



**UNIVERSIDAD DE TALCA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**Efecto de una dosis subletal de acetamiprid sobre el parasitismo de *Acerophagus flavidulus*  
frente a densidades crecientes de chanchito blanco de la vid**

**MEMORIA DE TÍTULO**

**XIMENA CAROLINA ALBORNOZ ENCINA**

**TALCA-CHILE,  
2021**

## CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021



**UNIVERSIDAD DE TALCA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**Efecto de una dosis subletal de acetamiprid sobre el parasitismo de *Acerophagus flavidulus*  
frente a densidades crecientes de chanchito blanco de la vid**

**Por**

**XIMENA CAROLINA ALBORNOZ ENCINA**

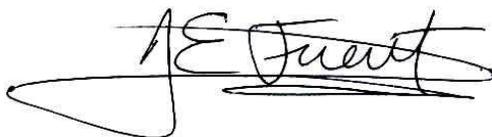
**MEMORIA DE TÍTULO**

**Presentada a la  
Universidad de Talca como  
Parte de los requisitos para optar al título de**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**TALCA- 2021**

**APROBACIÓN:**



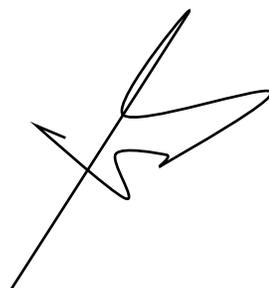
---

**Profesor Guía: Biol. PhD. Eduardo Fuentes Contreras.**

**Profesor Titular**

**Escuela de Agronomía**

**Facultad de Ciencias Agrarias**



---

**Profesor informante: Ing. Agr. Mg. Cs. Catalina Radrigán Navarro**

**Escuela de Agronomia**

**Facultad de Ciencias**

**Agrarias**

Fecha de presentación de la Defensa de Memoria: 11 de junio de 2021.

## **AGRADECIMIENTOS**

Debo reconocer que nunca he sido muy buena para expresar mis sentimientos, pero la etapa universitaria ha sido un proceso, el cual me ha llenado de aprendizaje, lo que hace que sea una etapa muy especial para mí. Por la misma razón me gustaría agradecer todo el apoyo y amor que recibí de diferentes formas que, me han hecho crecer y llegar a esta instancia. Primero agradecer a mi familia, a mi padre y madre por enseñarme valores, a ser una persona responsable y respetuosa, entregándome día tras día su amor y optimismo para los momentos difíciles. A mis hermanos por ser personas que admiro muchísimo. También quiero agradecer a mis amigas de la vida, quienes me acompañaron en este hermoso viaje y a los lazos de amor y amistad que realice en la universidad. Los guardo en lo más profundo.

Agradezco a la profesora Catalina Radrigan quien fue una persona muy especial ya que, me dio la oportunidad de trabajar junto a ella, en este experimento. Agradecerle toda su paciencia y su rigurosa enseñanza en perfeccionar el desarrollo de esta tesis. También agradecer al profesor Eduardo Fuentes por sus consejos y buena disposición.

Por ultimo agradecer a todo el equipo de trabajo del laboratorio de sanidad vegetal de la Universidad de Talca, por entregarme su alegría, compañerismo y amabilidad, resolviendo dudas y compartiendo al momento de realizar los ensayos en el laboratorio.

## ABSTRACT

A study was conducted to determine the effects of a sublethal concentration of the neonicotinoid insecticide acetamiprid on the parasitoid *Acerophagus flavidulus* (Brethés) (Hymenoptera Encyrtidae), over increasing densities of its host, the obscure mealybug *Pseudococcus viburni* (Signoret). (Hemiptera: Pseudococcidae). We used 0.5% of the manufacturer's recommended rate of acetamiprid ( $12 \text{ g}\cdot\text{hL}^{-1}$ ) and distilled water as a control. Both treatments were applied residually on apple leaf discs. The parasitoids were in contact with the insecticide for 24 h. Then, one parasitoid was left in front of each density of mealybugs: two, four and six, respectively. After 14 days, successful parasitism, emergence of new parasitoids, longevity and secondary sex ratio of *A. flavidulus* were evaluated. In relation to successful parasitism, emergence and secondary sex ratio, no significant differences were observed among treatments or among the three densities of mealybugs offered to each *A. flavidulus* female. However, the longevity of parasitoids emerging from the mummies was reduced by the insecticide acetamiprid at the lowest density of mealybugs. These results indicate that it cannot be excluded that at very low concentrations of acetamiprid as used in this study, this neonicotinoid may cause sublethal effects on the parasitoid *A. flavidulus*.

