



## NOMBRE DEL PROYECTO

Desarrollo de estrategias para el Control Biológico de *Cydia pomonella* en la regiones VII y XI

## ZONA GEOGRÁFICA DE EJECUCIÓN

Comunas de Rio Claro y Villa Alegre, VII región  
Comuna de Chile Chico, XI región

## INSTITUCIONES RESPONSABLES DE LA EJECUCIÓN.

AGENTE POSTULANTE RESPONSABLE DEL PROYECTO:  
Instituto de Investigaciones Agropecuarias

INSTITUCIÓN ASOCIADA PARA LA EJECUCIÓN:  
Pontificia Universidad Católica de Chile  
Universidad de Concepción

## RESUMEN DE COSTOS Y FUENTES DE FINANCIAMIENTO ( \$ ).

COSTO TOTAL DEL PROYECTO:	100%	\$361.551.622.-
TOTAL APORTE SAG:	57%	\$207.285.560.-
TOTAL APORTE AGENTE:	43%	\$154.266.062.-

## PROPÓSITO.

El propósito del presente proyecto es lograr niveles de erradicación de la polilla con macho esterilidad y control biológico en la XIU región y lograr la supresión de la polilla de la manzana a niveles tolerables mediante liberaciones masivas de *Mastrus rudibundus*, complementadas con liberaciones de *Ascogaster quadridentata*, *Trichogramma nerudai* y *T. cacoeciae*, aplicaciones de hongos entomopatógenos (Qu B323), nemátodos (Qu N 820) y uso de atrayentes semioquímicos en la zona manzanera (VII región).



## RESULTADOS ESPERADOS

En la XI región.

- Erradicación de la polilla de la manzana
- Si no es posible erradicar Cp: disminución de las poblaciones de polilla de la manzana mediante el establecimiento de *Mastrus rudibundus* y *Ascogaster quadridentata*,
- Formulación de atrayentes desarrollados en Chile
- Concientizar a la comunidad de Chile Chico en el manejo de Cp

En la VII región (y resto de la zona productora de manzana)

- Supresión de la polilla de la manzana en las zonas tratadas con control biológico
- Establecimiento de *Mastrus rudibundus* y *Ascogaster quadridentata* en la zona
- Desarrollo de una estrategia de liberaciones de agentes de control para lograr la supresión de la plaga en Chile
- Masificación de *M. rudibundus* para uso como control biológico aumentativo
- Establecimiento de biofábricas de insumos biológicos por demanda de ellos
- Protocolo para el uso de enemigos naturales en el manejo de la polilla de la manzana en huertos comerciales
- Formulación de atrayentes desarrollados en Chile
- Publicaciones técnicas y divulgativas

## FECHA DE INICIO Y DURACIÓN DEL PROYECTO (EN MESES).

FECHA DE INICIO	1 de Enero 2007
FECHA DE TÉRMINO	30 Diciembre 2010
DURACIÓN DEL PROYECTO (MESES)	48

## **BENEFICIOS DEL PROYECTO**

- Producción de manzanas libres de plaguicidas. Al reducir la plaga con control biológico a niveles aceptados por los mercados internacionales, no se seguirá con la carga de insecticidas que se está aplicando para el control de la polilla y los enemigos naturales de las plagas secundarias podrán actuar libremente o bien se podrá utilizar otros controladores biológicos para su control, ya estudiados o introducidos al país.
- Mejorar calidad de vida de la familia rural. La reducción de uso de plaguicidas significará una reducción en la contaminación ambiental y directa a que están sometidos los trabajadores del campo y de las empresas empacadoras.
- Mejora del medio ambiente, reducción de la contaminación y efecto negativo sobre animales, plantas y aguas.
- Mayor demanda de mano de obra. Por efecto de la mayor demanda en la producción de enemigos naturales y su manejo de campo, al crearse nuevas empresas productoras de agentes de control y demanda por mayor tecnología en toma de decisiones.
- Declarar zona libre de polilla de la manzana a la comuna de Chile Chico permitiendo comercializar mejor la fruta que se produce (cerezas) hacia el mercado asiático.
- Desarrollo de una estrategia de manejo biológico de la plaga

## **BENEFICIARIOS(AS) DIRECTOS(AS) DEL PROYECTO**

El proyecto se realizará en tres localidades:

- Chile Chico (XI región), en donde los beneficiarios serán los productores de cerezas, al lograr la erradicación de la plaga.
- En la comuna de Rio Claro (VII región), los beneficiarios primeros serán los pequeños y medianos agricultores del GTT de manzanas existente en esta comuna, en donde se realizarán los experimentos (liberaciones) de control. Posteriormente se beneficiarán todos los productores de manzanas y peras del país al implementarse una metodología de manejo biológico de la plaga
- En el Centro Experimental Raihuén, comuna de Villa Alegre. Posicionamiento en el control de plagas en manzanos en la región

En Chile, los productores de manzanas mejorando la calidad de la fruta por reducción de residuos químicos.

