | 10 |
| | 5.1.2. Descripción morfológica y biología | 10 |
| | 5.1.3. Hospederos y daños | 11 |
| | 5.1.4. Mecanismos de resistencia | 11 |
| | 5.2. Métodos de control actual | 12 |
| | 5.2.1. Insecticidas químicos | 12 |
| | 5.2.2. Insecticidas biológicos | 13 |
| | 5.3. Control biológico | 13 |
| | 5.3.1. <i>Trichogramma</i> | 14 |
| 6. | Metodología | 16 |
| | 6.1. <u>Etapa 1:</u> Producción de insumos e información | 16 |
| | 6.1.1. Actividad 1: Cría y reproducción | 16 |
| | 6.1.2. Actividad 2: Selección de especies florales | 17 |
| | 6.2. <u>Etapa 2:</u> Evaluación de <i>Trichogramma</i> en laboratorio | 18 |
| | 6.2.1. Actividad 1: Desempeño de <i>Trichogramma</i> a distintas temperaturas | 18 |
| | 6.2.2. Actividad 2: Desempeño de <i>Trichogramma</i> con provisión de néctar | 19 |
| | 6.3. <u>Etapa 3:</u> <i>Trichogramma</i> con fuentes de néctar en condiciones de campo | 19 |
| | 6.3.1. Actividad 1: Liberación y proliferación de <i>Trichogramma</i> | 19 |
| | 6.4. <u>Etapa 4:</u> Implementación y transferencia de tecnología | 21 |
| | 6.4.1. Actividad 1: Implementación de módulos demostrativos | 21 |
| | 6.4.2. Actividad 2: Estrategias de difusión escrita | 21 |

| | | |
|------------------------------|-------|----|
| 7. Bibliografía | | 22 |
| 8. Plan de trabajo | | 26 |
| 8.1. Carta Gantt proyecto | | 27 |
| 9. Resultados esperados | | 28 |
| 10. Organización | | 29 |
| 10.1. Cargos y funciones | | 29 |
| 11. Presupuesto | | 30 |
| 11.1. Presupuesto por año | | 30 |
| 11.2. Presupuesto por cuenta | | 30 |
| 12. Anexos | | 31 |

1. Resumen

El presente proyecto pretende generar información y transferir la tecnología de una alternativa viable al manejo químico de la polilla de las crucíferas (*Plutella xylostella* L.), a través del control biológico con parasitoides.

Se evaluará la capacidad parasitoide de los microhimenópteros *Trichogramma nerudai* y *Trichogramma pretiosum*, nativo e introducido respectivamente, sobre poblaciones de *P. xylostella* en cultivos de *Brassica oleracea*. Asimismo, se determinará el efecto que tiene la presencia de un sistema de bandas florales proveedoras de néctar como fuente alternativa de alimento en su desempeño como controlador de esta plaga. Se espera obtener un control efectivo de ambos agentes biológicos, así como un aumento de la longevidad en más de 7 días y de su capacidad parasitoide o fecundidad cuando se les suministra néctar como fuente de alimento complementaria durante su período de actividad.

El proyecto constará de cuatro etapas, de las cuales la primera corresponde a la generación de insumos e información para los ensayos de control biológico a través de la cría de la plaga *P. xylostella* en cautiverio y de un análisis de néctar a una selección de seis especies florales con potencial para su uso como provisoras de alimento en terreno para reforzar la actividad parasitoide de las dos especies de *Trichogramma*. En la segunda etapa se realizarán dos ensayos de laboratorio en cámaras de crianza con condiciones controladas, para evaluar la actividad parasitoide de ambos agentes de control sometidos a temperaturas distintas, con y sin provisión de néctar. Posteriormente, la tercera etapa corresponde a la evaluación de la capacidad parasitoide de ambas especies en condiciones de campo, durante distintas épocas de cultivo en conjunto con sistemas de bandas florales, constando de 5 ciclos de ensayos realizados cada dos meses entre septiembre de 2020 y mayo de 2021. Por último, se realizará una transferencia de la información y tecnología a través de la implementación de módulos demostrativos en la Estación Experimental La Palma y en predios de preferencia orgánicos en la zona de Quillota. También se elaborará un manual informativo o boletín y se organizará un seminario donde se reúna y exponga toda la información y resultados obtenidos a partir de la ejecución del proyecto.

2. Definición del problema u oportunidad

La familia *Brassicaceae*, de aquí en adelante brasicáceas o crucíferas, agrupa alrededor de 375 géneros y 3200 especies (LeCoz y Ducombs, 2006). El género *Brassica*, perteneciente a esta familia, comprende alrededor de 159 especies, las cuales incluyen cultivos comestibles, ornamentales y diversas especies silvestres (Ahuja *et al.*, 2010).

En nuestro país, el cultivo de crucíferas incluye especies de gran importancia económica, tales como el repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*), coliflor (*B. oleracea* var. *botrytis*), brócoli (*B. oleracea* var. *italica*) y repollito de Bruselas (*B. oleracea* var. *gemmifera*); y este se extiende desde Arica a Punta Arenas, concentrándose la mayor parte en la zona central (Aljaro, 2000). Según datos de ODEPA, en el año 2017 la superficie nacional de hortalizas fue de 76.706 ha, de las cuales las tres principales crucíferas -repollo, coliflor y brócoli- correspondieron a 5.091 ha (7,2%).

Dentro de las plagas que atacan a este género, la polilla de las crucíferas (*Plutella xylostella* L.) actualmente es considerada la más frecuente, destructiva e importante a escala mundial (Furlong *et al.*, 2013). A nivel nacional, Olivares (2017) afirma que corresponde a una plaga clave debido a los daños que provoca en los cultivos.

En términos económicos, se calculan costos mundiales de 4 a 5 billones de dólares al año, incluyendo el manejo de la plaga y las pérdidas de rendimiento que ocasiona (Zalucki *et al.*, 2012). Constituye un importante desafío para la producción de brasicáceas vegetales (repollo, brócoli, coliflor) y también para las semillas oleaginosas como la canola, donde puede atacar desde el estado de plántula hasta la madurez del cultivo (Doddall, 2004). *P. xylostella* corresponde a una plaga altamente cosmopolita y está presente dondequiera que las crucíferas estén cultivadas (Shelton, 2004), tanto en Chile como en el mundo.

El daño al cultivo lo ejercen las larvas, cuando éstas nacen ingresan a las hojas y consumen su tejido interno para luego salir y alimentarse desde la superficie, pudiendo dejar las hojas completamente esqueletizadas cuando se presentan ataques severos (Apablaza, 1990). Es en la época estival cuando el insecto se desarrolla en condiciones

más favorables, llegando a convertirse en muchas ocasiones en un factor limitante para la producción de crucíferas en la región, por lo que algunos agricultores han preferido incluso no cultivarlas durante ese período (comunicación personal¹).

La gran mayoría de los cultivos de brasicáceas son tratados profilácticamente con insecticidas (Grzywacz *et al.*, 2010). Su empleo ha permitido, por una parte, el aumento de productividad y beneficios sanitarios en los cultivos, sin embargo, su uso irracional ha desencadenado en consecuencias adversas como el desarrollo de resistencia, mortalidad o efecto reducido de los enemigos naturales y fallas en el control de plagas (Talekar and Shelton, 1993; Sarfraz *et al.*, 2005); así como en otros fenómenos perjudiciales para el medioambiente y la salud humana (Osteen and Padgitt, 2002; DeBaptista, 2003).

Según el Comité de Acción para la Resistencia a los Insecticidas “IRAC” (2016), *P. xylostella* es una de las plagas más difíciles de manejar y debido a que por muchos años la aplicación continua de insecticidas ha sido su principal método de control, ha desarrollado resistencia a casi todos los compuestos activos, incluyendo aquellos más nuevos con distintos modos de acción. Esta polilla presenta características biológicas y ecológicas que favorecen su éxito e importancia como plaga, como la alta rotación de generaciones, gran número de descendientes, alta movilidad y tasas de migración (Mota-Sánchez *et al.*, 2002), así como una gran elasticidad genética que le facilita el desarrollo de resistencias (Shelton, 2004). Adicionalmente a las características mencionadas, según la FAO (2012) existe un “factor operacional” que agudiza la problemática y que tiene que ver con las prácticas agrícolas, como por ejemplo la aplicación consecutiva de grupos químicos relacionados entre sí y la alta presión de selección de insecticidas, prácticas que son comunes en los agricultores de la zona, más aún desde la aparición del chinche pintado (*Bagrada hilaris*) en el 2016, que también tiene como hospedero preferente a los cultivos de crucíferas (comunicación personal²). La combinación de estos factores es la que va propiciando la dependencia y aumento progresivo del uso de agroquímicos; y así, como consecuencia, sus efectos adversos desencadenan círculos viciosos que han hecho incluso que la producción económica de crucíferas sea impracticable en algunas regiones

¹ Camila González Santander, Administradora en Soc. Agrícola Austral, Ingeniero Agrónomo de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

² Rodrigo Ramm Cavada, Ingeniero Agrónomo, profesor en la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

del mundo (Sarfraz *et al.*, 2005). Ante este escenario, se vuelve necesario abordar el control de la polilla desde otras perspectivas que incluyan múltiples estrategias para su manejo, dentro de las cuales el control biológico y/o la manipulación de sus enemigos naturales se perfilan como los métodos más empleados dentro de los programas de manejo integrado de plagas a nivel mundial (Sarfraz *et al.*, 2005). Autores como Zalucki *et al.*, (2012) afirman que incluso un manejo integrado básico de *P. xylostella* disminuiría considerablemente el empleo de insecticidas, permitiendo a los enemigos naturales suprimir las poblaciones de la plaga, reduciendo así el impacto ambiental negativo y ahorrando cientos de miles de dólares anualmente.