## RESUMEN

Se realizó un estudio con el objetivo de determinar los efectos de una dosis subletal del insecticida neonicotinoide acetamiprid, sobre el parasitoide *Acerophagus flavidulus* (Brethés) (Hymenoptera Encyrtidae), frente a densidades crecientes de su hospedero, el chanchito blanco de la vid *Pseudococcus viburni* (Signoret). (Hemiptera: Pseudococcidae). Se utilizó el 0,5% de la dosis recomendada por el fabricante de acetamiprid ( $12 \text{ g}\cdot\text{hL}^{-1}$ ) y agua destilada como control. Ambos tratamientos fueron aplicados sobre discos de hoja de manzano de manera residual. Los parasitoides estuvieron en contacto con el insecticida por 24 h. Luego, se dejó un parasitoide frente a cada densidad de chanchitos blancos, dos, cuatro y seis, respectivamente. Luego de 14 días, se evaluó el parasitismo exitoso, emergencia de nuevos parasitoides, longevidad y razón sexual secundaria de *A. flavidulus*. En relación al parasitismo exitoso, la emergencia de nuevos parasitoides y la razón sexual secundaria, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ni entre las tres densidades de chanchitos blancos ofrecidos a cada hembra de *A. flavidulus*. Sin embargo, la longevidad de los parasitoides que emergieron desde las momias, sí se vio reducida por el insecticida acetamiprid en la densidad de chanchitos blancos más baja. Estos resultados indicarían que no se puede descartar que a bajísimas concentraciones de acetamiprid como las utilizadas en este estudio, este neonicotinoide pueda ocasionar efectos subletales en el parasitoide *A. flavidulus*.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 Hipótesis .....	3
1.2 Objetivo general .....	3
<b>2. REVISIÓN BIBLOGRÁFICA</b> .....	4
2.1 Generalidades del manzano .....	4
2.2 Exportación en Chile y superficie Nacional .....	4
2.3 Plaga cuarentenaria del manzano.....	5
2.3.1 Chanchito blanco de la vid ( <i>Pseudococcus viburni</i> ) .....	5
2.3.2 Morfología de chanchito blanco de la vid.....	5
2.4 Manejo del chanchito blanco de la vid .....	6
2.5 Control químico .....	6
2.6 Control biológico.....	7
2.6.1 <i>Acerophagus flavidulus</i> .....	7
2.6.2 Morfología y parasitismo de <i>Acerophagus flavidulus</i> .....	8
2.6.3 Estudios de toxicidad de neonicotinoides en parasitoides de pseudocócidos .....	8
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	10
3.1 Ubicación del ensayo.....	10
3.2 Obtención de controlador biológico <i>Acerophagus flavidulus</i> .....	10
3.2.1 Crianza de chanchito blanco de la vid.....	10
3.3 Bioensayos .....	10
3.2 Mediciones en el bioensayo .....	12
3.5 Diseño experimental y análisis estadístico .....	12
<b>4. RESULTADOS</b> .....	13
<b>6. CONCLUSIÓN</b> .....	17
<b>7. REFERENCIAS</b> .....	18

## ÍNDICE DE CUADROS

	Páginas
<b>Cuadro 4.1</b> Análisis de varianza para parasitismo exitoso y parasitoides emergidos de <i>Acerophagus flavidulus</i> de los tratamientos con acetamiprid y control, para tres densidades (2, 4 y 6 individuos) de <i>Pseudococcus viburni</i> .....	12
<b>Cuadro 4.2</b> Análisis de varianza para longevidad y razón sexual secundaria de <i>Acerophagus flavidulus</i> de los tratamientos con acetamiprid y control, para tres densidades (2, 4 y 6 individuos) de <i>Pseudococcus viburni</i> .....	13

## 1. INTRODUCCIÓN

El manzano (*Malus x domestica* Borkh) es uno de los frutos más cultivados a nivel mundial. Nuestro país es el principal exportador de manzanas en el Hemisferio Sur. La exportación de manzanas presenta varios desafíos, entre los cuales uno de los más importantes es la presencia de plagas de importancia cuarentenaria.

Los chanchitos blancos (Hemiptera: Pseudococcidae) están entre las plagas más importantes en fruticultura, ya que son la principal causa de rechazos cuarentenarios de frutas frescas de exportación. Esto significa un enorme costo para los agricultores, exportadoras y el país en general. Además, el control de estas plagas aumenta los costos de producción (Ripa, 2010).

El manejo integrado de plagas (MIP) combina diferentes tácticas, tales como el control químico, cultural y el biológico para reducir los daños económicos causados por las plagas (Marina, 2019). En particular, el control biológico es la acción de parásitos, depredadores o patógenos que mantienen poblaciones de otros organismos a un nivel más bajo de lo que pudiera ocurrir en su ausencia (DeBach, 1964). El control biológico se distingue de otras formas de control de plagas por actuar de una manera densodependiente, esto es; los enemigos naturales se incrementan en intensidad y destruyen una gran proporción de la población cuando la densidad de la población se incrementa y vice-versa (DeBach y Rosen, 1991).

La interacción entre plaguicidas y enemigos naturales, generalmente tienen un efecto adverso. El uso de algunos plaguicidas obstaculiza totalmente el empleo del control biológico (Talebi et al., 2008). Existen métodos en los cuales es posible disminuir este efecto, como por ejemplo la reducción de la cantidad o la frecuencia de aplicación de un producto, utilizando dosis menores de plaguicidas o también, el empleo de plaguicidas fisiológicamente selectivos, que es una de las alternativas para la disminución de la mortalidad de los enemigos naturales (Mohammad et al., 2007).

Desde que comenzaron a aplicarse plaguicidas, se detectó que no solo controlaban a las plagas sino que también afectaban a artrópodos benéficos, enemigos naturales y agentes polinizadores. Estos plaguicidas podían producir la muerte de los enemigos naturales, pero también afectarlos negativamente en su comportamiento y su fisiología

sin causarles la muerte. Es por esto que se comenzó a estudiar el efecto de plaguicidas con dosis subletales (efectos subletales), que causan efectos más sutiles sobre el enemigo natural ya sea en el la alteración de su tiempo de desarrollo, fecundidad o longevidad. En cambio las dosis letales cercanas al  $DL_{50}$  (dosis necesaria para matar el cincuenta por ciento de la población) eliminarían la plaga y el controlador biológico causando la resurgencia de las plagas (Viñuela y Jacas, 1993).

Dadas las demandas de los mercados por productos agrícolas con menos agroquímicos y lograr una producción limpia, segura y amigable con el medioambiente, es vital estudiar la combinación de dosis subletales de plaguicidas y el efecto de éstos sobre los enemigos naturales en el marco del MIP.

Entre las especies más importante de psudocócidos en el cultivo del manzano se encuentra el chanchito blanco de la vid, *Pseudococcus viburni* (Signoret). Esta plaga cuenta con enemigos naturales, dentro de los que destaca el parasitoide nativo *Acerophagus flavidulus* (Brethés) (Hymenoptera: Encyrtidae). De igual forma, en el cultivo del manzano se aplican diversos insecticidas para el control de varias plagas. Estos insecticidas pueden tener un efecto subletal sobre el parasitoide, afectando su capacidad de control frente a diferentes densidades de chanchito blanco de la vid.

