

## **Protocolo: “Evaluación de la eficacia y periodo de protección de plaguicidas sobre *Bagrada hilaris* en ensayos de laboratorio y de campo”**

1. Propósito: El propósito de este documento es describir la metodología que deberán seguir las estaciones experimentales para autorizar el uso especial de plaguicidas de uso agrícola y forestal, para el control oficial de la plaga cuarentenaria presente *Bagrada hilaris*. El cumplimiento de este protocolo, es requisito para que pueda ser analizadas las solicitudes de evaluación para usos especiales por parte del SAG.
2. Alcance: Esta pauta deberá ser aplicada por Estación Experimental a solicitud de Empresas titulares de plaguicidas autorizados por el SAG y/o Empresas o personas naturales que requieran obtener la autorización y ampliación de uso especial de un plaguicida de uso agrícola que no se encuentre en el Listado de Plaguicidas Autorizados por el SAG. La solicitud ante el SAG deberá realizarla la empresa titular del plaguicida al jefe de la División de Protección Agrícola y Forestal del SAG (oficina de partes y copia digital), con copia a los correos electrónicos indicados en el Anexo N°3.
3. Otros documentos relacionados, de lectura obligatoria:
  - “Lineamientos-específicos-para-crianzas-y-ensayos-en-campo-Bh” (.pdf)
  - “Determinación de daño de Bh” (.pdf)
  - “Lista de verificación MIP Bh” (.pdf)
4. Descripción de actividades: para la autorización de uso de un plaguicida en el marco del control oficial y las medidas de bioseguridad a implementar en los ensayos para probar la eficacia de los productos en laboratorio y campo.

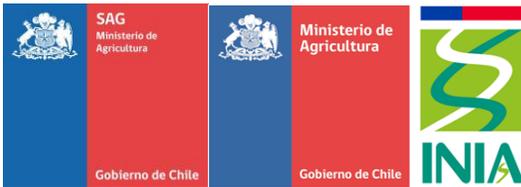
### **4.1 Lugar del Ensayo:**

a-Se requerirá los datos de productores y contraparte de la Institución investigadora y responsable de los ensayos antes el SAG.

b-El predio/laboratorio debe ubicarse en áreas de control de la plaga y los ensayos de campo deberán corresponder a comunas donde el SAG estime como adecuados para la realización de los ensayos. Sólo se autorizará en áreas donde esté presente la plaga y con altas poblaciones (Regiones de Coquimbo, Metropolitana, Valparaíso, O’ Higgins). Las regiones de Atacama y Maule presentan restricciones (evaluación de pertinencia caso a caso). Comunas o Regiones sin presencia de la plaga no están autorizadas a realizar ensayos de ningún tipo.

c-La autorización del predio y sectores para la realización del ensayo requerirá del consentimiento del productor y tendrá una duración determinada previo cumplimiento de los requisitos solicitados por el SAG.

d-Los Laboratorios que realizarán ensayos deben contar con autorización SAG.



e-Se deberá entregar un mapa con la ubicación del predio y sectores del ensayo (coordenadas geográficas y polígonos).

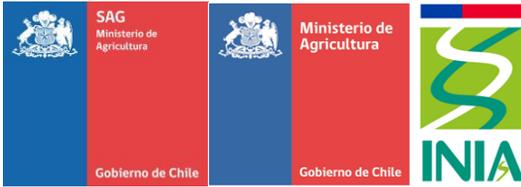
f-Antecedentes del predio: especie/variedad, sistema de conducción, superficie del ensayo, marco de plantación, manejo de otras plagas, tipo de suelo, fertilización, sistema de riego, estado fenológico de las plantas

g-Se requieren antecedentes previos de la situación de la plaga en el lugar (población, hospedantes cercanos, medidas de control previas (temporadas anteriores, etc ) (según la lista de verificación).