## DESCRIPCIÓN Y ANÁLISIS DE LA METODOLOGÍA

El control biológico de la polilla de la manzana tiene numerosos agentes de control que pudieran ser de utilidad para la reducción de las poblaciones, el conjunto de ellos podría ser el mejor medio, sin embargo es necesario evaluar el efecto de cada uno de ellos y su mejor complemento. INIA Quilamapu en conjunto con la Pontificia Universidad Católica y la Universidad de Concepción tienen el conocimiento y las especies parasitoides en crianza. La liberación en parcelas por especies o por combinaciones de ellas permitirá definir el método, combinación y modelo de aplicar en el resto del país.

1.- **Crianza de polilla de la manzana:** La crianza de la polilla de la manzana es de vital importancia en el desarrollo del programa de control biológico de la misma pues los dos parasitoides introducidos no tiene hospederos alternativos en los cuales criarlos. *M. rudibundus* es un parasitoide de larvas de último estadio, esencialmente de larvas diapausantes, aunque su crianza también resulta sobre larvas en su último estadio larval. Considerando que el período de cuatro años podría ser limitante para la evaluación de establecimiento y efecto del control biológico se plantea realizar liberaciones masivas tipo inundativas de los parasitoides, para lo cual es necesario masificar grandes cantidades de polilla. Por lo tanto la crianza de la polilla requerirá de algún grado de tecnificación y experimentación en lo que se refiere a preparación de dietas, Sistemas de ovipostura y Colecta de adultos.

a) Preparación de dietas. Se utilizarán dos tipos de dietas, al inicio para mantener las poblaciones se usará la dieta de Poitout y Blues (1974), que se basa en el uso de agar, vitaminas, proteínas y sales minerales, pero tiene los inconvenientes de contaminación y costo, mientras se mantiene la población en esta dieta se iniciarán las pruebas y puesta a punto de la dieta de Proverbs (Proverbs et al, 1982) que se basa en el uso de celulosa, aserrín, sales minerales y vitaminas, con un costo muy inferior y de fácil manejo. La preparación de las dietas Proverbs requerirán de una amasadora eléctrica para la mezcla de los materiales que al ser muy denso dificulta la mezcla manual esta mezcla de aserrín, celulosa y sales minerales se cuece en olla de doble fondo. Luego se le agregan las vitaminas y se distribuye en bandejas de 40x60x5 cm, y se les cubre con una delgada capa de parafina líquida y una aplicación de chorros de aire para permitir el ingreso de las larvas neonatas. Para este evento es necesario el uso de un equipo con boquillas calientes y aspersores de aire a presión sobre una pequeña correa sinfín. La siembra de los huevos se realiza utilizando láminas de papel encerado en donde ocurre la oviposición, esto se logra en cilindros de ovipostura (Proverbs, and Logan, 1970) especialmente diseñados para que giren a 0,5 rpm en forma permanente y así los huevos se distribuyan uniformemente en la lámina de papel encerado. Este luego es retirado y lavado en una solución de cloro al 5% por dos minutos y enjuagado en agua corriente por 10 minutos. El papel con huevos posteriormente se pondrán en cámara germinadora por tres días y de ahí se pondrán invertidos sobre las bandejas con la dieta en cámaras de crianza a 25° C y oscuridad. Para la crianza se utilizarán tres líneas de producción: a) Mantención de la colonia

(padres) y macho esterilidad, en cuyo caso las bandejas con larvas pupando, se colocarán en una sala de emergencia de adultos en donde existirá una línea de aspiración para la captura de los adultos y envío a los cilindros de ovipostura o a irradiación en la CCHEN. b) Otra línea será igual a la anterior pero los huevos serán destinados a la producción de *Ascogaster* y c) la tercera línea de producción será para la producción de larvas para su uso en el parasitismo de *Mastrus*.