A continuación se plantea la hipótesis y objetivos del presente trabajo:

### 1.1 Hipótesis

El uso de una dosis subletal de acetamiprid disminuirá el número promedio de parasitismo exitoso, parasitoides emergidos, longevidad y razón sexual secundaria del parasitoide *Acerophagus flavidulus* frente a densidades crecientes de *Pseudococcus viburni* en condiciones de laboratorio.

### 1.2 Objetivo general

Determinar los efectos de una dosis subletal de acetamiprid sobre el parasitismo exitoso, emergencia, longevidad y razón sexual de *Acerophagus flavidulus* frente a densidades crecientes de *Pseudococcus viburni* en condiciones de laboratorio.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Generalidades del manzano

El manzano, pertenece a la familia Rosaceae, subfamilia Pomoideae y género *Malus*. El fruto más cultivado para comercialización es la especie *Malus x domestica* Borkh (Sánchez, 2007). Este árbol se distingue por ser caducifolio (Baugher, 2003) y pueden medir entre 7 u 8 m de altura en estado silvestre, no obstante, lo más normal es que alcance hasta 3 m de altura. (Sánchez, 2007). La flor del manzano es hermafrodita ya que presenta ambos órganos sexuales, con tendencia a la alogamia (Ctifl, 2002). Su flor contiene cinco sépalos, cinco pétalos, cinco pistilos y unos 20 estambres (Jackson y Palmer, 1999). Las flores son de color blanco o rosa, se organizan en cimas (Westwood, 1993). El hipanto y el gineceo permanecen fusionados para formar un ovario ínfero el cual se desarrolla en un fruto carnoso indehiscente (Luby, 2003).

### 2.2 Exportación en Chile y superficie Nacional

La manzana es universal y sinónimo de salud y desde luego, jugó un rol importante en los días de mayor encierro en pandemia. En efecto, la venta online estimuló el movimiento y los precios se mantuvieron firmes en esos días, especialmente en los mercados tradicionales de EE.UU. y Europa, dando un respiro a exportadores y productores en un rubro que no deja de transitar en segmentos de precios poco atractivos (Quiróz et al., 2020).

La temporada 2019/20 Chile tuvo una serie de desafíos para la producción, cosecha y comercialización de las manzanas por la fuerte sequía que afectó toda la zona central y productora. Chile redujo sus exportaciones dado a la reducción en la superficie por el constante remplazo de huertos por otras especies más atractivas (Pavés, 2020), Sin embargo sigue siendo un cultivo de gran importancia en la agricultura chilena ya que está en el quinto lugar de las especies frutícolas más plantadas a nivel nacional, cubriendo el 10% de la superficie frutícola con 32.370 ha (ODEPA, 2019). La distribución regional de la superficie plantada de manzanos en el país está altamente concentrada entre las regiones del Maule y O'Higgins. La región del Maule registra la mayor superficie

plantada con manzanos a nivel nacional con 19.636 ha, siendo la comuna de Curicó la que establece la mayor superficie con 3.556 ha de manzana roja y verde (CIREN, 2019).

Según cifras de la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA) elaboradas con información del Servicio Nacional de Aduanas, en el año 2020, las exportaciones totales de manzanas como fruta fresca fueron 660.010 toneladas, siendo los principales países importadores Colombia, Estados Unidos, Ecuador, Arabia Saudita, y Perú

### 2.3 Plaga cuarentenaria del manzano

#### 2.3.1 Chanchito blanco de la vid (*Pseudococcus viburni*)

El chanchito blanco de la vid pertenece a la familia Pseudococcidae, la segunda más numerosa de los coccídeos y la más importante desde el punto de vista económico. En esta familia se han descrito más de dos mil especies a nivel mundial. Las colonias de chanchitos blancos se encuentran comúnmente en frutos, troncos y hojas. El daño puede ser muy severo dado que se alimentan succionando la savia de la planta, otros transmiten virosis o secretan mielecilla que luego se convierte en sustrato de hongos, lo que produce fumagina, ocasionando una reducción en la fotosíntesis (Salazar, 2010). El chanchito blanco de la vid es la especie de este grupo más importante en Chile, debido a que es de importancia cuarentenaria para varios mercados de destino de las exportaciones de fruta fresca.

#### 2.3.2 Morfología de chanchito blanco de la vid

Este hemíptero posee un cuerpo ovalado de color blanquecino, cubierto por una secreción cerosa como un polvillo blanco. Además, producen una secreción cerosa parecida al algodón, utilizada para cubrir sus huevos, desde donde posteriormente nacen sus ninfas. Su cubierta cerosa es de carácter hidrófobo lo que le permite soportar condiciones de alta humedad, especialmente en el subsuelo, así como reducir los efectos de la aspersión foliar de plaguicidas (Ripa y Rojas, 1993). Las hembras adultas son ápteras semejantes a los estados inmaduros. Su tamaño varía entre 2 a 4 mm de largo (Larraín, 2010). Cada hembra produce entre 90 y 220 ninfas. Las etapas de

desarrollo de la hembra son siete y se dividen en huevo, ninfa migratoria, ninfa I, ninfa II, ninfa III y por último, hembra adulta. Las ninfas de tercer estadio y hembras buscan lugares protegidos para alimentarse y dejar su descendencia.

#### 2.4 Manejo del chanchito blanco de la vid

El MIP es una estrategia en la que utilizan diferentes formas de control de insectos que causan daño a un cultivo en particular. Al combinar diferentes estrategias, como el manejo químico, cultural y biológico, se minimizan los efectos adversos al ambiente (González y Sepúlveda, 2014).