A pesar de los numerosos programas de control biológico con agentes parasitoides desarrollados alrededor del mundo, según lo investigado, en nuestro país no existe ninguna oferta técnico-comercial o programas de este tipo que estén enfocados en el control biológico de esta plaga. En este mismo lineamiento, es importante destacar que las avispas del género *Trichogramma* corresponden a los principales parasitoides de los huevos de lepidópteros (Smith, 1996). Sin embargo, de forma natural, estos no contribuyen en gran medida a suprimir las poblaciones de *P. xylostella* y frecuentemente requieren liberaciones en masa (Talekar and Shelton, 1993). El control inundativo con estos agentes no suele ser permanente y requiere de liberaciones constantes, lo cual solo es posible si existen insectarios o empresas que los produzcan y comercialicen (Devoto y Salas, 2016).

En el presente proyecto se propone la utilización de dos microhimenópteros, uno de ellos introducido: *Trichogramma pretiosum* y el otro nativo: *Trichogramma nerudai*, como potenciales agentes de control biológico sobre poblaciones de *Plutella xylostella* en cultivos de *Brassica oleracea*.

Trichogramma se caracteriza por ser un agente que parasita a los lepidópteros en estado de huevo, lo cual permitiría reducir las poblaciones de la plaga antes que se produzca daño económico en el cultivo, el cual es causado por las larvas. Asimismo, es fundamental considerar que en general todos los parasitoides requieren de azúcares como fuente de energía complementaria, siendo este un factor clave para su supervivencia, fecundidad y capacidad de búsqueda del hospedero vegetal. (Wäckers, 2003). Es por esto que, adicionalmente, se postula que la disposición de un sistema de

bandas florales en condiciones de campo les proveería a estos controladores de una fuente alimenticia complementaria que les permitiría aumentar y extender su actividad parasitoide.

3. Hipótesis

El hábito polífago que presentan *Trichogramma nerudai* y *Trichogramma pretiosum* les permite ser utilizados como agentes de control biológico para el lepidóptero *Plutella xylostella* en cultivos de *Brassica oleracea*, donde su actividad parasitoide puede ser mejorada con el uso de flores proveedoras de néctar como alimento complementario.

3.1. Justificación de la Hipótesis

La necesidad de abordar el manejo de la polilla de las crucíferas a través de múltiples estrategias se ha vuelto apremiante y, dentro de este contexto, es primordial destacar que la acción de sus enemigos naturales, principalmente del tipo parasitoides, solía ser la tendencia natural en la regulación de sus poblaciones antes que adquiriera el rol de plaga primaria, lo cual fue causado por el uso extendido de insecticidas sintéticos a fines de 1950 (Fleischer, 2003). Es por esto que el control biológico de la polilla de las crucíferas puede llegar a convertirse en una herramienta muy aplicable y efectiva cuando está bien planeada. Hasta el día de hoy, se han realizado diversas investigaciones internacionales y nacionales sobre la capacidad de *Trichogramma* para controlar a esta plaga, sin embargo, en nuestro país no existe una oferta comercial de este controlador para el manejo específico de *P. xylostella* en cultivos comerciales de crucíferas. Los dos agentes de control propuestos en este proyecto (*T. nerudai* y *T. pretiosum*) están disponibles en el mercado nacional, pero actualmente están siendo destinados para el control biológico en cultivos frutícolas y forestales.

En este sentido, este proyecto pretende generar la información necesaria para poder ampliar el abanico de plagas objetivo de estos controladores y, a su vez, complementar este método con la implementación de un sistema de bandas florales que permita mejorar su desempeño como agentes parasitoides en múltiples aspectos.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Evaluar la capacidad parasitoide de las especies *Trichogramma nerudai* y *Trichogramma pretiosum* sobre *Plutella xylostella* en cultivos de *Brassica oleracea*, así como el efecto que tiene el consumo de néctar de distintas especies florales en su desempeño biológico como controlador.

4.2. Objetivos específicos

- ✓ Caracterizar la composición del néctar de distintas especies florales con potencial de uso como fuente alternativa de alimento para *T. nerudai* y *T. pretiosum* en condiciones de campo.
- ✓ Evaluar la eficacia, duración de la actividad parasitaria y longevidad de *T. nerudai* y *T. pretiosum* en condiciones de laboratorio a distintas temperaturas, con y sin provisión de néctar.
- ✓ Determinar la eficacia y duración de la actividad parasitaria ejercida por *T. nerudai* y *T. pretiosum* en condiciones de campo en distintas épocas de cultivo, dentro de un sistema que contenga especies florales proveedoras de néctar.

5. Estado del arte

5.1. *Plutella xylostella* (Linneo)

5.1.1. Origen y distribución geográfica

Plutella xylostella (L.) es un insecto plaga originario de Europa occidental. Actualmente se encuentra distribuido en todo el mundo, conociéndose en Chile desde mediados del siglo XIX (González, 1989). Está presente en todo el territorio nacional, desde la región de Arica y Parinacota hasta Magallanes, incluyendo la Isla de Pascua (González, 1989; Olivares, 2017).

5.1.2. Descripción morfológica y biología

Bajo condiciones habituales de cultivo de *Brassica oleracea*, los huevos se desarrollan de 3 a 10 días, las larvas en 10 a 21 días y las pupas entre 7 a 14 días. La duración de su ciclo varía entre los 17 a los 51 días, reduciéndose en relación al aumento de las temperaturas. Así, en zonas templadas, es posible observar por lo general cuatro generaciones en un año. (Olivares, 2017).

Sus estadios corresponden a huevo, larva, pupa y adulto. Los huevos son muy pequeños, en forma de escama, blanco-verdosos a amarillos, difíciles de ver; estos son depositados individualmente o de a grupos de 2 a 3 huevos por lo general en el envés de las hojas cerca de la vena central. Las larvas son las que ejercen el daño al cultivo, tienen una coloración amarilla clara cuando nacen y luego verde oscuro cuando están más desarrolladas, miden entre 8 y 12 mm (Rueda y Shelton, 1996) con un cuerpo alargado que tiende a angostarse en ambos extremos. Presentan cuatro estadios larvarios. En el primero de ellos actúan como insecto minador y penetran al interior de la hoja, para luego emerger y comportarse como insecto defoliador a partir del segundo estadio. Posteriormente, las larvas se envuelven en un hilo sedoso formando pupas, estas son de color verde a amarillas marrón y es posible verlas a través de la seda formada en su exterior. Según Apablaza (1990), es común encontrarlas sujetas a las hojas y a los tallos.

Los adultos miden 10 mm de longitud y tienen entre 12 y 15 mm de envergadura alar, son de cuerpo esbelto, color grisáceo a café. El macho tiene las alas plegadas y presenta tres manchas café claras en forma de diamante sobre el dorso, con extremos algo abiertos y elevados. Las alas posteriores son café claras y tienen flecos con largos pelos. Pueden vivir entre 12 a 16 días. Fleischer (2003), afirma que los nuevos adultos emergen de la pupa en la mañana y se aparean tan pronto llega la noche de ese mismo día. La oviposición comienza poco después del apareamiento y se puede extender hasta 10 días, donde la hembra puede depositar en promedio alrededor de 150 huevos (Olivares, 2017).

5.1.3. Hospederos y daños

La polilla de la col es un insecto fitófago que ataca a crucíferas cultivadas y silvestres. Entre sus principales hospederos se encuentran especies como repollo, coliflor, brócoli, nabo, rábano, repollito de Bruselas y remolacha. También es posible encontrarlo en malezas de la misma familia, especialmente en los períodos que no haya cultivos comerciales presentes en los alrededores (Capinera, 2000).