## 4.2 Condiciones Experimentales

### 4.2.1 Diseño del ensayo en Laboratorio (optativo)

- Se podrán realizar bioensayos para determinar la eficacia de plaguicidas en el control de *B. hilaris*.
- Se podrá realizar una crianza masal de *B. hilaris* en los laboratorios de Entomología reconocidos por el SAG. Para iniciar la crianza, se colectará en sectores donde exista infestación por *B. hilaris*, los individuos deberán ser trasladados a laboratorio para su multiplicación y corroborar su identificación. Los individuos serán debidamente sexados formando 20 parejas. Se utilizará como sustrato de alimentación, plántulas de brásicas: rúcula, brócoli, mostaza, canola o inflorescencia de brócoli
- Las aplicaciones de los tratamientos y testigo (agua) seleccionados para evaluar la eficacia de los plaguicidas se realizarán utilizando una torre de Potter. Cada unidad experimental se tratará con la/las dosis (superior y/o inferior) equivalente a lo recomendado según fabricante para el control de *B. hilaris*. La presión de aire utilizada será de aproximadamente 50 Kp. Con estas condiciones sobre la plataforma de pulverización se aplicarán niveles equivalentes a 400 l/ha (normalmente utilizado en tratamientos de campo).
- Las unidades experimentales consistirán en vasos de plástico de 7 cm altura y 7 cm de diámetro. Cada uno se rellenará con arena de río humedecida, hasta unos 4 cm. Sobre la arena se dispondrá una plántula de 2-4 hojas verdaderas del cultivo representante del grupo del Codex Alimentarius (Anexo N°1). Estas unidades experimentales se colocarán en la plataforma de pulverización de la torre de Potter y se realizarán los tratamientos con las correspondientes soluciones insecticidas.
- Una hora después de aplicados los tratamientos se introducirán 5 adultos (machos y hembras) o ninfas de *B. hilaris* por vaso y se confinarán mediante tejido tipo velo.
- Las unidades experimentales serán mantenidas bajo condiciones ambientales. Para cada uno de los insecticidas ensayados y para el testigo, tratado con agua,



se utilizarán 4 repeticiones de 5 adultos o ninfas/repeticón, de cada dosis probada.

#### 4.2.1.1 Evaluaciones en Laboratorio (optativo)

- El número de adultos o ninfas muertas se registrará a las 24, 48, 72, 120 horas y a los 6 y 7 días desde la aplicación de los tratamientos.
- La prueba de eficacia a utilizar será la de Abbot's, para poblaciones uniformes.

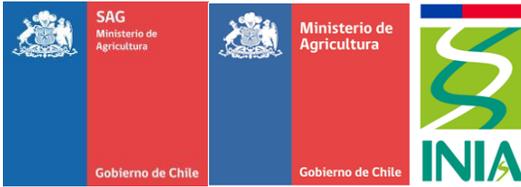
$$\text{Corregido \%} = \left( 1 - \frac{n \text{ in T después del tratamiento}}{n \text{ in Co después del tratamiento}} \right) * 100$$

Dónde : n = población insectos, T = tratamiento, Co = control

- Si se opta por realizar la prueba de laboratorio, los insecticidas que superen el 65% de eficacia en el control de la plaga (acción adulticida y/o ninficida) serán sometidos a ensayo de campo. Con los resultados generados a través de las pruebas de eficacia y sus respectivos análisis estadísticos se deberá informar al SAG.