Dentro de las estrategias de MIP para combatir el chanchito blanco de la vid, destacan el control cultural, manejando el exceso de follaje y la sobre fertilización, ya que éstas proporcionan vigor a la planta lo que favorece el desarrollo de la plaga. Otro método al momento de utilizar control químico, es aplicar productos que tengan baja toxicidad y que sean más selectivos con los artrópodos benéficos. Es fundamental utilizar agroquímicos registrados en los mercados y cumplir con sus periodos de carencia. Por último, el control biológico de plagas consiste en el uso e incremento de enemigos naturales y microorganismos para el control de poblaciones de insectos dañinos, siendo el más inocuo, al no presentar efectos negativos sobre el medio ambiente (Nicholls, 2018).

#### 2.5 Control químico

El control químico se define como el uso de productos tóxicos de síntesis química con acción biosida con el propósito de eliminar todo tipo de patógeno que afectan a los cultivos (Mondino, 2011). Los insecticidas más utilizados mundialmente desde fines de la década de los noventas son los neonicotinoides. A pesar de su eficacia en la mejora de la protección del cultivo, éstos han recibido atención por sus efectos negativos en especies no objetivo, como abejas e invertebrados acuáticos (Arenas et al., 2018). En los últimos años, se han detectado neonicotinoides en ríos y arroyos del mundo. Los insecticidas son productos altamente tóxicos para el ser humano y de gran impacto en

el medio ambiente; este impacto puede ser letal o subletal (Gregor, 2008). Este grupo de insecticidas actúa en las sinapsis colinérgicas centrales de los insectos. Son estructuralmente similares a la nicotina y por esa razón son denominados neonicotinoides. La nicotina es un agonista de la acetilcolina en la sinapsis de este sistema. Insecticidas tales como acetamiprid actúan como agonistas de la acetilcolina en las sinapsis colinérgicas del sistema nervioso central de los insectos. De esta forma, imitan este neurotransmisor, compitiendo por sus receptores, a pesar de ser compuestos de fórmulas estructurales muy diferentes. Sin embargo, contrariamente a la acetilcolina, la nicotina no es hidrolizada por la acetilcolinesterasa y su interferencia en las sinapsis produce hiperexcitación, temblores y finalmente la muerte de los insectos (Casadei, 2003). Para el manejo de *P. viburni*, destaca el uso de insecticidas de este grupo químico, debido que poseen diversas formas de acción mediante contacto e ingestión y presentan alta eficacia en el control de insectos succionadores, como el chanchito blanco, el cual tiene un aparato bucal picador-chupador (Borsuah et al., 2020).

## 2.6 Control biológico

La función del control biológico es utilizar enemigos naturales con el objetivo de controlar los organismos que dañan los cultivos, es decir, las plagas. Actualmente, es implementado en la producción agroalimentaria para conservar la rentabilidad de la producción hortofrutícola, cuidar nuestro medio ambiente y la salud de las personas.

Dentro del control biológico del chanchito blanco de la vid destacan cerca de ocho especies de enemigos naturales, siendo uno de los más importantes depredadores, el coccinélido, *Cryptolaemus montrouzieri*. En cuanto a parasitoides, el más importante es la microavispa nativa *Acerophagus flavidulus* (Ripa y Luppichini, 2010).

### 2.6.1 *Acerophagus flavidulus*

La gran característica de este parasitoide es su alta especificidad sobre *P. viburni*, así como su capacidad de establecerse en el cultivo llegando donde los productos fitosanitarios no llegan (Xilema SpA).

Este parasitoide es una avispa muy pequeña y específica de *P. viburni*, incluso en aquellos ejemplares que se encuentran protegidos bajo la corteza, grietas o ritidoma del

árbol. *Acerophagus flavidulus* es una especie endémica de Chile y Argentina distribuida entre las regiones de Atacama y Maule, por esta misma razón no tiene problemas de adaptación, sin embargo es más efectiva en el periodo primavera-verano. No obstante, logra actuar en la época de invierno dependiendo de las temperaturas que se registren o si el cultivo se encuentra bajo invernadero (Luppichini y Ripa 2010).

Para el logro eficiente de un parasitoide como biocontrol, depende de la respuesta ante la densidad del hospedero, lo que está relacionado con la eficiencia de búsqueda del parasitoide (Saini y Sharma, 2018).

### 2.6.2 Morfología y parasitismo de *Acerophagus flavidulus*

Este himenóptero pertenece a la familia Encyrtidae. Su cuerpo mide 1,5 mm con coloración amarilla o gris y con antenas grises. En el abdomen de las hembras se logra observar el apéndice que corresponde al ovipositor. La hembra adulta de *A. flavidulus* está constantemente en busca de chanchitos blancos de la vid, para ovipositarlos con uno o más huevos. Dentro de sus hospederos se desarrollan las larvas de *A. flavidulus*. El parasitoide que crece dentro del chanchito provoca que éste pierda su movilidad y adquiera una tonalidad amarillenta denominada momia. Los adultos del parasitoide emergen de la momia a través de pequeños orificios circulares. Cada una de estas momias llega a contener de 15 a 20 parasitoides (Ripa y Luppichini, 2010).

### 2.6.3 Estudios de toxicidad de neonicotinoides en parasitoides de pseudocóccidos

Según un estudio realizado por Cloyd et al., (2006), se midió bajo condiciones de laboratorio, los efectos indirectos (efectos subletales) de diferentes insecticidas, dentro de los cuales, se encontraba el insecticida acetamiprid. En este estudio se logró medir la tasa de parasitismo, razón sexual y porcentaje de parasitoides en *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae), enemigo natural del chanchito blanco *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae), la cual es considerada una importante plaga de cítricos en todo el mundo (Martínez, 2003).

Como resultado el neonicotinoide acetamiprid redujo significativamente el parasitismo (número de momias) y en el porcentaje de parasitoides emergidos. Sin embargo en la razón sexual secundaria no tuvo efectos significativos.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Ubicación del ensayo

El experimento se efectuó en el Laboratorio de Sanidad Vegetal, en el área de Entomología perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias, ubicado en la Universidad de Talca campus Talca, Chile, durante los meses de abril 2019 a enero 2020.