Los daños en la planta son causados por las larvas que normalmente se alimentan de las hojas. El primer estadio larvario perfora la hoja al nacer y comienza a minar a través del mesófilo, efectuando un daño discreto que puede pasar desapercibido (Betancourt y Scatoni, 1995). Al finalizar el primer estadio, las larvas abandonan sus galerías y se alimentan del envés de las hojas por el exterior, dejando la capa superior intacta y produciendo el típico daño en “ventanas”. La larva del último estadio es especialmente voraz ocasionando los mayores perjuicios. Se alimenta del follaje desde el exterior, dejando numerosos orificios irregulares y hojas completamente esqueletadas con excepción de sus nervaduras (Apablaza, 1990). Además de las hojas, pueden dañar los puntos de crecimiento de las plantas jóvenes, como en los repollitos de Bruselas, o minar dentro de las cabezas de brócoli y coliflor, causando serios daños y contaminación (University of California, 1992). Por otro lado, si la población de polillas es abundante, es posible encontrar varias larvas por planta provocando un fuerte daño al cultivo (Besoain *et al.*, 2013)

5.1.4. Mecanismos de resistencia

La adquisición de resistencia de esta plaga ha sido un motivo de preocupación para los científicos y la agricultura desde la década de los 50, cuando se reportó como la primera plaga en volverse resistente al DDT (Johnson, 1953). Del mismo modo, en 1990, Tabashnik *et al.* la describieron como la primera plaga en presentar resistencia a *Bacillus thuringiensis*, donde se demostró que las dosis letales necesarias para poblaciones en campo que habían sido tratadas repetidamente con *B. thuringiensis* var. *kurstaki* fueron 25 veces más altas que para dos poblaciones susceptibles en laboratorio. Es así, como durante los últimos 65 años, las evidencias de resistencia de *P. xylostella* a distintos ingredientes activos químicos y biológicos han ido creciendo paulatinamente, ocupando permanentemente el segundo lugar en diferentes recopilaciones de datos sobre artrópodos resistentes a los pesticidas, con un total de 69 compuestos químicos para el 2002 (Mota-Sánchez *et al.*) y 76 para el 2008 (Whalon *et al.*, 2008).

Según la FAO (2012), la resistencia está influenciada por diversos factores que interactúan entre sí y se agrupan en tres categorías: genéticos, biológicos/ecológicos y operacionales, siendo éste último el único que se encuentra bajo control del humano e incluye las prácticas agrícolas y las características del plaguicida y su aplicación.

El Comité de Acción para la Resistencia a los Insecticidas "IRAC" (2016) afirma que la resistencia de *P. xylostella* es posible gracias a una serie de mecanismos que actualmente presenta, entre los que se encuentran mecanismos mejorados de detoxificación metabólica de ciertos ingredientes activos y la sensibilidad a la acetilcolinesterasa, entre otros, que le confieren resistencia a grupos químicos como los organofosforados, piretroides, abamectina, benzofenilureas, carbamatos, spinosad y a algunas cepas de *Bacillus thuringiensis*.

Específicamente en nuestro país, se ha declarado que es posible el desarrollo de resistencia de las plagas agrícolas en monocultivos, cuando son sometidas a una fuerte presión de selección por parte de los pesticidas (Garrido, 1997). Los reportes sobre resistencias a compuestos específicos son escasos, destacándose principalmente dos: una investigación desarrollada por Garrido *et al.* (1997) que reporta la resistencia de diversas poblaciones de *P. xylostella* a deltametrina y metamidofos, así como una resistencia incipiente a endosulfán; y, por otro lado, otra experimentación en que se

determinó una diferencia de susceptibilidad a *B. thuringiensis* (Berliner) var. *kurstaki* en poblaciones de *P. xylostella* provenientes de distintas localidades (Garrido y Araya, 1997).

5.2. Métodos de control actual

5.2.1. Insecticidas químicos

Para controlar las poblaciones de polilla y proteger al cultivo de sus efectos perjudiciales, frecuentemente se depende de las aplicaciones de productos químicos al follaje de la planta en reiteradas oportunidades durante la temporada (Capinera, 2000), esto debido a su fácil acceso, efectividad y rapidez de acción en el control (Garrido, 1997).

Los insecticidas que comúnmente son utilizados por los agricultores de la zona central corresponden a los detallados en la tabla 1 (Anexos, página 31). Algunos productores agregan productos como clorpirifos o metamidofos a las rotaciones, los cuales son altamente tóxicos. Asimismo, también se utiliza con menor frecuencia la lambda-cihalotrina (Karate® y Zero®) que tiene menor efectividad, pero sirve cerca de cosecha porque su carencia es corta (comunicación personal³).

5.2.2. Insecticidas biológicos

Actualmente en nuestro país existen tres insecticidas de origen microbiano visados y autorizados para su uso en crucíferas, siendo estos a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*: Dipel®, BETK-03® y Javelin®. El producto más usado corresponde a Dipel® (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*), sin embargo, este producto posee menor efectividad que los de origen químico y debe aplicarse con mayor frecuencia.

5.3. Control biológico

Talekar and Shelton (1993) afirman que los parasitoides cumplen un rol muy importante controlando las poblaciones de *P. xylostella*, por lo que un programa para introducir y/o conservar parasitoides será básico para cualquier programa de manejo integrado sustentable de esta plaga. Según Sarfraz *et al.* (2005) alrededor del mundo existen más de 130 especies de parasitoides que atacan distintos estadios de la polilla de las crucíferas, sin embargo, la mayor parte del control se realiza mediante pocas especies de

³ Rodrigo Ramm Cavada, Ingeniero Agrónomo, profesor en la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Hernán Allendes Sandoval, Ingeniero Agrónomo, profesor en la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

himenópteros principalmente de los géneros *Diadegma*, *Diadromus*, *Microplitis*, *Cotesia* y *Oomyzus*. En nuestro país se ha reportado la presencia de diversos controladores biológicos, siendo todos estos del tipo parasitoides, como *Trichogramma pretiosum* (parasitoide de huevos), y de estados larvales como *Cotesia piceotrichosus*, *Oomyzus sokolowoskii* y *Diadegma leontinae* (Olivares, 2017). Con respecto al género *Trichogramma*, está reportada la presencia de cuatro especies: *T. nerudai* Pintureau and Gerding, *T. cacoeciae* Marchal, *T. evanescens* Westwood y *T. pretiosum* Riley, aunque es muy probable que aún existan especies nativas sin identificar (Devoto y Salas, 2016). A pesar de la presencia de todas estas especies parasitoides y, como se mencionó anteriormente, en nuestro país el control biológico no es una herramienta extensamente aplicada o desarrollada para el manejo de *P. xylostella*.

5.3.1. *Trichogramma*

Los parasitoides de huevos del género *Trichogramma* están entre los enemigos naturales más importantes y más estudiados alrededor del mundo, ya que son antagonistas de una amplia gama de plagas. Estos han sido usados exitosamente en programas de control biológico inoculativo e inundativo en numerosos países (Smith, 1996; Romeis *et al.*, 2005). Las avispas del género *Trichogramma* corresponden a los principales parasitoides de los huevos de lepidópteros (Smith, 1996). Sin embargo, estos frecuentemente requieren de liberaciones en masa (Talekar y Shelton, 1993), para lo cual se utilizan aproximadamente entre 150 mil y 300 mil individuos por hectárea (Devoto y Salas, 2016), con una periodicidad muy corta de liberación de 8 a 10 días (Torres y Gerding, 2000).

Con respecto al control biológico de *Plutella xylostella*, se han realizado diversos estudios a nivel de laboratorio e invernadero que revelan que las distintas especies de *Trichogramma* si pueden ejercer un control efectivo sobre las poblaciones de la plaga, sin embargo, los niveles de parasitismo pueden variar mucho entre especies (Pratissoli *et al.*, 2008; Tabone *et al.*, 2010) e incluso entre cepas dentro de la misma especie. En su experimentación, Tabone *et al.*, (2010) utilizaron 17 cepas pertenecientes a 12 especies distintas, de las cuales 9 cepas alcanzaron un parasitismo de más del 60% y dos cepas parasitaron menos del 20% de los huevos. Al mismo tiempo, estos últimos autores subrayan la importancia de incluir a la planta hospedera cuando se conducen experimentos para seleccionar a los parasitoides más efectivos contra esta plaga.