#### 4.2.2 Diseño del ensayo en de campo (obligatorio)

- Para realizar las pruebas de los plaguicidas, se seleccionarán plantas del cultivo representante del grupo según el Codex Alimentarius (ver Anexo N°1) y que se encuentren infestadas, ya sea naturalmente por **B. hiliaris** en estado adulto y/o ninfal, de lo contrario, deberá infestarse artificialmente
- Las plantas de brassicas o cultivo representativo según grupo Codex Alimentarius, al momento de la aplicación de los tratamientos deberán tener 2 -4 hojas verdaderas en promedio y estar infestada con **B. hiliaris**, con al menos 1 ejemplar de la plaga por planta en promedio (\*) con daño en follaje y/o punto de crecimiento (marca fresca de alimentación) (ver documento "Determinación de daño de Bh".pdf).
- Se utilizará un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones.
- Las parcelas experimentales para realizar cada repeticón, serán de 0,7 m<sup>2</sup> (dos hileras a 0,7 m entre hilera y a siembra continúa sobre la hilera (cultivos de siembra directa o plantineras)) o 20 plantas (2 a 4 hileras (cultivos trasplante)).
- En caso de no contar con la infestación natural requerida (\*), se diseñará un ensayo, consistente en plantas en campo conformando las parcelas mencionadas en el punto anterior, y que sean infestadas artificialmente con chinches adultos y/o ninfas vivos con al menos 10 individuos por repeticón.
  - Indicar datos de la colecta: antecedentes del predio (nombre, dirección, comuna, Región y coordenadas GPS), del productor (nombre y RUT),

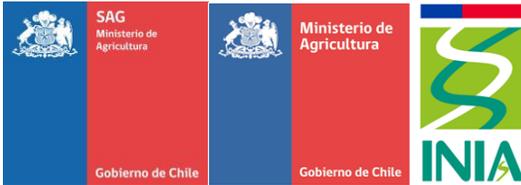


material colectado (número de chinches adultos y ninfas, fecha de colecta y envío a laboratorio) y cultivo/hospedante (tipo de cultivo, fecha de siembra y cosecha) bajo medidas de seguridad.

- Los ejemplares colectados previamente del campo, luego identificados y seleccionados en laboratorio, se mantendrán alrededor de 24 horas en ayuno y se depositarán en los tratamientos y repeticiones previo a aplicación. En ambos casos: cada repetición debe contar, en promedio, con al menos 1 ejemplar vivo de *Bagrada hilaris* por plántula (cultivo trasplante).

#### **4.2.2.1 Evaluaciones en campo (obligatorio)**

- Cada evaluación corresponde a una inspección completa de las hojas, peciolo y tallos además del suelo bajo las plantas, en todos los tratamientos y sus repeticiones. Paralelamente, realizar evaluaciones del porcentaje incidencia e intensidad de ataque en follaje y/o punto de crecimiento (marca fresca de alimentación) (ver anexo).
- Evaluaciones pre y post aplicación, deben realizarse entre 12:00 y 15:00, a temperatura igual o superior a 16°C. Debe coordinarse de modo de hacerlas antes del riego, especialmente si existe riego por aspersión.
- La inspección pre-aplicación, para corroborar la presencia de la plaga, debe realizarse el día anterior a la aplicación o el mismo día previo a la aplicación en el horario antes mencionado.
- Instalar mallas, para utilizarlas luego de la aplicación, así reducir la reinfestación e interacción con otros tratamientos. Para estos fines, se podrá utilizar una malla tipo "manto térmico" o tipo "velo liso" (muselina) o malla antiáfidos, con la cual se pueda generar túneles.
- Se realizará una única aplicación de los tratamientos utilizando una máquina de espalda indicando el mojado en litros/hectárea (dosis menor y/o mayor). La aplicación debe ser realizada según los horarios indicados por el fabricante en la declaración de eficacia. El testigo será con aplicación de agua.
- Se evaluará pH del agua antes de realizar las aplicaciones.
- Las aplicaciones deberán realizarse sin presencia de abejas. Idealmente aplicar al atardecer, en horarios de baja actividad de las abejas. Antes de la aplicación, las colmenas deben ser retiradas y no ingresarlas antes de 48 a 72 horas después de la aplicación, también se sugiere cortar las flores de malezas el día previo. Se debe dar aviso a los apicultores del entorno para que apliquen medidas de resguardo de sus colmenas.
- El producto se aplicará a la dosis propuesta por el fabricante del plaguicida o la empresa representante en Chile (dosis menor y/o mayor), bajo condiciones de Buenas Prácticas Agrícolas