Para esta crianza se requerirá de 8 salas de crianza de 3,0X4,0 m, con estanterías con ruedas para el manejo de las bandejas. Una de las salas (A) tendrá un sistema de luz ultravioleta para atracción de los adultos y aspiración de ellos a la sala de ovipostura. Cuatro salas (B) serán destinadas a la crianza de larvas, para *Mastrus*, dos salas (C) serán para producción de huevos para *Ascogaster* y una sala para producción de padres (D).

2.-Crianza de *Mastrus rudibundus*. La producción de *Mastrus* será la base del programa de control biológico por lo que requerirá de la producción semanal de al menos 200.000 larvas durante el período de otoño e invierno. Esta producción permitirá la liberación masiva de parasitoides en huertos comerciales para el control de las larvas invernantes. Durante la primavera y verano las liberaciones se concentrarán en los hospederos alternativos existentes en las áreas en estudio. Las bandejas con producción de larvas (sala B) serán tratadas con rollos de cartón corrugado para coleccionar las larvas en su último estadio, los que posteriormente serán trasladados a las salas de parasitación, en las cuales se colocarán en cámaras Flanders junto con adultos de *Mastrus*. Las larvas parasitadas serán colocadas en los mismos rollos en cámara de emergencia del parasitoide para su uso en la multiplicación de los mismos o su liberación al campo.

3.-Crianza de *Ascogaster quadridentata*. *Ascogaster* es un parasitoide de huevos y por lo tanto es necesario exponer huevos de la polilla de la manzana a los adultos de este parasitoide. Los adultos obtenidos en la sala (A) serán colocados en los cilindros de ovipostura y las láminas de huevos obtenidas serán colocadas en cámaras Flanders en presencia de adultos del parasitoide y los huevos parasitados serán colocados posteriormente en bandejas de producción en las salas (C) hasta la emergencia de los adultos del parasitoide, Las polillas que emerjan de estas bandejas serán colocadas a pruebas de fertilidad para confirmar el nivel de castración que provoca el parasitoide y según esta prueba utilizar la liberación de estas polillas en la XI región como sistema de macho esterilidad (Reed. and Brown. 1990; Brown and Kainoh. 1992).

4.-Crianza de *Trichogramma nerudai* y *T. cacoeciae*. La crianza de *Trichogramma* existe en los laboratorios de Quilamapu y su masificación se basará en la multiplicación de *Sitotroga cerealella* y la parasitación de sus huevos por ambas especies de *Trichogramma*. Los huevos parasitados serán pegados en cartulinas tipo sándwich con huevos de diferentes edades para ser colocadas en los árboles de

manzano en los huertos comerciales (Hassan et al. 1988; Torres y Gerding. 1998).

5.-Producción de entomopatógenos. Este sistema de producción existe en los laboratorios de Quilamapu y solo se necesitará utilizar el aislamiento nativo de *Beauveria bassiana* ya seleccionado para control de *C. pomonella* (Qu B323), al igual que el nematodo *Sterneinema feltiae* seleccionado de suelos Chilenos como patógeno de la polilla de la manzana (Qu N820)( Gerding et al, 1999; Unruth y Lacey. 2001). El Carpovirusine se adquirirá en el comercio establecido.

6.- Irradiación de adultos de polilla. Los adultos colectados disponibles para la irradiación serán mantenidos en fría (4°C) y transportados a Santiago a la CCHEN para ser irradiados con 150 Gy en tiempo definido por la agencia (Bloem and Bloem, 2000). El mismo día de la irradiación serán enviados a la XI región para su liberación. Esta liberaciones se iniciarán a partir del segundo año una vez conocida con certeza la densidad de polillas en la zona , iniciando liberaciones semanales de al menos 1500 polillas irradiadas por ha (Bloem and Bloem, 2000)

7.-Liberación y evaluación de poblaciones en la XI región y VII región. La liberación de los agentes de control biológico dependerá de la especie que se trate. *Mastrus* será utilizado como adulto en liberaciones en huertos comerciales durante el otoño e invierno cuando existen larvas diapausantes. Durante la primavera y verano podrán hacerse liberaciones en hospederos alternativos tales como membrillos, perales, manzanas, nogales en donde exista la seguridad que no se aplican insecticidas. En la XI región los parasitoides serán transportados en larvas parasitadas y la emergencia de los adultos se efectuará en los laboratorios de INIA Tamelaike. Las evaluaciones de efecto del parasitoide se hará a través de trampas de feromonas y semioquímicos, debido a la pequeñez de las poblaciones además de la recolección de larvas en trampas de cartón corrugado y cálculo de su parasitismo. En la VII región la evaluación se realizará a través de la presencia de los adultos de *Mastrus* colectados a través de larvas centinelas colocadas en los árboles y evaluación del parasitismo de larvas. También se utilizará la evaluación a través de trampas de feromonas y semioquímicos y nivel de daño en frutos.