Según Sarfraz *et al.*, (2005), las poblaciones de *P. xylostella* nativas de diferentes regiones tienen diferencias genéticas y biológicas, y las cepas parasitoides específicas pueden asociarse con las cepas específicas. Por lo tanto, la identificación precisa tanto del huésped como del parasitoide es de importancia crucial para lograr el control exitoso de la polilla de las crucíferas a través de liberaciones inoculativas o inundativas.

En lo que se refiere a la biología de estos microhimenópteros, su ciclo de desarrollo tiene un promedio de duración de diez días, aunque puede variar en función de la temperatura (Devoto y Salas, 2016). Según Smith (1996), la mayor parte de las especies aparentemente tiene un mejor desempeño (en términos de actividad y fecundidad) a temperaturas entre 20°C a 29°C y a una humedad relativa entre 40 y 60%, con umbrales mínimos de 9°C y 25% de humedad relativa y umbrales máximos de 36°C y 70% de humedad relativa. Es determinante entonces comprender el desempeño de los parasitoides en relación a la temperatura para la elección de las especies más adaptadas a las condiciones climáticas locales experimentadas durante los períodos críticos de infestación en el campo (Marchioro *et al.*, 2015).

Los adultos de *Trichogramma spp.*, como la mayoría de los parasitoides, requieren de azúcares como fuente de energía para mantener una serie de procesos fisiológicos. Ellos pueden obtener azúcares desde el néctar floral, néctar extrafloral, miel, savia o azúcares filtrados desde el floema (Wäckers, 2005). Estos microhimenópteros se clasifican como consumidores facultativos de alimento derivado de las plantas, usándolo como complemento a la alimentación que le proveen sus presas (Beggs, 2001). Algunos parasitoides solo alcanzan su máximo potencial ecológico y económico cuando tienen fuentes de azúcar disponibles, ya que este influye en su supervivencia y fecundidad, siendo además más activos en entornos que cuentan con especies en etapa de floración (Wäckers, 2003). Respecto a la fecundidad, se tiene que cada hembra adulta ovipone entre 20 a 30 huevos en promedio durante su vida cuando no se les alimenta (Amaya, 1998); sin embargo, cuando se les provee alimentación pueden llegar a oviponer entre 70 a 120 huevos, colocados en uno o más por huésped, dependiendo del tamaño del hospedero (Parra, 1997).

6. Metodología

Los distintos procedimientos y ensayos se realizarán en el Laboratorio de Entomología de la PUCV y en la Estación Experimental La Palma, ambos ubicados en la comuna de Quillota, región de Valparaíso, con coordenadas 32°53'0" S y 71°12'0" O. El eje central del proyecto busca evaluar la capacidad parasitoide de *T. pretiosum* y *T. nerudai* sobre la plaga *P. xylostella* criada en cautiverio; y, por otro lado, el efecto que ejercen distintas especies florales sobre la capacidad parasitoide de ambas especies de *Trichogramma*. La experimentación se realizará en primera instancia en laboratorio y luego se harán pruebas en campo en distintas épocas de cultivo. Finalmente se realizará una transferencia de la tecnología y conocimiento obtenido hacia los beneficiarios del proyecto.

6.1. ETAPA 1: Producción de insumos e información para la experimentación

6.1.1. Actividad 1: Cría y reproducción de la plaga *Plutella xylostella*

Se establecerá un cultivo de repollo cvar. Savoy Ace en un invernadero prefabricado de 18 m² instalado en las inmediaciones de la Estación Experimental La Palma. El objetivo es proveer alimento constante para el proceso de cría de *P. xylostella*, por lo que el cultivo se hará de forma escalonada, realizando siembras cada 7 días en macetas de 5L de capacidad. La primera siembra se realizará 4 semanas antes del inicio del período de cría y el período de cultivo se extenderá alrededor de 16 meses (febrero 2020-mayo 2021).

La población inicial de *P. xylostella* será colectada en diversos cultivos comerciales de *Brassica oleracea* ubicados en la provincia de Quillota. La colecta inicial de individuos será de 100 larvas, de las cuales se espera una sobrevivencia y emergencia final de adultos del 60%, en una dieta basada en hojas de repollo (Htwe *et al.*, 2009).

Las larvas se sumergirán en hipoclorito de sodio por 20 segundos para su esterilización, para luego ser enjuagados durante 1 minuto en agua destilada. Se mantendrán en baterías de crianza para insectos, bajo las condiciones controladas descritas por Shelton

(2012) para la crianza de *P. xylostella*: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $35\pm 55\%$ HR y un fotoperíodo 16:8 (luz:oscuridad) hasta la formación de pupas. Se proporcionarán hojas de repollo (*Brassica oleracea* cvar. Savoy Ace) para su alimentación, las que serán reemplazadas cada dos días, junto con la limpieza de cada caja.

Al comienzo de la formación de pupas, serán trasladadas con pinzas a baterías de crianza distintas hasta emergencia de los adultos, depositando entre 1500 a 2000 individuos en cada una. Se les proporcionará como alimento una mecha de algodón embebida con una solución al 10% de miel con agua destilada, así como hojas de repollo para la oviposición, las cuales se reemplazarán cada dos días, trasladando las hojas con huevos a baterías para larvas sometidas a las mismas condiciones controladas. Los huevos se repartirán entre distintos contenedores con un pincel suave en caso de ser necesario. El proceso de cría es permanente durante la mayor parte del proyecto, teniendo una duración de aproximadamente 14 meses. Al obtener la tercera generación de polillas (pie de cría), un porcentaje de los individuos se destinará para continuar la crianza y el otro se utilizará para los distintos ensayos. Con el objetivo de mantener la diversidad genética, se realizará una incorporación de 100 larvas cada tres meses, recolectadas en cultivos de *Brassica oleracea* ubicados en la provincia de Quillota.

6.1.2. Actividad 2: Selección de especies florales para provisión de néctar

Basándose en la revisión bibliográfica, se realizó una selección preliminar de especies para ser evaluadas como proveedoras de néctar para *Trichogramma* (tabla 2, anexos, página 31). Los criterios aplicados para la selección fueron principalmente tres: que hayan sido descritas como beneficiosas para los parámetros de vida de diversas especies de *Trichogramma*, que correspondan a especies anuales o bianuales y, por último, la morfología y color de sus flores. A las especies seleccionadas se les realizará un análisis de néctar para caracterizar su composición y concentración de azúcares, con el objetivo de identificar la(s) especie(s) con mayor potencial para ser utilizadas en los ensayos y en la posterior transferencia de información. Las muestras de néctar de las especies se tomarán en pleno período de floración en horas del mediodía. Para la extracción del néctar desde la cámara en el tubo floral se utilizará una micro jeringa Hamilton o micro pipeta, usando tantas flores como sea necesario para extraer el néctar a ser utilizado en ensayos y para hacer análisis de composición y concentraciones de azúcar. El análisis de

composición del néctar se hará mediante el envío de las muestras a al Laboratorio de Servicios Analíticos del Instituto de Química de la PUCV. Posteriormente, se analizará el tamaño, color y morfología de flores atractivas y adecuadas *Trichogramma*, con el objetivo de finalmente elegir tres especies de plantas que serán evaluadas en ensayos de laboratorio y de campo.

6.2. ETAPA 2: Evaluación de la capacidad parasitoide de dos especies de *Trichogramma* en laboratorio

6.2.1. Actividad 1: Desempeño de *T. nerudai* y *T. pretiosum* a distintas temperaturas.

Se realizará un primer ensayo en el que se evaluará la eficacia del control de los parasitoides *Trichogramma nerudai* y *Trichogramma pretiosum* sobre la plaga *P. xylostella*. El procedimiento a seguir será similar al descrito por Zuñiga y Gerding en 2002 y se replicará en todos los tratamientos: en un tubo de ensayo se depositará una hembra copulada y un trozo de papel al que se adherirán 50 huevos de *P. xylostella*. Cada uno de los tratamientos tendrá 6 repeticiones. Se utilizarán cuatro cámaras de crianza con condiciones controladas a 15°, 20°, 25° y 30° C y manteniendo parámetros fijos de humedad (65%) y un fotoperíodo de 16:8 (L:O) (Torres y Gerding, 1999). Luego de 7 días o cuando la hembra de *Trichogramma* muera se contabilizará la cantidad de huevos muertos y parasitados bajo una lupa estereoscópica. Cada 24 horas se revisará la mortalidad de las hembras, contabilizando la longevidad de estas en días.

