

## **PROTOCOLO**

**Evaluación de la eficacia y período de protección de los insecticidas sobre *Lobesia botrana* (Denis&Schiffermüller) en ensayos de campo en vid (*Vitis vinífera*), con infestación controlada.**

**Mesa Público-Privada de Investigación del Programa Nacional de *Lobesia botrana* (PNLb)**

**Diciembre de 2018**

### **Introducción**

El presente protocolo para la evaluación en campo de la eficacia de los insecticidas para el control de *Lobesia botrana*, es el producto de un trabajo conjunto público-privado de la Mesa de Investigación del PNLb, liderada por INIA y FDF y conformada por investigadores y profesionales de diversas instituciones como INIA, FDF, Universidad de Chile, Universidad Católica, ASOEX, y SAG. Además, el borrador de este protocolo fue enviado a asociaciones gremiales como AFIPA e IMPPA, cuyas observaciones fueron analizadas por la Mesa de Investigación y el SAG.

### **1. Objetivo**

Evaluación de un plaguicida con el objeto de determinar su eficacia y período de protección sobre *Lobesia botrana*, bajo condiciones edafoclimáticas nacionales.

El SAG evaluará los resultados generados por la estación experimental conductora de los ensayos para autorizar el uso del plaguicida en la lista de productos para el control de la plaga.

Será responsabilidad de la empresa química titular del plaguicida enviar un único reporte por producto evaluado con los resultados en los plazos que el SAG defina. El ensayo debe ser ejecutado respetando todas las exigencias mínimas establecidas en este documento. De no seguir los lineamientos, el plaguicida no podrá ser evaluado.

## 2. Alcance

El o los ensayos se realizarán en Estaciones Experimentales o huertos comerciales previamente autorizados por el SAG, ubicados en las Regiones Metropolitana, O'Higgins y Maule, que se encuentren bajo el esquema de contención de la plaga y dentro de los radios de control obligatorio de la plaga (500 metros). Los ensayos deberán registrarse por el presente protocolo y sus anexos.

## 3. Antecedentes generales

Se deberá proporcionar al SAG:

- Identificación de la Institución o empresa responsable de la ejecución del ensayo.
- Contraparte de la Institución o empresa ante el SAG
- Empresas químicas y plaguicidas a evaluar.
- Identificación, ubicación y georeferencia de la Estación Experimental o huerto comercial (incluir mapa) y código CSG si corresponde.
- Fecha estimada de inicio y término de los ensayos.

## 4. Definiciones

- **Ensayo:** conjunto de un máximo de 6 tratamientos empleados en una misma variedad de uva, incluido el tratamiento testigo.
- **Tratamiento del ensayo:** Evaluación de un plaguicida con el objeto de determinar su eficacia y período de protección sobre *Lobesia botrana*, bajo condiciones edafoclimáticas nacionales, el cual debe estar autorizado por el SAG.
- **Tratamiento control (Testigo):** Se trata de un tratamiento sin aplicación, que no recibirá sustancia activa ni agua.

## 5. Condiciones experimentales

### 5.1 Cultivo: *Vitis vinífera*

Los ensayos podrán ser realizados en cualquier variedad de vid de mesa o vinificación, de acuerdo a la disponibilidad en cada Estación Experimental o huerto comercial.

## 5.2 Organismo plaga: *Lobesia botrana*

Los estados y estadios corresponderán a:

- a) hembras fertilizadas. Para cada partida se debe corroborar dicho estado mediante análisis de laboratorio del material instalado en campo, escogido al azar por la estación experimental que realiza el ensayo. En el caso de plaguicidas con efecto ovicida se debe contar con al menos un 90% de hembras inseminadas.
- b) huevos: identificar el estado dominante a tratar, indicando la proporción de blancos, amarillos y cabeza negra.
- c) larvas: neonatas estadios L1, L2.