#### 3.2 Obtención de controlador biológico *Acerophagus flavidulus*

El parasitoide se obtuvo de la empresa Xilema, expertos en crianza de controladores biológicos y manejo integrado de plagas. La empresa enviaba las momias (*A. flavidulus*) en pequeñas cajas plásticas donde eran traspasadas a placas de vidrio con dieta (agua destilada, miel y agar) para que la sobrevivencia de los parasitoides que fuesen emergiendo de las momias fuera más larga. Estas placas fueron selladas y guardadas dentro de una cámara CONVIRON® bajo condiciones controladas de temperatura ( $25^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$  C) y humedad relativa ( $55 \pm 5$  %) y luz (16:8).

##### 3.2.1 Crianza de chanchito blanco de la vid

La crianza se inició con chanchitos blancos de la vid enviados por la empresa Xilema a partir de ovisacos, ninfas y hembras adultas, los cuales, fueron distribuidos en zapallos tipo butternut y almacenados en una cámara de crecimiento a una temperatura de ( $23 \pm 1^{\circ}$ C) y humedad relativa de ( $45 \pm 5$ %) en completa oscuridad.

#### 3.3 Bioensayos

En este bioensayo se utilizó el insecticida acetamiprid, cuyo nombre comercial corresponde a Hurricane 70® WP (Anasac, Chile). La concentración utilizada fue de 0,5% de la dosis recomendada por el fabricante (50 cc/hL). Esta concentración subletal para

el parasitoide *A flavidulus* fue establecida en ensayos anteriores de toxicidad aguda, siendo esta concentración la que resultó igual al tratamiento control con agua destilada, logrando cerca de 28 % de mortalidad en adultos de *A flavidulus* al cabo de 48 h. Los tratamientos utilizados fueron acetamiprid y agua destilada como control. Ambos tratamientos fueron aplicados de manera residual sobre discos de hoja de manzano, lo cuales no tenían aplicaciones previas de insecticida. Estos discos de hoja fueron colocados dentro de contenedores plásticos de 30 ml de capacidad. Cada uno de éstos fue aplicado en forma de aspersión, sobre cada contenedor, mediante una torre de precisión de Potter, ajustando la dosis a 2 ml por tratamiento, con una presión constante de 6,5 PSI. Cada contenedor aplicado, se dejó secar a temperatura ambiente por un par de horas, para luego, trasladar un parasitoide por contenedor y tratamiento para que los artrópodos estuviesen en contacto con los residuos del insecticida por 24 h. Transcurrido dicho tiempo, cada parasitoide fue trasladado a placas de Petri plásticas de 90 mm, las cuales contenían diferentes densidades de chanchitos blancos (ninfas de tercer estadio), dos, cuatro y seis respectivamente. Los parasitoides se dejaron dentro de cada placa por 24 h más, para que pudiesen parasitar los chanchitos en dicho periodo de tiempo, y luego, se sacaba el parasitoide de la placa. Tanto los contenedores plásticos y las placas con insectos fueron siempre colocados en una cámara de crecimiento Conviron® bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y luz al igual que la mantención de los parasitoides.

Las placas que contenían las diferentes densidades de chanchitos blancos de la vida, fueron almacenadas en dicha cámara de crecimiento. Al cabo de 14 días, se revisaban bajo la lupa estereoscópica NIKON® para determinar si los chanchitos habían sido parasitados y convertido en momias.

Las momias encontradas fueron colocadas en tubos Eppendorf de 2 ml, cada una con dieta en la tapa, a la espera de la emergencia de nuevos parasitoides. Cada momia se revisaba a diario para establecer el tiempo de desarrollo de cada parasitoide. Cuando se observaban adultos emergidos, cada uno de éstos, nuevamente era separado y colocado individualmente en tubos de Eppendorf, con dieta para establecer la longevidad de cada nuevo parasitoide emergido. Cuando cada parasitoide moría, se determinaba la razón sexual secundaria, revisando la presencia de ovopositor, en el caso de las hembras.

### 3.2 Mediciones en el bioensayo

El ensayo fue realizado bajo condiciones controladas en laboratorio en donde se evaluaron las siguientes variables.

- a) **Parasitismo exitoso:** número promedio de chanchitos blancos momificados desde los cuales al menos emergió un parasitoide.
- b) **Emergencia:** número promedio de parasitoides emergidos desde cada chanchito blanco momificado.
- c) **Longevidad:** número promedio de días que sobrevive el parasitoide desde su emergencia.
- d) **Razón Sexual Secundaria:** número promedio de hembras con respecto al total de parasitoides emergidos.

### 3.5 Diseño experimental y análisis estadístico

Se evaluaron las variables independientes de densidad de hospederos (dos, cuatro y seis) y aplicación de una dosis subletal de acetamiprid (tratamiento y control). El ensayo se realizó con un diseño completamente al azar. En primer lugar, se realizaron las pruebas de normalidad de Shapiro Wilk y de homogeneidad de varianzas para la evaluación de parasitismo exitoso, emergencia, longevidad y razón sexual. Dado que no se cumplieron los supuestos se realizó un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis con separación de medias con la prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), considerando las combinaciones de densidad y tratamiento como un mismo factor. Los análisis fueron realizados con el software Statgraphics Centurion 19<sup>®</sup> (versión 19. 1.2).

#### 4. RESULTADOS

Basado en las condiciones establecidas en el presente estudio, el insecticida acetamiprid no tiene un efecto subletal sobre el parasitismo exitoso de *A. flavidulus* frente a densidades crecientes de *P. viburni* en comparación al tratamiento control (Cuadro 4.1). En el promedio de parasitoides emergidos tampoco existe una diferencia entre los tratamientos que se utilizaron (Cuadro 4.1).