Las variables a medir en este ensayo son la eficacia del parasitismo, que se calculará en porcentaje a partir de la fórmula: $(N^{\circ} \text{ de huevos parasitados} / N^{\circ} \text{ huevos totales} \times 100)$. Del mismo modo, el número de huevos muertos se calculará a través de la fórmula: $(N^{\circ} \text{ huevos finales} / N^{\circ} \text{ huevos iniciales} \times 100)$, para determinar si es que existe muerte de individuos debida a otras condiciones, como, por ejemplo, la depredación por parte de las hembras. Posteriormente, el número de huevos depredados se calculará restando el número de huevos iniciales menos el número de huevos parasitados.

El diseño experimental de este ensayo será completamente al azar con arreglo factorial de 2x4 (2 especies de *Trichogramma* y 4 temperaturas), dando un total de 8 tratamientos, como es posible observar en la tabla 3 (anexos, página 32) con 6 repeticiones por

tratamiento, cuyos datos se analizarán con ANOVA y una comparación de medias con el Test de Tukey ($P < 0,05$) en el caso de existir diferencias significativas.

6.2.2. Actividad 2: Desempeño de *T. nerudai* y *T. pretiosum* con provisión de néctar

Se realizará un segundo ensayo en el que se evaluará el efecto que tienen distintos néctares sobre la longevidad y actividad parasitoide de *Trichogramma nerudai* y *Trichogramma pretiosum*. El procedimiento a seguir es similar en todos los tratamientos: dentro de una cámara de crianza con condiciones controladas (24° - 26° C, 60 a 70% de HR y fotoperíodo 16:8 (L:O)) se depositará una hembra copulada y un trozo de papel al que se adherirán 50 huevos de *P. xylostella*. Cada uno de los tratamientos tendrá 6 repeticiones. En la base de cada tubo se depositará una gota de 5 μ L del néctar de cada especie escogida como fuente de alimentación para los parasitoides. Los trozos de papel serán reemplazados cada dos días y observados bajo una lupa estereoscópica para determinar el número de huevos parasitados. Cada 24 horas se revisará la mortalidad de las hembras, contabilizando la longevidad de estas en días.

Las variables a medir en este ensayo son la eficacia del parasitismo y el número de huevos muertos y depredados, utilizando las mismas fórmulas del ensayo anterior. Por último, la longevidad de los parasitoides se evaluará a través del conteo de los días transcurridos desde el comienzo del ensayo hasta el final del ensayo.

El diseño experimental será completamente al azar con un total de 8 tratamientos (tabla 4, anexos, página 32). Los datos de cada ensayo se analizarán por separado con ANOVA y una comparación de medias con el Test de Tukey ($P < 0,05$), en el caso de existir diferencias significativas.

6.3. ETAPA 3: Comportamiento de dos especies de *Trichogramma* con fuentes de néctar en condiciones de campo

6.3.1. Actividad 1: Estrategias de liberación y proliferación de *T. nerudai* y *T. pretiosum*

Este ensayo se realizará en las dependencias de la Estación Experimental La Palma. El material vegetal a utilizar corresponderá a repollo cvar Savoy Ace, cultivo que será establecido al aire libre 3 semanas antes de comenzar la experimentación, con un marco de plantación de 0,45 x 0,75. Inmediatamente luego del trasplante, se delimitarán unidades experimentales de 33 m² (12 metros de largo por 2,8 metros de ancho) utilizando tubos pvc y muselina para confinarlas con el objetivo de tener un cultivo inocuo y sin interferencia de insectos externos. Se efectuará un ensayo para cada especie de *Trichogramma* con 5 tratamientos cada uno, como se detalla en la tabla 5 (anexos, página 33), que tienen el objetivo de comparar el efecto que ejerce el néctar de las 3 especies escogidas sobre la efectividad y duración de la actividad parasitaria de *Trichogramma nerudai* y *Trichogramma pretiosum*.

Como se puede observar en la figura 1 (anexos, página 33), en cada unidad experimental se ingresará una unidad liberadora (UL) que contenga 1.000 pupas de cada especie de *Trichogramma* y, al mismo tiempo, se instalarán cuatro estaciones de evaluación de parasitismo que consta cada una de una tarjeta pegajosa de color amarillo de 10x10 cm que contenga 200 huevos de *P. xylostella*. Adicionalmente, se dispondrá en cada unidad macetas con plantas de la especie floral que corresponda según el tratamiento para que actúen como fuente de néctar para los controladores. Para las evaluaciones, todas las tarjetas se irán reemplazando cada tres días durante los 21 días que dure la experimentación, siendo mantenidas en cámaras de crianza con condiciones controladas (24-26°C, 60 a 70% de HR y fotoperíodo 16:8 (L:O)) para evaluar el nivel parasitoidismo y muerte de huevos de cada tratamiento bajo lupa estereoscópica, y ser calculados a través de las fórmulas utilizadas en el ensayo anterior. La longevidad será estimada en función de la medición del parasitismo en las tarjetas a través del tiempo de duración del ensayo, teniendo en cuenta que, si hay ocurrencia de parasitoidismo pasados los 7 días de experimentación, el néctar ha tenido un efecto sobre la longevidad de cierta parte o sobre la población completa (dependiendo de los porcentajes obtenidos a través del tiempo).

Esta experimentación se repetirá 5 veces, desde el mes de septiembre de 2020 hasta mayo de 2021, con el objetivo analizar el efecto de las distintas condiciones ambientales en cada época de cultivo sobre la interacción de la plaga, los parasitoides y las especies florales.

El método a utilizar para calcular el número de visitas por flor, consistirá en marcar 50 flores al azar y observarlas durante 5 minutos para hacer un conteo de visitas del parasitoide.

El diseño experimental será completamente al azar y cada ensayo se analizará por separado a través del método ANOVA y una comparación de medias con el Test de Tukey ($P < 0,05$) en el caso de existir diferencias significativas entre estos.

6.4. ETAPA 4: Implementación y transferencia de tecnología

6.4.1. Actividad 1: Implementación de módulos demostrativos

Esta actividad comprende la creación de módulos en terreno, en los cuales se puedan observar los resultados obtenidos con el control biológico ejercido por estas especies de *Trichogramma* en sistemas de cultivo que incluyan bandas florales. Para esto, se implementarán parcelas demostrativas que contemplen los parámetros estudiados de especie del parasitoide y especie floral, para que los agricultores puedan apreciar en terreno los alcances de este proyecto. Estas se ubicarán en la Estación Experimental La Palma, y en los predios de agricultores interesados en contar con esta transferencia tecnológica *in situ* en sus cultivos. Se coordinarán visitas en las que participen asesores e investigadores para que también puedan observar resultados en terreno y hacer observaciones.

Con el objetivo de potenciar el flujo de información, se contactará a grupos de agricultores relacionados a través del SAG o de INDAP, apuntando a que la mayor cantidad de agricultores puedan aplicar esta nueva estrategia en sus cultivos. Se espera que este método de control permita reducir el daño económico causado por *P. xylostella* y, a su vez, se abaraten los costos de manejo con la liberación y permanencia de los agentes de control en el campo gracias a la presencia de estos sistemas de bandas florales.

6.4.2. Actividad 2: Otras estrategias de difusión

Se consideran otras dos estrategias de difusión, en primer lugar, la elaboración del manual titulado "Control Biológico y Sistemas de Bandas Florales para el manejo de *Plutella xylostella* en *Brassica oleracea*", y, por otro lado, la organización de un seminario, donde se expongan todas las consideraciones e información generada a lo largo de la ejecución del proyecto. Ambos métodos de difusión estarán dirigidos tanto a

productores, como asesores, investigadores e instituciones como el SAG, INIA e INDAP, entre otras, con el objetivo de realizar una entrega masiva y acabada de los resultados de este proyecto y poder discutir sus alcances.

7. **Bibliografía**

Ahuja, I., J. Rohloff, and A. Bones. 2010. Defense mechanisms of *Brassicaceae*: implications for plant-insect interactions and potential for integrated pest management, a review. *Agron. Sustain. Dev.* 30: 311-348.

Aljaro, A. 2000. Cultivo de brásicas: repollo, coliflor, brócoli. *INIA Tierra Adentro* 34: 12-14.

Amaya, M. 1998. *Trichogramma* spp. Producción, uso y manejo en Colombia. 176 p. Impretec Ltda., Guadalajara de Buga, Colombia.

Apablaza, J. 1990. Insectos, ácaros y otros, p 135-149. En B. Latorre (ed.). *Plagas de las hortalizas, manual de manejo Integrado*. FAO. Santiago, Chile.

Beggs, J. 2001. The ecological consequences of social wasps (*Vespula* spp.) invading an ecosystem that has an abundant carbohydrate resource. *Biological Conservation* 99: 17-28.

Besoain, X., E. López, C. Varela, y C. Ruz. 2013. Manual para la prevención y control de plagas y enfermedades en hortalizas de hoja. 56 p. PUCV- Escuela de Agronomía, Quillota, Chile.