El estado y estadio a controlar dependerá de las características del plaguicida a evaluar: ovicida y/o larvicida. En el caso de plaguicidas con efecto larvicida deberá utilizarse huevos cabeza negra **sobre el 90% o un mínimo de 18 huevos**.

Será responsabilidad de cada Estación Experimental autorizada, contar con material de calidad para cumplir con el número de estadios mínimos exigidos en este Protocolo para realizar los ensayos de eficacia y período de protección.

**5.3 Origen del material biológico:** crianza artificial de un laboratorio autorizado por el SAG

## 5.4 Antecedentes del huerto

- Variedad,
- Sistema de conducción,
- Superficie del ensayo y cuartel,
- Marco de plantación,
- Plan de manejo de *Lobesia botrana* (confusión sexual, químicos)
- Plan de manejo para otras plagas

Además, se deberá especificar las características del lugar de ensayo:

- tipo de suelo,
- fertilización,
- porta injerto,
- edad de las plantas,
- altitud.

## 5.5 Diseño experimental

La estación experimental deberá seleccionar el diseño dependiendo de la condición del huerto seleccionado. El diseño experimental podrá corresponder a:

- a) Diseño completamente al azar (DCA), con al menos cuatro (4) repeticiones. Se deben asignar los tratamientos al azar, a través de una tabla de números aleatorios u otro método azaroso.
- b) Bloques completos al azar (BCA), con al menos cuatro (4) repeticiones, correspondiendo el bloque a una o más hileras, dependiendo del lugar del ensayo. Se deberá utilizar BCA en el caso que exista un elemento perturbador, en donde la estación experimental deberá definir cuál será el factor de bloque que influirá en la variable respuesta.

En cada repetición, un tratamiento deberá estar conformado por al menos diez (10) plantas de vid, donde se infestarán 10 racimos por tratamiento en cada repetición. Tanto las plantas como los racimos infestados, deberán quedar debidamente identificados en cada unidad experimental.

De manera de verificar la presencia de las larvas mínimas exigidas por el servicio, se adicionará un racimo, denominado "racimo número 11", el que deberá estar presente en todas las repeticiones de los tratamientos. Este racimo se deberá revisar previo a la aplicación.

En el caso de ensayos con plaguicidas con acción ovicida, la repetición de cada tratamiento deberá estar conformada por al menos diez (10) plantas de vid, donde se infestarán 15 racimos, con el fin de asegurar la ovipostura mínima en los 10 racimos que deben ser evaluados en laboratorio, en su eficacia y período de protección.

Para todas las evaluaciones se debe considerar que la población inicial, siempre debe tener **un coeficiente de variabilidad no mayor a 35%**. En el caso de los ensayos de acción larvicida el coeficiente de variación debe calcularse en el número de huevos eclosados y en las larvas totales encontradas en la evaluación. En cuanto a los ensayos de acción ovicida, el coeficiente de variación debe calcularse principalmente en los huevos sobre racimos de la evaluación de eficacia.

Tanto las plantas como los racimos infestados, deberán quedar debidamente identificados en cada unidad experimental. Además, se debe generar un croquis detallado de la ubicación de las plantas.

## **5.6 Metodología**

Estos ensayos han sido diseñados, considerando las mortalidades expresadas bajo condiciones de campo con infestación controlada de huevos y larvas. La literatura indica mortalidades entre 30 - 70% y más dependiendo del período fenológico asociado a cada una de las generaciones de desarrollo de *L. botrana*. (Ioriatti, et al., 2009; Fermaud et al., 1996).

### **5.6.1 Ensayos para plaguicidas de acción ovicida**

Esta metodología podrá ser aplicada para productos con exclusiva acción ovicida, debiendo realizar la respectiva evaluación de eficacia y además la evaluación del período de protección.