**Cuadro 4.1** Parasitismo exitoso y parasitoides emergidos de *Acerophagus flavidulus* frente a densidades crecientes de *Pseudococcus viburni* bajo una dosis subletal de acetamiprid.

Tratamientos	Parasitismo Exitoso $\pm$ E.E.	Parasitoides emergidos $\pm$ E.E.
Control 2	0,12 $\pm$ 0,13	4,0 $\pm$ 0,97
Acetamiprid 2	0,11 $\pm$ 0,13	2,6 $\pm$ 0,76
Control 4	0,07 $\pm$ 0,11	3,2 $\pm$ 0,94
Acetamiprid 4	0,09 $\pm$ 0,12	2,2 $\pm$ 0,59
Control 6	0,10 $\pm$ 0,15	3,0 $\pm$ 1,14
Acetamiprid 6	0,08 $\pm$ 0,14	3,5 $\pm$ 1,11
K. Wallis (estadístico)	2,79	5,22
Significancia (p)	0,52	0,70

Los promedios en una misma columna seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ ) según lo determinado por la prueba de Kruskal-Wallis con separación de medias Tukey HSD.

El neonicotinoide acetamiprid redujo significativamente la longevidad del parasitoide para la densidad de dos hospederos, aunque este efecto no es significativo para las otras densidades (Cuadro 4.2). Por otra parte, la proporción de hembras tampoco presenta diferencias estadísticas entre los tratamientos (Cuadro 4.2).

**Cuadro 4.2** Longevidad y razón sexual secundaria de *Acerophagus flavidulus* frente a densidades crecientes de *Pseudococcus viburni* bajo una dosis subletal de acetamiprid

Tratamientos	Longevidad (días) ± EE	Razón sexual secundaria (Hembras/Total parasitoides) ± EE
Control 2	7 ± 1,81 a	0,62 ± 0,11
Acetamiprid 2	4,1 ± 0,72 b	0,61 ± 0,16
Control 4	4,3 ± 0,90 b	0,53 ± 0,18
Acetamiprid 4	6,5 ± 1,69 ab	0,42 ± 0,19
Control 6	4,4 ± 1,10 b	0,76 ± 0,18
Acetamiprid 6	6 ± 2,44 ab	0,79 ± 0,14
K. Wallis (estadístico)	15,52	0,2
Significancia (p)	≤0,05	0,067

Los promedios en una misma columna seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ ) según lo determinado por la prueba de Kruskal-Wallis con separación de medias Tukey HSD.

## 5. DISCUSIÓN

*Acerophagus flavidulus* es una avispa endémica de Chile y Argentina (Aquino et al., 2013). La información que existe de este controlador biológico y su interacción con el insecticida acetamiprid es muy limitada, por lo que se utilizaron referencias de parasitoides de la misma familia Encyrtidae y de insecticidas neocotinoideos similares.

En esta investigación se reportó que el uso de una dosis subletal del neonicotinoide acetamiprid no afectó el parasitismo exitoso de *Acerophagus flavidulus*, siendo que los insecticidas neonicotinoideos tienen una alta toxicidad para los insectos (Carrillo et al., 2015). Los efectos de este insecticida bajo una concentración subletal de 0,5% de la dosis comercial resultaron estadísticamente iguales que el control con agua destilada. No obstante, Cloyd y Dickinson (2006) estudiaron el efecto indirecto del insecticida acetamiprid sobre adultos del parasitoide *Leptomastix dactylopii* (Encyrtidae) frente al chanchito blanco de los cítricos (*Planococcus citri*). Utilizaron la dosis basada en la recomendación de la etiqueta para el control de dicha plaga. Con el experimento encontraron que, los insecticidas buprofezin, piriproxifen y flonicamid tuvieron efectos subletales mínimos y no fueron dañinos. Por el contrario, la dosis subletal de acetamiprid redujo la tasa de parasitismo, emergencia y razón sexual. En otro estudio, Badshah et al. (2017) utilizó el neonicotinoide imidacloprid, para ver el efecto sobre el parasitoide *Aenasius bambawalei* (Encyrtidae) para controlar al chanchito blanco del algodón (*Phenacoccus solenopsis*), reportando que a la dosis recomendada por el fabricante, este insecticida logró un efecto en las variables disminuyendo la tasa de emergencia y longevidad.

Por otra parte en relación a la longevidad de los parasitoides de *A. flavidulus* emergidos en nuestro ensayo, ésta sí se vio afectada por la aplicación subletal del insecticida acetamiprid, como ocurrió en los ensayos de Cloyd y Bethke (2010) quienes determinaron que este neonicotinoide era más perjudicial en condiciones de laboratorio que en condiciones de invernadero. Así, observaron que los residuos del neonicotinoide acetamiprid no resultaron tóxicos para los estados inmaduros del parasitoide *Leptomastix dactylopii*, pero fueron muy tóxicos para los adultos recién emergidos. Esto concuerda con nuestro trabajo, ya que la dosis subletal del insecticida acetamiprid

disminuyó la longevidad en comparación con el tratamiento control con agua destilada en la menor densidad de hospederos. Karmakar y Shera (2018) también reportaron resultados similares en cuanto a longevidad del parasitoide *Aenasius arizonensis* (Encyrtide) con el neonicotinoide imidacloprid, indicando que los neonicotinoides tendrían un efecto sobre la sobrevivencia en los adultos de estos parasitoides.

Los resultados obtenidos en base a la razón sexual secundaria en ensayos de Cloyd y Dickinson (2006) no difirieron significativamente entre los tratamientos. Similarmente, en los ensayos de Karkmakar y Shera (2018) la razón sexual secundaria no fue afectada por el insecticida imidacloprid, a la dosis comercial recomendada. Estos resultados concuerdan con lo observado en nuestro estudio ya que, en ambos tratamientos y bajo las tres densidades de chanchitos blancos ofrecidos, no hubo efecto del insecticida acetamiprid sobre la variable razón sexual secundaria. Según Karamaouna et al.; (2000), para los parasitoides himenópteros solitarios, como *A. flavidulus*, la proporción de avispas machos que emergen de huéspedes grandes es menor que la de huéspedes pequeños. Sin embargo, en este caso, no se debe haber dado esta relación, ya que siempre se usaron ninfas de tercer estadio de chanchitos blancos, de tamaño uniforme.