Betancourt, C., e I. Scatoni. 1995. *Lepidópteros de importancia económica: reconocimiento, biología y daños de las plagas agrícolas y forestales*. 121 p. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur, Montevideo, Uruguay.

Capinera, J.L. 2000. Diamondback moth - *Plutella xylostella* (Linnaeus). (Insecta: Lepidoptera: Plutellidae). 5 p. University of Florida, Gainesville, FL, USA.

DeBaptista, G. 2003. Breve historia de los insecticidas. p 19-27. En Silva, G., R. Hepp (eds). *Bases para el manejo racional de insecticidas*. Universidad de Concepción, Chillán, Chile.

Devoto, L., y C. Salas. 2016. Control biológico de polillas-plaga con parasitoides de huevos. *Informativo Quilamapu* N° 132 p. 1-2.

- Dosdall, L., P. Mason, O. Olfert, L. Kaminski, and B. Keddie. 2004. The origins of infestations of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) in canola in western Canada. In: Endersby NM, Ridland PM (eds). The management of diamondback moth and other crucifer pests. Proceedings of the Fourth International Workshop, 26-29 November 2001. Melbourne, Australia: Department of Natural Resources and Environment. p 95-100.
- Fleischer, S. 2003. Diamondback Moth. Penn State College of Agricultural Sciences. Pennsylvania, Estados Unidos. Available at <http://ento.psu.edu/extension/factsheets/diamondback-moth>. Accessed may 2nd, 2018.
- Furlong, M., D. Wright, and LI. Dosdall. 2013. Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. *Annu. Rev. Entomol.* 58: 517-541.
- Garrido, C. 1997. Determinación de resistencia en la polilla de las crucíferas hacia diversos insecticidas en laboratorio. 69 p. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Garrido C., J. Araya. 1997. Susceptibilidad de varias poblaciones de *Plutella xylostella* a *Bacillus thuringiensis* (Berliner) var. *kurstaki*. *Investigación Agrícola* 17(1-2): 79-85.
- Garrido, C., J. Araya, M. Guerrero, L. Lamborot, y T. Curkovic. 1997. Estudios de resistencia/susceptibilidad de poblaciones de *P. xylostella* a deltametrina, metamidofos y endosulfán. *Investigación Agrícola* 17(1-2): 69-77.
- Gerghiou, G., and C. Taylor. 1986. Factors influencing the evolution of resistance. p 157-169. National Research Council (ed). *Pesticide resistance: strategies and tactics for management*. The National Academy Press, Washington DC, United States.
- González, R. 1989. *Insectos y ácaros de importancia agrícola y cuarentenaria en Chile*. 310 p. Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Grzywacz, D., A. Rossbach, A. Raulf, D. Russell, R. Srinivasan, and A. Shelton. 2010. Current control methods for diamondback moth and other brassica insect pests and the prospects for improved management with lepidopteran-resistant Bt vegetable brassicas in Asia and Africa. *Crop Protection* 29: 68-79.
- Htwe, A. N., K. Takasu, and M. Takagi. 2009. Laboratory Rearing of the Diamondback Moth *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera:Plutellidae) with Artificial Diet. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, 54(1): 147-151.
- IRAC. 2016. Diamondback Moth, *Plutella xylostella*. Insecticide Resistance Action Committee, CropLife International. Available at <http://www.irac-online.org/pests/plutella-xylostella/>. Accessed April 17th, 2018.
- Johnson, D. 1953. *Plutella maculipennis* resistance to DDT in Java. *Journal of Economic Entomology* 146:176.

- LeCoz, C., and G. Ducombs. 2006. Plants and plant products. p 751-800. In Frosch, P., T. Menne, J. Lepottevin (eds). Contact Dermatitis. Springer, Berlín-Heidelberg, Alemania.
- Marchioro, C.A, F. Krechmer, L. Foerster. 2015. Assesing the total mortality caused by two species of *Trichogramma* on its natural host *Plutella xylostella* at different temperatures. Neotrop. Entomol. 44: 270-277.
- Mota-Sánchez, D., P. Bills, and M. Whalon. 2002. Arthropod resistance to pesticides: status and overview. p 241-272. In Wheeler, W. (ed). 330 p. Pesticide in agriculture and the environment. Marcel Dekker, New York, United States.
- Olivares, N. 2017. Entomología – plagas en hortalizas: polilla de la col. Ficha Técnica N°15 Sanidad Vegetal. 2 p. INIA, Santiago, Chile.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2012. Código internacional de conducta para distribución y utilización de plaguicidas: Directrices sobre la prevención y manejo de la resistencia a los plaguicidas. 59 p. FAO, Roma, Italia.
- Osteen C., and M. Padgitt. 2002. Economic issues of agricultural pesticide use and policy in the United States. p 59-95. In Wheeler, W. (ed). 330 p. Pesticide in agriculture and the environment. Marcel Dekker, New York, United States.
- Parra, J. 1997. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: Parra, J., (eds). p 121-150. *Trichogramma* e o Controle Biológico Aplicado. Fundacao de Estudios Agrarios Luiz de Queiroz (FEALQ). Sao Paulo, Brasil.
- Pratissoli, D., R. Polanczyk, A. Holtz, L. Dalvi, A. Silva, and L. Silva. 2008. Selection of *Trichogramma* species for controlling the diamondback moth. Horticultura Brasileira 26: 194-196.
- Romeis, J., D. Babendreier, F. Wäckers, T. Shanower. 2005. Habitat and plant specificity of *Trichogramma* egg parasitoids – underlying mechanisms and implications. Basic and Applied Ecology 6: 215-236.
- Rueda, A., and A. Shelton. 1996. Palomilla Dorso de Diamante (DDM). Cornell University, Nueva York, Estados Unidos. Disponible en: <http://web.entomology.cornell.edu/shelton/veg-insects-global/spanish/dbm.html>. Leído el 3 de abril de 2018.
- Sarfraz, M., A. Keddie, and LI. Dossdall. 2005. Biological control of the diamondback moth, *Plutella xylostella*: A review. Biocontrol Science and Technology 15:8, 763-789.
- Shelton, A. 2004. Management of the diamondback moth: déjà vu all over again? Available at <http://web.entomology.cornell.edu/shelton/diamondback-moth/pdf/2001papers/2001DBM01.pdf>. Accessed July 19th,2018.

- Shelton, A. 2012. Techniques for Rearing *Plutella xylostella*. N.Y.S. Agricultural Experiment Station Geneva, New York, USA. Available at: http://web.entomology.cornell.edu/shelton/publications/pdf/Rearing_plutella_xylostella.pdf. Accessed October 14th, 2018.
- Smith, S. 1996 Biological control with *Trichogramma*: Advances, Successes, and Potential of Their Use. *Annu. Rev. Entomol.* 41: 375-406.
- Tabashnik, B., N. Cushing, N. Finson, and M. Johnson. 1990. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology* 83(5):1671-1676.
- Tabone, E., C. Bardon, N. Desneux, and E. Wajnberg. 2010. Parasitism of different *Trichogramma* species and strains on *Plutella xylostella* L. on greenhouse cauliflower. *J. Pest Sci* 83: 251-256.
- Talekar, N., and A. Shelton. 1993. Biology, ecology and management of the Diamondback moth. *Annual Review Entomology* 38: 275-301.
- Torres, C., M. Gerding. 2000. Evaluación de cinco especies de *Trichogramma* como posibles agentes de control biológico de *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Agric. Téc.* v.60 n.3.
- University of California. 1992. Integrated pest management for cole crops and lettuce. 111 p. University of California, Oakland, United States.
- Wäckers, F. L. 2003. The effect of food supplement on parasitoid-host dynamics. *In*: USDA-Forest Service (ed). First International Symposium on Biological Control of Arthropods, January 14-18, 2002, Honolulu, Hawaii, USA.
- Wäckers, F. L. 2005. Suitability of (extra-)floral nectar, pollen, and honeydew as insect food sources. p 17-74. *In* Wäckers, F., P. van Rijn, and J. Bruin (eds). *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects: A Protective Mutualism and Its Applications*. 266 p. Cambridge University Press, Cambridge, England.
- Whalon, M. 2008. Analysis of Global Pesticide Resistance in Arthropods. p 5-31. *In* Whalon, M., D. Mota-Sánchez, and R. Hollingworth (eds). 169 p. *Global Pesticide Resistance in Arthropods*. Cambridge, MA: CAB International, United Kingdom.
- Zalucki, M., A. Shabbir, R. Silva, D. Adamson, L. Shu-Sheng, and M. Furlong. 2012. Estimating the economic cost of one of the world's mayor insect pests, *Plutella xylostella*: just how long is a piece of string? *Journal of Economic Entomology* 105(4): 1115-1129.
- Zúñiga, K., M. Gerding. 2002. Efecto de la temperatura en la longevidad, reproducción y desarrollo de *Trichogramma nerudai* y *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Agric. Téc.* v.62 n.3.