#### **5.6.1.1 Evaluación de eficacia**

La infestación se debe realizar al menos 3 días antes de la aplicación de los tratamientos. En cada racimo seleccionado, protegido con tul manto térmico o muscelina para evitar la fuga de los individuos, se colocarán un mínimo de doce (12) hembras fertilizadas las cuales para efecto del ensayo deberán oviponer un mínimo de 20 huevos promedio por racimo en un plazo aproximado de 2 a 3 días, según condiciones climáticas. Con el fin de asegurar una cantidad mínima de huevos, se considera aumentar la cantidad de racimos a infestar, pasando de 10 a 15 racimos por repetición, manteniendo la evaluación final de 10 racimos en laboratorio. Ver Anexo 2: Procedimiento de infestación artificial. Considerando los 20 huevos por racimo, se exigirá un mínimo de 200 huevos por repetición y 800 por tratamiento. Los ensayos que no cumplan con dichas cantidades no podrán continuar con el proceso de evaluación posterior de eficacia.

#### **5.6.1.2 Evaluación de período de protección de los plaguicidas de acción ovicida**

Para evaluar el período de protección de los insecticidas ovicidas, se deberá infestar 3 días antes del período a evaluar (ejemplo: se infestará al día 4 post aplicación para evaluar a los 7 días de período de protección).

En cada racimo seleccionado, protegido con tul manto térmico o muscelina para evitar la fuga de los individuos, se colocarán un mínimo de doce (12) hembras fertilizadas las cuales para efecto del ensayo deberán oviponer un mínimo de 20 huevos promedio por racimo en un plazo aproximado de 2 a 3 días, según condiciones climáticas. Con el fin de asegurar una cantidad mínima de huevos, se considera aumentar la cantidad de racimos a infestar, pasando de 10 a 15 racimos por repetición, manteniendo la evaluación final de 10 racimos en laboratorio. Ver Anexo 2: Procedimiento de infestación artificial. Considerando los 20 huevos por racimo, se exigirá un mínimo de 200 huevos por repetición y 800 por tratamiento. Los ensayos que no cumplan con dichas cantidades no podrán continuar con el proceso de evaluación posterior de eficacia.

## 5.6.2 Ensayos para plaguicidas de acción larvicida

### 5.6.2.1 Evaluación de eficacia

La infestación se debe realizar, entre 1 y 3 días previos a la aplicación de los tratamientos con una lámina plástica con huevos cabeza negra. Para verificar el estado larvario antes de la aplicación, se requiere que por cada repetición se aísle una placa de 20 huevos, los cuales debidamente marcados, se mantendrán en cámara de crianza, simulando las condiciones ambientales del lugar donde se están realizando los ensayos verificando la eclosión y el tiempo en que se logra el estadio que se requiere evaluar. Cada racimo seleccionado se infestará con una lámina de plástico con un mínimo de 20 huevos cabeza negra, asegurando así la homogeneidad del material, los cuales serán instalados en la parte central del racimo a nivel del raquis quedando **en contacto directo con las bayas del racimo**, con un hilo o alambre (Figura 1). Se debe considerar que los huevos eclosarán aproximadamente a las 24 horas post instalación, dependiendo de la temperatura una vez verificada en laboratorio y corroborado en el tratamiento testigo y con el racimo número 11 la eclosión de larvas, se deberá retirar la lámina de plástico previamente identificada y determinar bajo condiciones de laboratorio (lupa) el número de huevos eclosados, calculando así el número de larvas presentes en cada racimo en evaluación (Ioratti et al. 2009). La cantidad mínima de larvas exigidas por racimo es de 2 larvas promedio de estadio L1 o L2, número que deberá corresponder a las larvas encontradas en el racimo y no a huevos eclosados en las placas de infestación. En total se requieren 20 larvas por repetición y 80 por tratamiento teniendo en cuenta lo anterior mencionado. Los ensayos que no cumplan con dichas cantidades no podrán continuar con el proceso de evaluación posterior de eficacia.