En el caso de *Ascogaster*, las liberaciones se harán como adultos en los períodos de máxima presencia de huevos de la polilla determinada a través de trampas de feromonas y grados días. Se evaluará la efectividad de las liberaciones como larvas parasitadas sobre todo en la VII región en donde existe mayor cantidad de frutos disponibles. En el caso de la XI región, principalmente, si se determinara una alta proporción de esterilidad de machos de la polilla de la manzana en la producción de laboratorio de *Ascogaster*, se podrían liberar estos individuos (polillas) para realizar un programa de macho esterilidad. La evaluación de establecimiento se realizará a través del uso de huevos centinelas y de captura en trampas de feromonas y

semioquímicos, además de porcentaje de manzanas dañadas.

Los *Trichogramma* serán liberados en cartulinas de una pulgada cuadrada de huevos parasitados en una proporción de 0.5 pulgadas cuadradas por árbol desde el momento que se detecte el vuelo de las polillas con liberaciones quincenales. La evaluación se realizará detectando huevos parasitados y por medio del uso de huevos centinelas y fruta dañada. La evaluación del efecto de los entomopatógenos se realizará utilizando trampas de emergencia del suelo en primavera y verano y colecta de larvas diapausantes en los árboles aplicados en invierno.

Los entomopatógenos serán aplicados en concentraciones de  $10^8$  esporas por mL, junto a ellos se realizarán estudios de uso de el virus de la granulosis comercial (Carpovirus) (Quintana, 2006) según las recomendaciones del fabricante. Estos agentes entomopatógenos se utilizarán como medidas curativas a la fruta de acuerdo al biofix de la polilla de la manzana, también se aplicarán al suelo, según el agente, en la primavera y verano (primera y segunda generación) de manera que actúen sobre las larvas que bajan a pupar.

Se llevarán a cabo estudio de laboratorio y campo para estimar la mejor combinación de enemigos naturales a liberar, y ver si entre ellos hay un efecto sinérgico (mayor mortalidad de polilla de la manzana que la suma del efecto de cada uno) o hay interferencia (mortalidad del conjunto menor a la que produce el enemigo natural más eficiente).

8.-Desarrollo de trampas con semioquímicos. Hoy existen moléculas identificadas de semioquímicos que atraen a machos y hembras de la polilla de la manzana (Light and Knight,2001; Wang et al. 2003; Hern and Dorn 2001). La Dra. Silvia Dorn, de Suiza, investigadora en este campo nos asesora para lograr la mejor formulación de estas moléculas, muchas de las cuales se encuentran disponibles en el mercado, otras sin embargo se deberán aislar e identificar en los laboratorios de Química de la Universidad de Concepción. La formulación en Chile significará una reducción en los costos para el productor.

9. Catastro de especies hospederas de la polilla de la manzana en Chile Chico. Se determinará la ubicación georeferenciada de cada especie frutal hospedera de la polilla la polilla.

10.- Evaluación de efecto de los agentes de control sobre entomofauna benéfica. Los agentes de control que se utilizarán ya están introducidas oficialmente con su cuarentena al día y por tanto su especificidad aprobada Sin perjuicio de esto, se llevarán a cabo evaluaciones para determinar el potencial efecto de los controladores biológicos liberados sobre la entomofauna benéfica presente en los huertos o algunas

especies nativas que presentes en las zonas y que pudieran verse afectadas negativamente. Los Hongos entomopatógenos y los nemátodos entomopatógenos nativos se han estado probando contra algunos insectos benéficos tales como abejas, bombus y parasitoides comunes de encontrar en agroecosistemas sin evidencia de un mayor impacto negativo. Sin embargo para las aplicaciones al suelo en los huertos de manzanos se evaluará el efecto sobre depredadores y otros insectos

11. Divulgación de los resultados. En la XI se demostrarán los resultados a organismos públicos y privados, agricultores, estudiantes ( Escuela y Liceo) para sensibilizar a la población en la mantención de la zona libre de polilla de la manzana. En la VII región la difusión de los resultados se realizará en los huertos de los agricultores del GTT de manzanas en donde se realizarán las liberaciones