En el momento de controlar una plaga es crucial determinar el manejo a implementar. La toxicidad del insecticida acetamiprid en una dosis subletal podría interferir con la actividad del parasitoide estudiado, afectando parasitismo, su emergencia, longevidad y razón sexual secundaria. Para evaluar esta situación, se estudió el efecto de una dosis subletal de acetamiprid sobre el parasitismo de *Acerophagus flavidulus* frente a densidades crecientes de chanchito blanco de la vid y se pudo concluir que:

El insecticida neonicotinoide acetamiprid a la dosis subletal de 0,5% de la dosis comercial no tuvo efectos significativos sobre el parasitismo, emergencia y razón sexual secundaria, ya que se utilizó una dosis muy baja. Sin embargo, esta dosis subletal de acetamiprid redujo la longevidad de *A. flavidulus* en la densidad de dos hospederos. Es necesario realizar más estudios para descartar que a bajísimas concentraciones de este neonicotinoide no afecte algún aspecto del desarrollo de este enemigo natural.

## 6. CONCLUSIÓN

La aplicación de una dosis subletal de 0,5% de la dosis recomendada de acetamiprid no afecta el parasitismo exitoso, parasitoides emergidos y razón sexual secundaria del parasitoide *Acerophagus flavidulus* frente a densidades crecientes de *Pseudococcus viburni* en condiciones de laboratorio.

La aplicación de una dosis subletal de 0,5% de la dosis recomendada de acetamiprid redujo significativamente la longevidad del parasitoide *Acerophagus flavidulus* para la densidad de dos *Pseudococcus viburni* como hospederos en condiciones de laboratorio.

## 7. REFERENCIAS

- Aquino, D., Cichón, L., Garrido, S., Lago, J., Aùn, E., Herve, F. (2013). Primer registro de *Acerophagus griseus* (Hymenoptera: Encyrtidae) como parasitoide de *Pseudococcus viburni* (Homoptera: Pseudococcidae) en el Alto Valle de Río Negro, Argentina. Rev. Soc. Entomol. Argent. 72(1-2): 35-39.
- Arenas, A., Rico, A., Pasqualini, J., García, A., Cherta, L., Nozal, L., Vighi, M. (2018). Effects of imidacloprid and a neonicotinoid mixture on aquatic invertebrate communities under Mediterranean conditions. Aquat. Toxicol. 204:130-143.
- Allauca, A. (2018). Análisis de la cadena agro productiva de la manzana (*Malus*) en tres provincias de la sierra centro zona tres. Tesis Ingeniero en Industrias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador. 175 pp.
- Badshah, H., Ullah, F., Calatayud, P., Ullah, H., Ahmad, B. (2017). Can toxicants used against cotton mealybug *Phenacoccus solenopsis* be compatible with an encyrtid parasitoid *Aenasius bambawalei* under laboratory conditions? Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 24: 5857-5867.
- Baugher, T., Singha, S. (2003) Enciclopedia concisa de frutos de árboles templados. Baugher y Singha (ed) 3-11 .Recuperado en: <https://www.researchgate.net>
- Borsuah, J., Messer, T., Snow, D., Comfort, S., Mittelstet, A. (2020) Global neonicotinoid insecticide occurrence in aquatic environments. Water 12: 3388.
- Cloyd, R., Dickinson, A. (2006) Effect of Insecticides on mealybug destroyer (Coleoptera: Coccinellidae) and parasitoid *Leptomastix dactylopii* (Hymenoptera: Encyrtidae), natural enemies of citrus mealybug (Homoptera: Pseudococcidae). J. Econ. Entomol. 99(5): 1596-1604.
- Cloyd, R., Bethke, J. (2010). Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interiorscape environments. Pest Manag. Sci. 67: 3-9.
- Carrillo, R., Neira, M., Silvestre, L. (2015). Los insecticidas neonicotinoides y los apoideos: Una situación que merece una preocupación especial. Instituto de Producción y Sanidad Vegetal. Laboratorio de Entomología, Facultad Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. 1-6p.
- Cuello, Eliana Marina. (2019). Estudio de la diversidad de insectos asociados a las principales plagas de *Eucalyptus*, para la selección de potenciales agentes de control

- biológico. Universidad de Buenos Aires (ed) 133. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Recuperado de <http://hdl.handle.net>
- Coque, M.; Díaz, M; García, J (1996). El cultivo del manzano en Asturias. Centro de Investigación Aplicada y Tecnología Agroalimentaria. Principado de Asturias. Consejería de Agricultura. 223 pp.
  - Centro de información de recursos naturales (2019). Catástrofe frutícola. ODEPA. 42p. Recuperado de: <https://www.odepa.gob.cl>
  - Cox, J., Pearse, M. (1983). Wax produced by dermal pores in three species of mealybug (Homoptera: Pseudococcidae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 12(4): 235-248.
  - Cárdenas, J., Fischer, G. (2015). Clasificación botánica y morfología: de manzano, peral, duraznero y ciruelo. Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas, Bogotá 21-30.
  - DeBach, P., Rosen, D. (1991). Biological control by natural enemies. University of Cambridge (ed). 2 88-440.
  - Devine, G., Eza, D., Ogusuku, E., Furlong, M. (2008) Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública* 25(1): 74-100.
  - Fernández, V., Corley, J. (2004). La respuesta funcional. Asociación de Ecología de Argentina. INTA- EEA. 84p.
  - Fernández, V. Corley, J. (2004). La respuesta funcional: una revisión y guía experimental. Laboratorio de Ecología de Insectos Forestales, INTA. 83-93 p.
  - González, F., Ardiles, R., Sepúlveda, M. (2014). Manejo integrado de plagas y enfermedades (MIPE) en el cultivo de tomate bajo malla antiáfido en el valle de Azapa. INIA (ed) 89:1-4 p.
  - Karamaouna, F., Copland, M. (2000). Oviposition behaviour, influence of experience on host size selection, and niche overlap of the solitary *Leptomastix epona* and the gregarious *Pseudaphycus flavidulus*, two endoparasitoids of the mealybug *Pseudococcus viburni*. *Entomol. Exp. Appl.* 97: 301-308.
  - Karmakar, P., Shera, P. (2018). Seasonal and biological interaction between the parasitoid *Aenasius arizonensis* (Girault) and its host, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley on cotton. *Phytoparasitica* 46:661-670.
  - Luppichini, P., Ripa, R. (2010) Control biológico del chanchito blanco de la vid con parasitoides y depredadores (*Pseudococcus viburni*). *Boletín INIA* 204. 25-31.