Figura 1. Detalle de la instalación de la lámina de plástico (colgados con alambre o hilo)

### 5.6.2.2 Evaluación de período de protección de los plaguicidas de acción larvicida

Para el estudio del período de protección, se determinará la eficacia de los plaguicidas de acción larvicida sobre *L. botrana* en diferentes momentos post aplicación, los cuales podrán ser definidos por cada empresa en consenso con el investigador, considerando las características de cada plaguicida, considerar si el producto es regulador de crecimiento, si actúa por contacto, ingestión, etc.

Para evaluar el período de protección de los insecticidas larvicidas, se debe infestar con huevos cabeza negra entre 1 a 3 días antes (ejemplo: si se quiere evaluar 10 días de protección se deberá infestar entre el día 7 al día 9 después de la aplicación).

Para evaluar el período de protección se deberán escoger 10 nuevos racimos por repetición (40 por tratamiento) para cada período de protección.

La cantidad mínima de larvas exigidas por racimo es de 2 larvas promedio de estadio L1 o L2, número que deberá corresponder a las larvas encontradas en el racimo y no a huevos eclosados en las placas de infestación. En el caso de no cumplir con esta exigencia, se puede reinfestar utilizando el material ya eclosado mantenido en condiciones de laboratorio y correspondiente al tratamiento en estudio. En total se requieren 20 larvas por repetición y 80 por tratamiento teniendo en cuenta lo anterior mencionado. Los ensayos que no cumplan con dichas cantidades no podrán continuar con el proceso de evaluación posterior.

Para todas las evaluaciones se debe considerar tener un coeficiente de variabilidad no mayor a 35% en el número de huevos eclosados y en las larvas totales encontradas en la evaluación.

### 5.6.3 Ensayos para plaguicidas de acción larvicida-ovicida

Aquellos productos que requieran realizar una evaluación considerando ambas categorías deberán evaluar su eficacia con ambas metodologías. En cuanto al periodo de protección, este será establecido a través de la metodología de evaluación de plaguicidas con efecto larvicida.

## 6. Aplicación de tratamientos

### 6.1 Modo de aplicación

El producto se aplicará a la dosis propuesta por el fabricante del plaguicida o la empresa representante en Chile, bajo condiciones de Buenas Prácticas Agrícolas. Para todos los casos se utilizará la dosis mayor recomendada por el fabricante, considerando que no se produzcan incumplimientos a los LMR nacionales. Esto se debe expresar en kg (o litros) de producto formulado por hectárea, también debe indicarse la dosis en gr. de ingrediente activo por ha y en gr. o cc de producto comercial e i.a. por hectolitro.

Al momento de la aplicación el predio deberá presentar un estado de desarrollo fenológico de baya cuajada o superior. No se podrán aplicar los tratamientos en estado de floración.

Para determinar el volumen de aplicación, (VDA) se debe calcular el TRV (tree row volumen). En período de plena vegetación el factor de dosificación (D) fluctuará entre 80 y 90. En donde:

$$VDA (l/ha) = \frac{TRV /m^3/ha \times D (L)}{1000 (m^3)}$$

Para optimización de la aplicación en vides se utilizará la información indicada en el Anexo 2 “Cartilla Divulgativa N° 1 para la Calibración de aplicaciones en vid”, emitida por INIA La Cruz.

Se deberá informar el tipo de maquinaria a utilizar, la cual sólo podrá corresponder a una nebulizadora, bomba de espalda con motor o motopulverizadora con pitón, debiendo presentar un perfecto estado de mantención (mangueras, manómetro, agitador hidráulico, boquillas, otros). La aplicación será chequeada utilizando papel hidrosensible en tres plantas escogidas al azar por tratamiento, donde se demuestre una distribución uniforme del producto en todas las plantas de cada parcela. De acuerdo al tamaño y cantidad mínima recomendado para insecticidas el valor recomendado es de 275 micras con un cubrimiento entre 40 a 70 gotas por cm<sup>2</sup>. (Gil E. 2013, Porras.A.2013).