8. Plan de trabajo

El proyecto tendrá una duración de 17 meses, extendiéndose desde enero del 2020 hasta octubre del 2021 (figura 2). Previo a la etapa 1 de generación de insumos e información para los ensayos posteriores, se realizará una etapa 0 que comprende la planificación inicial de actividades, contratación del personal, la compra de insumos y el acondicionamiento de laboratorios e invernaderos. Posterior a esto, el proyecto seguirá su curso de forma similar a como fue descrito en la metodología anterior:

Etapa 1: comprende la generación de insumos e información para los ensayos de control biológico, consistiendo en una actividad de recolección y cría de la plaga *Plutella xylostella* en condiciones controladas de laboratorio y luego en un análisis de néctar a un grupo de especies florales seleccionadas por tener un potencial de uso (en cuanto a su biología y calidad de néctar) en la provisión de alimento en terreno para reforzar la actividad parasitoide de dos especies de *Trichogramma*.

Etapa 2: consiste esencialmente en dos ensayos de laboratorio realizados en cámaras de crianza con condiciones controladas, el primero evalúa la actividad parasitoide de *T. nerudai* y *T. pretiosum* sometidos a cuatro temperaturas distintas. El segundo ensayo evalúa el efecto que tienen tres especies florales previamente definidas sobre la longevidad y actividad parasitoide de ambas especies de *Trichogramma*.

Etapa 3: corresponde a la evaluación de la capacidad parasitoide de *T. nerudai* y *T. pretiosum* durante distintas épocas de cultivo en conjunto con sistemas de bandas florales, constando de 5 ciclos de ensayos realizados cada dos meses entre septiembre de 2020 y mayo de 2021.

Etapa 4: por último, se realizará una consolidación de la información obtenida a través de la implementación de módulos demostrativos en la Estación Experimental La Palma y en predios de preferencia orgánicos pertenecientes o manejados por agricultores de la zona de Quillota. Asimismo, se considera la creación de un manual informativo o boletín y la realización de un seminario donde se reúna y exponga toda la información y resultados obtenidos a partir de la ejecución del proyecto.

8.1. Carta Gantt proyecto

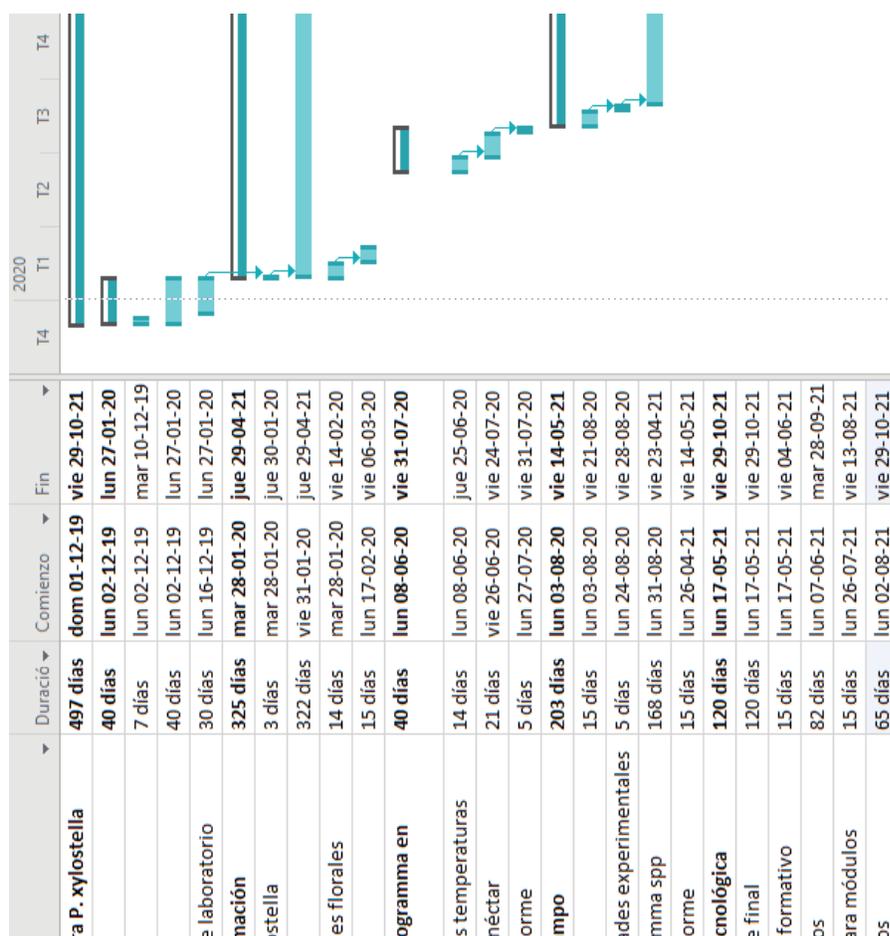


Figura 2. Carta Gantt del proyecto

9. Resultados esperados

| Objetivo específico | Resultado esperado |
|---|---|
| Caracterizar la composición del néctar de distintas especies florales con potencial de uso como fuente alternativa de alimento para <i>T. nerudai</i> y <i>T. pretiosum</i> en condiciones de campo. | Obtener las concentraciones de los principales componentes del néctar de las especies <i>Lobularia marítima</i> , <i>Anethum graveolens</i> , <i>Borrago officinalis</i> , <i>Daucus carota</i> , <i>Vicia faba</i> y <i>Amaranthus retroflexus</i> . |
| Evaluar la eficacia, duración de la actividad parasitaria y longevidad de <i>T. nerudai</i> y <i>T. pretiosum</i> en condiciones de laboratorio a distintas temperaturas, con y sin provisión de néctar. | Obtener un parasitismo de más del 50% a de la población de <i>P. xylostella</i> por cada especie de <i>Trichogramma</i> a temperaturas de 20 y 25° C, así como un aumento en su longevidad en más de 7 días con provisión de néctar. |
| Evaluar la eficacia y duración de actividad parasitaria ejercida por <i>T. nerudai</i> y <i>T. pretiosum</i> en condiciones de campo en distintas épocas de cultivo, dentro de un sistema que contenga especies florales proveedoras de néctar. | Lograr un índice de parasitoidismo de más del 50% en los meses que registren temperaturas medias entre los 20° y 30° C. Así como aumentar longevidad de ambas especies de <i>Trichogramma</i> en más de 7 días cuando se entregue provisión de néctar en terreno. |

10. Organización

10.1. Cargos y funciones

| Formación/grado académico | Cargo en el proyecto | Funciones | Costo del personal (MM\$) |
|---|------------------------------|--|---------------------------|
| Ingeniero Agrónomo, Magister en Entomología | Director del proyecto | Coordina y planifica actividades, realiza vinculación con el medio, análisis y procesamiento de datos, difusión proyecto | \$16,1 |
| Licenciado en Biología | Encargado de laboratorio | Realiza crianza de insectos (formula raciones, distribuye, reemplaza) | \$6,75 |
| Estudiantes (dos) | Apoyo de labores laboratorio | Realiza labores de apoyo en las actividades de laboratorio recibiendo órdenes del encargado de área. | \$6,0 |
| Técnico agrícola | Encargado de campo | Realiza liberaciones de insectos, implementación y mantención del cultivo | \$4,5 |
| Estudiantes (dos) | Apoyo labores en terreno | Realiza labores de apoyo en las actividades de laboratorio recibiendo órdenes del encargado de área | \$4,0 |

11. Presupuesto

11.1. Presupuesto por año

| | Cuenta | Año 1 | Año 2 | Total (CLP\$) |
|-----------|---|-------------------|-------------------|-------------------|
| A. | Total Recursos Humanos | | | |
| | <i>Pecuniario</i> | 27.400.000 | 21.150.000 | 48.550.000 |
| | <i>No Pecuniario</i> | | | |
| B. | Total Subcontratos | | | |
| | <i>Pecuniario</i> | | | |
| | <i>No Pecuniario</i> | 150.000 | | 150.000 |
| C. | Total Difusión | | | |
| | <i>Pecuniario</i> | | 2.286.000 | 2.286.000 |
| | <i>No Pecuniario</i> | | | |
| D. | Total Gastos de Inversión | | | |
| | <i>Pecuniario</i> | 18.383.170 | | 18.383.170 |
| | <i>No Pecuniario</i> | | | |
| E. | Total Gastos de Operación | | | |
| | <i>Pecuniario</i> | 520.000 | 1.120.000 | 1.640.000 |
| | <i>No Pecuniario</i> | 8.999.655 | 3.810.375 | 12.810.030 |
| F. | Total Gastos de Administración (10%) | | | |
| | <i>Pecuniario</i> | 8.115.400 | | 8.115.400 |
| | <i>No Pecuniario</i> | | | |
| G. | Total CLP\$ | 63.568.225 | 28.366.375 | 91.934.600 |
| | <i>Pecuniario</i> | 54.418.570 | 24.556.000 | 78.974.570 |
| | <i>No Pecuniario</i> | 9.149.655 | 3.810.375 | 12.960.030 |