- Luo, S., Li, H., Lu, Y., Zhang, F., Haye, T., Kuhlmann, U. (2014) Functional response and mutual interference of *Peristenus spretus* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of *Apolygus lucorum* (Heteroptera: Miridae). *Biocontrol Sci. Technol.* 24(3): 247-256.
- Luby, J. (2003). Clasificación taxonómica y breve historia. Manzana: botánica, producción y usos. Ferree y Warrington (ed). 42 1-14
- Larraín, S. (2010). Biología, comportamiento de chanchitos blancos (*Pseudococcus spp.*). Chillan: Boletín INIA 204 1-8.
- Martínez, R. (2003). Biología y control del cotonet *Planococcus citri* (Homoptera: Pseudococcidae) en huertos de cítricos. 1-223p. Recuperado de: <https://riunet.upv.es>
- Mondino, P. (2011). Control químico de enfermedades de plantas. 1-12p. Recuperado en: <http://www.pv.fagro.edu.uy>
- ODEPA (2020). Boletín de fruta fresca 2020. Recuperado en sitio web: <https://www.odepa.gob.cl/>
- ODEPA- CIREN 2020. Economía Nacional 2020, ODEPA. Recuperado en sitio web: <https://www.odepa.gob.cl>
- ODEPA (2019). Catastro frutícola. Recuperado de: <https://www.odepa.gob.cl>.
- ODEPA (2020). Estadísticas productivas información nacional de superficie sembrada, producción y rendimientos. Recuperado de: <https://www.odepa.gob.cl>.
- Pérez, C. 2017. Exportación por proveedores. Anuario manzana 2021. Recuperado de: <http://www.iqonsulting.com>
- Pavés, J. (2021). Columna de opinión. Anuario manzano 2021. Recuperado de: <http://www.iqonsulting.com>
- Poncio, S., Montoya, P., Cansino, J., Nava, D. (2016). Determining the functional response and mutual interference of *Utetes anastrephae* (Hymenoptera: Braconidae) on *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) larvae for mass rearing purposes. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 109(4): 518-525.
- Quiroz, I., Salinas, G., Urrutia, I., Hernandez, J., Muhlenbrock, N., Prat, P. (2020) Anuario manzana 2021. ASOEX. Anuario. 37 p. Recuperado en: <http://fedefruta.cl/iqonsulting>
- Quiroz, C., Luengo, F., Salas, C., Abarca, P., Bermudez, P., Lobos, G., Larraín, P., Rodríguez, F., Riquelme, J., Santelices, S. (2016). Manejo integrado de plagas. *Boletín* 324: 21-123.

- Ripa, S., Rodríguez, A., Rojas, S. (1993). Nuevos avances en el manejo del chanchito blanco de la vid. Control de la hormiga y control de la canopia. Investigación y Progreso Agropecuario La Plantina. 76: 28-30
- Ripa, S., Lupichini, B., Larral, D. (2010). Manejo del chanchito blanco de la vid en vides *Pseudococcus viburni* (Signoret). Chillan: Boletin INIA 204: 1-11.
- Southwood, T.R.E. (1978). Ecological methods. Chapman- Hall, London. 524 pp.
- Salazar, P., Gerding, P., Luppichini, B., Ripa, S., Larrain, S., Zaviezo, P., Larral, D. (2010). Biología, manejo y control de chanchitos blancos. Chillan: Boletin INIA. Instituto de investigaciones agropecuarias. 204: 10-17p.
- Sánchez, C. (2007). Banco nacional de germoplasma de manzano: descripción de los clones incluidos en el mismo. Escuela Universitaria Politécnica la Almunia de Doña Godina. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Zaragoza 204 (24) 1-231.
- Salvo, A., Valladares, G. (2007). Parasitoides de minadores de hojas y manejo de plagas. Cienc. Investig. Agrar. . 34(3): 167-185.
- Talebi, K., Kavousi, A., Sabahi, Q. (2008). Impact of pesticides on arthropod biological control agents. Pest Technology. Global Science Books 2(2): 87-97.
- Vergara, C., Barranco, M., Uldemar, A. (2015). Conocimiento actual del efecto de los insecticidas derivados de la nicotina (neocotinoides) en las poblaciones de abejas polinizadoras. Rev. Cient. Tecnol. UPSE 2(3): 1-6.
- Viñuela, E., Budia, F., Del Estal., P (1991). Los insectos reguladores del crecimiento y la cutícula. Bol. San. Veg. Plagas 17: 391-400.
- Viñuela, E., Jacas, J. (1993). Los enemigos naturales de las plagas y los plaguicidas. Madrid. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (ed) 2 (93): 1-24.
- Zainal, F. (2020). Parasitism of cassava mealybug by *Anagyrus lopezi*: Effects of varying host and parasitoid densities. Biodiversitas 21: 4973-4980.