## 7. Modo de evaluación, registro y mediciones

### 7.1 Determinación de la eficacia de los plaguicidas

- En caso de productos con efecto ovicida, la evaluación de eficacia considerará la medición de los parámetros y frecuencia, según se detallan en el siguiente cuadro:

Cuadro 1. Parámetros y Frecuencia de medición, para la evaluación de eficacia de plaguicidas con efecto ovicida.

Evaluación (nº)	Frecuencia DDA*	Registro/ racimo	Número de racimos	Observaciones
1	Pre aplicación  (inspección en campo)	Número de huevos totales/racimo(marcar en campo con lápiz indeleble)	40 **  racimos/tratamiento	Infestar con hembras apareadas de 2 a 3 días de edad
2	7  (inspección en laboratorio)	Número de huevos totales/racimo  Número de huevos eclosados/racimo  Número de larvas vivas/racimo	40**  racimos/tratamiento	

\*días después de la aplicación \*\* 10 racimos/ repetición/tratamiento

- Para productos con efecto larvicida, la evaluación de eficacia considerará la medición de los parámetros y frecuencia, según se detallan en el siguiente cuadro:

Cuadro 2. Parámetros y Frecuencia de medición, para la evaluación de eficacia de plaguicidas con efecto larvicida.

Evaluación (nº)	Frecuencia DDA*	Registro	Número de racimos	Observaciones
1	Pre aplicación (inspección de huevos mantenidos en laboratorio)	Número de huevos eclosionados en las láminas	Se evalúa cada placa de cada repetición	
2	7 (inspección en laboratorio)	Número de larvas vivas/racimo  Número de bayas dañadas por racimo  Número de larvas muertas	40 ** racimos/tratamiento	

\*días después de la aplicación; \*\* 10 racimos/ repetición/ tratamiento

Considerando que la infestación tanto de la parcela tratada y testigo siempre presenta diferencias, es que el cálculo del porcentaje de Eficacia se debe realizar utilizando la fórmula de Henderson & Tilton para individuos vivos con poblaciones desuniformes.

### Formula de Henderson & Tilton

$$\text{Corregido\%} = \left( 1 - \frac{n \text{ en Co antes del tratamiento} * n \text{ en T después del tratamiento}}{n \text{ en Co después del tratamiento} * n \text{ en T antes del tratamiento}} \right) * 100$$

Dónde: n = población de insectos, T = tratado, Co = Control

Infestación en parcela <b>tratada antes del</b> tratamiento
Infestación en parcela <b>tratada después del</b> tratamiento
Infestación en la <b>parcela testigo antes del</b> tratamiento
Infestación en la <b>parcela testigo después del</b> tratamiento

Henderson, CF y EW Tilton, 1955. J. Econ. Entomol. 48: 157-161

Para insecticidas con acción ovicidas se deberá considerar como población inicial el número de huevos totales ovipuestos.

Para insecticidas con acción larvicida se deberá tomar como población inicial (antes del tratamiento), los huevos eclosados en las placas utilizadas, corroborados en observación de laboratorio bajo lupa estereoscópica, utilizando la técnica de azul de metileno.

## **8. Análisis de datos y presentación de los resultados**

Para el análisis estadístico de los resultados, se utilizarán las mismas variables evaluadas en el punto anterior y se deberán tomar los datos de todos los tratamientos haciendo un análisis para cada grupo ensayado. No deberán eliminarse datos.

Los análisis deberán entregarse en el anexo del informe final, incluyendo una ficha resumen indicando los valores observados (Formato en anexo 3).

Para el caso que el análisis estadístico requiera transformaciones de datos, estos deberán venir debidamente justificados.

En el informe se deberán presentar todas las variables evaluadas en número y porcentaje, indicando los valores observados. Se requerirá toda la data cruda generada en formato digital (**Excel**), junto con los análisis estadísticos (cuadro ANDEVA) en los anexos. En el caso que no se presente alguna de ellas, no se revisará el informe

## **9. Plazos de ejecución de ensayos y entrega de informes finales**

Los ensayos podrán iniciarse entre el 15 de noviembre y el 16 de febrero, todos los ensayos deberán estar concluidos al 31 de marzo y el plazo máximo de entrega de resultados será el 30 de abril.