11.2. Presupuesto por cuenta

| | Cuenta | FONDO CONCURSABLE | APORTE PUCV | | Total(MM\$) |
|----|--------------------------------|----------------------|--------------|----------------|----------------|
| | | | Pecuniario | No pecuniario | |
| A. | Total Recursos Humanos | \$48,55 | | | \$48,55 |
| B. | Total Subcontratos | \$0,15 | | | \$0,15 |
| C. | Total Difusión | \$2,29 | | | \$2,29 |
| D. | Total Gastos de Inversión | \$18,38 | | | \$18,38 |
| E. | Total Gastos de Operación | \$1,64 | | \$12,81 | \$14,45 |
| F. | Total Gastos de Administración | 8,12 | | | \$8,12 |
| | Porcentaje de Aporte (%) | 85,70% | 0,00% | 14,30% | 100% |
| | TOTAL(MM\$) | \$79,12 | 0,00% | \$12,81 | \$91,93 |

12. Anexos

Tabla 1. Insecticidas más usados por los agricultores en la zona central.

| Nombre | Ingrediente activo | Grupo químico |
|------------|-------------------------------------|---------------------------|
| Selecron® | Profenofos | Organofosforado |
| Gladiator® | Acetamiprid-Lambdacihalotrina | Neonicotinoide-Piretroide |
| Engeo® | Tiametoxam- Lambdacihalotrina | Neonicotinoide-Piretroide |
| Proclaim® | Benzoato de emmamectina | Avermectina |
| Nomolt® | Teflubenzurón | Benzoilurea |
| Sorba® | Lufenurón | Benzoilurea |
| Alsystin® | Triflumurón | Benzoilurea |
| Avaunt® | Indoxacarb | Oxadiacinas |
| Verismo® | Metaflumizona | Semicarbazona |
| Coragen® | Clorantraniliprol | Diamida |
| Belt® | Flubendiamida | Diamida |
| Ampligo® | Clorantraniliprol-Lambdacihalotrina | Diamida-Piretroide |
| Neem-X® | Benzoato de emmamectina | Azaradictina (Natural) |

Fue

nte: elaboración propia, 2018.

Tabla 2. Especies florales preliminares para provisión de néctar para *Trichogramma*.

| Lista de especies a realizar el análisis de néctar | |
|--|----------------------------|
| <i>Lobularia marítima</i> | <i>Borrago officinalis</i> |
| <i>Amaranthus retroflexus</i> | <i>Daucus carota</i> |
| <i>Anethum graveolens</i> | <i>Vicia faba</i> |

Fuente: elaboración propia, 2018,

Tabla 3. Descripción de tratamientos y variables a medir en ensayo de eficacia de parasitoidismo de *T. nerudai* y *T. pretiosum*.

| Tratamiento | Descripción | Variables | Método de evaluación |
|-------------|-------------------------------------|------------------------|--|
| T1 | 1 hembra <i>T. nerudai</i> a 15° C | % de parasitoidismo | Incubación de huevos parasitados en cámara con iguales condiciones Observación bajo lupa estereoscópica. |
| T2 | 1 hembra <i>T. nerudai</i> a 20° C | | |
| T3 | 1 hembra <i>T. nerudai</i> a 25° C | | |
| T4 | 1 hembra <i>T. nerudai</i> a 30° C | | |
| T5 | 1 hembra <i>T. pretiosum</i> a 15°C | % de huevos depredados | Registro diario de individuos sobrevivientes |
| T6 | 1 hembra <i>T. pretiosum</i> a 20°C | | |
| T7 | 1 hembra <i>T. pretiosum</i> a 25°C | | |
| T8 | 1 hembra <i>T. pretiosum</i> a 30°C | | |

Fuente: elaboración propia, 2018.

Tabla 4. Descripción de tratamientos y variables a medir en ensayo de actividad parasitoide de *Trichogramma* con provisión de néctar.

| Tratamiento | Descripción | Variables | Evaluación |
|-------------|--|------------------------|---|
| T1 | 1 hembra <i>T. nerudai</i> sin néctar | % de parasitoidismo | Reemplazo de tarjeta con huevos cada dos días. |
| T2 | 1 hembra <i>T. nerudai</i> + néctar especie floral 1 | | |
| T3 | 1 hembra <i>T. nerudai</i> + néctar especie floral 2 | | |
| T4 | 1 hembra <i>T. nerudai</i> + néctar especie floral 3 | | |
| T5 | 1 hembra <i>T. pretiosum</i> sin néctar | % de huevos depredados | Conteo de huevos parasitados y depredados. Conteo de individuos vivos por día. |
| T6 | 1 hembra <i>T. pretiosum</i> + néctar especie floral 1 | | |
| T7 | 1 hembra <i>T. pretiosum</i> + néctar especie floral 2 | | |
| T8 | 1 hembra <i>T. pretiosum</i> + néctar especie floral 3 | | |

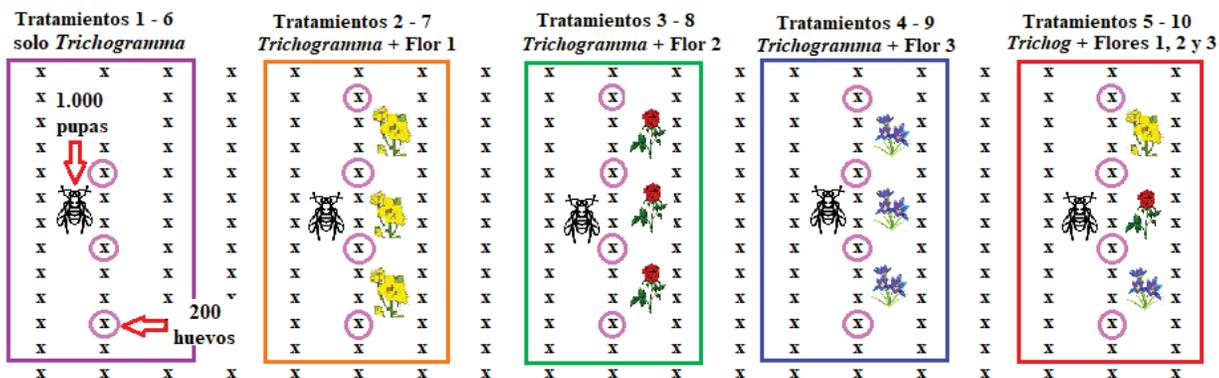
Fuente: elaboración propia, 2018.

Tabla 5. Descripción de tratamientos y variables a medir en el ensayo del efecto de la provisión de néctar en la actividad parasitoide de *Trichogramma* en condiciones de campo.

| Tratamiento | Descripción | Variables | Evaluación |
|-------------|---------------------------------|---|--|
| T1 | 1 UL de <i>T. nerudai</i> | % de parasitoidismo en cada fecha | Reemplazo de tarjetas con huevos al día 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21 |
| T2 | 1 UL + Especie floral 1 | | |
| T3 | 1 UL + Especie floral 2 | | |
| T4 | 1 UL + Especie floral 3 | | |
| T5 | 1 UL + Mezcla de las 3 especies | | |
| T6 | 1 UL de <i>T. pretiosum</i> | Duración de la actividad parasitoide | Tarjetas en condiciones controladas para evaluar posible parasitoidismo. |
| T7 | 1 UL + Especie floral 1 | | |
| T8 | 1 UL + Especie floral 2 | | |
| T9 | 1 UL + Especie floral 3 | | |
| T10 | 1 UL + Mezcla de las 3 especies | | |
| | | N° de visitas de parasitoides a cada flor | Se evalúa % de parasitoidismo a lo largo de los 21 días. |

Fuente: elaboración propia, 2018.

Figura 1. Unidades experimentales del ensayo de parasitoidismo de *T. nerudai* y *T. pretiosum* con provisión de néctar en terreno.



Fuente: elaboración propia, 2018.