## **10. Información meteorológica**

Se deberán registrar los datos meteorológicos que puedan afectar la calidad y la persistencia del tratamiento. Esto incluye considerar las condiciones ambientales al momento de la infestación y al momento de la aplicación incluyendo al menos precipitaciones (cantidad en mm), temperatura (media, máxima, mínima en °C), humedad relativa en el cuartel, hora de inicio y término de la infestación o aplicación y estado fenológico del cultivo.

El viento sólo se medirá el día de la aplicación. La información meteorológica será registrada previa a la fecha de aplicación (a lo menos tres días antes y durante todo el tiempo que dure el ensayo).

En caso de presencia de alguna condición meteorológica de riesgo para el ensayo, como temperaturas altas extremas, precipitaciones, etc, queda bajo criterio del investigador la suspensión o eliminación de las actividades, previa confirmación al PNLb.

## 11. Análisis de los resultados obtenidos

Una vez realizados los ensayos y emitidos los informes respectivos, los resultados serán analizados según una tabla de ponderación (Cuadro 3), en donde cada variable observada que presente diferencias estadísticas con el testigo tendrá un puntaje asignado.

Según los resultados obtenidos serán autorizados todos los productos que obtengan 4 o más puntos según la tabla de ponderación.

Cuadro 3. Tabla de ponderación.

Variable		Puntaje
Número de larvas vivas/racimo		1
Número de bayas dañadas/racimo		1
Número de larvas muertas/racimo		1
Mortalidad HT (%)	Bajo (50%≤60%)	1
	Medio (60%≤80%)	2
	Alto (80%≤100%)	3
PUNTAJE MAXIMO		6

## ANEXOS

### **Anexo 1. Medidas de bioseguridad a implementar en los ensayos para probar la eficacia de insecticidas en campo (elaboradas por el Servicio Agrícola y Ganadero)**

1. Sobre el lugar del Ensayo:
  - El predio debe ubicarse en áreas de control de la plaga y no podrá corresponder a regiones bajo el esquema de erradicación, áreas consideradas de baja prevalencia o lugares que el SAG estime como no adecuados para la realización de los estudios.
  - La autorización del predio y sectores para la realización del ensayo tendrá una duración máxima de una temporada (desde septiembre del primer año a agosto del año siguiente), renovables a solicitud del interesado previo cumplimiento de los requisitos solicitados por el SAG.
  - El predio donde se implementen los ensayos deberá contar con bajos niveles poblacionales de la plaga. (Con el fin de evitar interferencia generada por posibles infestaciones de la plaga)
2. Requerimientos de bioseguridad
  - Se deberá entregar un mapa con la ubicación del predio y sectores del ensayo (coordenadas geográficas y polígonos, identificando tratamientos, repeticiones y testigo).
  - El material que utilizará para enmallar los racimos deberá ser una malla tipo "manto térmico" (Figura 2) que se compra por rollo o tipo "velo liso" (muselina) (Figura 3 y 4), con la cual se debe generar una bolsa de 34 cm de largo por 20 cm de ancho.



Figura 2. Rollo de malla manto térmico.

Las especificaciones de la malla "manto térmico" se presentan a continuación:

Nombre : Manto Térmico o Antiheladas  
(100% material virgen de Polipropileno)  
Medidas de anchos : 1.05 – 1.38 – 4.10 mts  
Medidas de largo : 1.000 mts  
Color : Blanco  
Gr/m2 : 17 gr/m2  
Permeabilidad a la luz : 98%  
Sombra : 2% (SOMBRA CON LUZ DIFUSA)

Las especificaciones del velo liso o muselina corresponden a las siguientes especificaciones:

- ✓ Dsign No. Velo
- ✓ Width. 280 cm
- ✓ Colour. Blanco
- ✓ Length. 52,6 M

- El material del espiral puede ser alambre grueso corresponde al N° 10 y se utiliza aproximadamente 2 metros para una bolsa de esas dimensiones, según lo ha implementado INIA en ensayos anteriores.
- Debido a que los predios donde se realizará el ensayo están insertos en áreas bajo control obligatorio de la plaga, sólo podrán eximirse de la realización de los tratamientos establecidos en las regulaciones oficiales, en los sectores donde se realice el estudio, previa autorización mediante resolución emitida por el SAG. Lo anterior, no exime al predio de cumplir con las medidas del control oficial SAG referidas a los movimientos de fruta y circulación de artículos reglamentados.
- Al finalizar el estudio, se deberá realizar un tratamiento con aplicaciones químicas con los productos autorizados por el Control Oficial, en todo el sector donde se realizó el estudio, incluido el testigo, en la medida que el ciclo de la plaga lo permita, u otro tratamiento de control propuesto por el interesado y aprobado por el Servicio.
- El SAG tendrá la facultad de suspender en cualquier momento el estudio y exigir que el predio se incorpore a un plan de manejo, si se determina un posible riesgo para los predios vecinos o el no cumplimiento de alguna de las medidas dispuestas en el presente protocolo.
- Todas las medidas antes mencionadas serán verificadas por inspectores del Servicio. En el caso que el inspector considere que existe riesgo de dispersión de la plaga desde el lugar del ensayo, podrán ser exigidas medidas adicionales de mitigación del riesgo.
- Se deberá describir a priori el procedimiento de eliminación del material biológico y desechos sobrante, para el caso en que se produzcan.
- Sobre el material biológico proporcionado para la realización de los ensayos Indicar e informar al SAG cuando el material sea llevado a otras empresas con fines asociados a los ensayos en cuestión, previamente autorizados por el SAG.

### 3. Sobre los registros:

- El interesado deberá dar aviso al Programa Nacional de *Lobesia botrana* (PNLb) de las fechas en que realizará las aplicaciones donde se realice el ensayo con al menos 2 días

hábiles de anticipación. Comunicar al correo [maria.oyarzun@sag.gob.cl](mailto:maria.oyarzun@sag.gob.cl) y [edith.fuentes@sag.gob.cl](mailto:edith.fuentes@sag.gob.cl)

- La institución ejecutante de los ensayos deberá contar con un registro de las fechas en que se realizaron los tratamientos, las dosis aplicadas, mojamientos, estadio de las larvas y huevos al momento de realizar la aplicación y otros. Estos registros deben estar disponibles en todo momento para los fiscalizadores del SAG.

4. Sobre la calidad del material parental:

Para la verificación de hembras grávidas o fecundadas, se debe corroborar dicho estado mediante análisis de laboratorio del material instalado en campo, escogido al azar por la estación experimental que realiza el ensayo.

5. Sobre el traslado del material parental:

Para el traslado desde laboratorio a huerto, los tubos con las polillas se deben colocar en un cooler con hielo y /o Ice pad, lo suficiente para mantener la temperatura menor o igual 10°C durante el traslado. Luego el cooler debe ser sellado con cinta adhesiva para su traslado al huerto.

Cada traslado de material biológico vivo hacia el huerto, deberá ser avisado al SAG ([maria.oyarzun@sag.gob.cl](mailto:maria.oyarzun@sag.gob.cl), [edith.fuentes@sag.gob.cl](mailto:edith.fuentes@sag.gob.cl) ) con 48 hrs de anticipación.

## Anexo 2. Procedimiento de infestación

Las hembras fertilizadas (previo cruzamiento en laboratorio por un periodo de 2 a 3 días a temperatura ambiente (25°C) provenientes de crianza artificial), se deben colocar en grupos de a 2 polillas en un “tubo tipo vacutainer” de 4 a 6 ml con tapa de goma, manejado entre 5 a 7 °C en cámara refrigerada. La infestación de cada racimo, se procede mediante la manipulación entre dos personas, una sostiene la abertura superior del tul y la otra persona saca 4 tubos vaciando uno por uno mediante un golpe físico de la base del tubo al interior del tul. Dado el frío mantenido del material, la polilla caerá sin dificultad. Cuando se pretenda evaluar productos con efecto ovicida, considerar que los huevos eclosionarán entre 7 y 10 días aproximadamente post ovipostura. Se deberá confirmar el estado de la plaga mediante observación previa al tratamiento. Para lo anterior, mediante el uso de aspirador manual deberán ser retirados los adultos, verificando la infestación y contabilizando el número de huevos por racimo. De esta manera se conocerá la población inicial de cada tratamiento.

En la evaluación de plaguicidas con acción ovicida/larvicida, se deberán realizar ensayos por separado.

Para mantener el material (adultos o huevos) en el racimo se instalará, cubiertas de tul como se muestra en las siguientes fotos. Se deberá incluir un espiral de alambre para evitar que los racimos queden en contacto con el tul.



Figuras 3 y 4. Detalle de trampa jaula. Trampa instalada en racimo de uva. Pupa y adulto de *L. botrana* en trampa.



### Anexo 3. Ficha resumen

#### Valores observados y productos son a modo de ejemplo

Empresa:	SAG	
Tratamientos (Producto/ia)	AAA 75 WG	clorarai Testigo no tratado
Dosis:	20cc/Hl para 800 lt de agua	
Ejecutante	Estación experimental	
Fecha aplicación:	11/01/2016	
Mecanismo de acción	Regulador de crecimiento	
	Medición eficacia	
Variable evaluada	AAA 75 WG	Testigo
N° de larvas <b>vivas</b> por racimo por tratamiento (promedio valores observados)	0,35 a	4,4 b
N° de racimos con daño (promedio valores observados)	38 a	39 a
N° bayas dañadas por racimo (promedio valores observados)	5,30 a	13,12 b
N° de larvas <b>mueras</b> observadas por racimo por tratamiento	4,15 b	1,01 a
Mortalidad (Formula Henderson-Tilton) %	69,5	-

Los valores se extraen del analisis estadistico  
Señalar con letras si hubo diferencia estadistica

Variable evaluada	Medición del período residual							
	7 días después de la aplicación		X días después de la aplicación		X días después de la aplicación		X días después de la aplicación	
	AAA 75 WG	Testigo	AAA 75 WG	Testigo	AAA 75 WG	Testigo	AAA 75 WG	Testigo
N° de larvas <b>vivas</b> por racimo por tratamiento (promedio valores observados)	0,8 a	5,5 b	1,8 a	6,5 b				
N° de racimos con daño (promedio valores observados)	34 a	30 a	35 a	37 a				
N° bayas dañadas por racimo (promedio valores observados)	8,50 a	16,12 b	5,50 a	4,5 a				
N° de larvas <b>mueras</b> observadas por racimo por tratamiento	2,15 b	1,01 a	1,1 b	0,9 b				
Mortalidad (Formula Henderson-Tilton) %	81,5	-	51,5	-				

## Literatura citada

EPPO. European and Mediterranean Plant Protection Organization. 1997. PP 1/11(3)  
Efficacy evaluation of insecticides *Eupoecilia ambiguella* and *Lobesia botrana*

Fermaud , M.,I P. Pracros, R. Roehrich and J. Stockel 1996. Evaluation of an Artificial Infestation Technique of Grape with *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) Journal of economic entomology

Ioriatti, C., Anfora, G., Angeli, G., Mazzoni, V., and Trona, F. 2009. Effects of chlorantraniliprole on eggs and larvae of *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae). *Pest Manag. Sci.* 65:717–722

Henderson, CF y EW Tilton, 1955. Tests with acaricides against wheat mites. Journal of economic entomology 48: 157-161