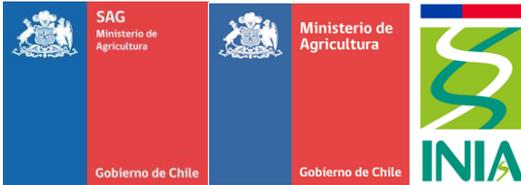


- Para todos los casos se utilizará la dosis recomendada por el fabricante (mínima y/o máxima), considerando que no se produzcan incumplimientos a los LMR nacionales.
- La dosis se debe expresar en kg (o litros) de producto formulado por hectárea, también deberá indicarse la dosis en gr. de ingrediente activo por ha y en gr o cc de producto comercial e i.a. por hectolitro.
- La aplicación será chequeada utilizando papel hidro sensible en cuatro plantas escogidas al azar por tratamiento y repetición, 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).
- Una vez finalizado el ensayo, posterior a la última evaluación, toda la superficie utilizada será tratada con el plaguicida que se observe más eficaz en el control de *B. hilaris* en campo, respetando el periodo de carencia correspondiente.
- Al cabo de 48 horas, 7, 14 días después de la aplicación, se contabilizará el número de adultos y ninfas presentes por hoja y en el suelo, por tratamiento y por repetición. Los resultados del número de la chinche pintada *B. hilaris* adultos y estados inmaduros por planta, porcentaje de incidencia e intensidad de ataque serán sometidos a un Análisis de Varianza y a una Prueba Rango Múltiple (LSD) con una probabilidad del error de 0,05.
- Solo para los plaguicidas que indiquen un periodo de protección mayor a los 20 días, se requerirá una cuarta evaluación al día 21 después de la aplicación.
- Considerando que la infestación tanto de la parcela tratada como el testigo siempre presenta diferencias, en el número de ejemplares vivos al inicio del ensayo, es que se calculara el porcentaje de Eficacia utilizando la fórmula de Henderson & Tilton para individuos vivos con poblaciones desuniformes.
- Si se utiliza infestación artificial, se deberá emplear la fórmula de Abbot's (ítem 4.2.1.1)

#### Formula de Henderson & Tilton (infestación natural)

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

Dónde: n = Población del insecto, T = tratamiento, Co = control

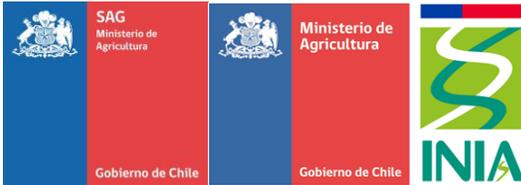


## 5- Análisis de datos y presentación de los resultados

- Para el análisis estadístico de los resultados, se utilizarán las mismas variables evaluadas en el punto anterior y se tomarán los datos de todos los tratamientos haciendo un análisis para cada grupo ensayado. No se eliminarán datos. Se entregará toda la data cruda generada, en formato Excel y evaluada estadísticamente (Anexo N° 2).
- Los análisis se entregarán en el anexo del informe final, incluyendo una ficha resumen (Pauta para autorizar productos fitosanitarios para plagas cuarentenarias presentes bajo control oficial (Anexo N°3)).
- Para el caso que el análisis estadístico requiera transformaciones de datos, estas serán debidamente justificadas.
- En el informe se deberán presentar todas las variables evaluadas en número y porcentaje.
- Será de conocimiento público el % de eficacia alcanzado el cual deberá ser informado en la resolución caso a caso y disponible en el listado oficial publicado en la página web del SAG.
- Los investigadores deben estar registrados y autorizados por el SAG. <http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/plaguicidas-y-fertilizantes/78/registros>.
- La empresa titular del plaguicida deberá respaldar la información de residualidad (LMRs), conforme a la Resolución 1557/2014, con determinaciones realizadas con el plaguicida en evaluación, con datos de residuos obtenidos en base a ensayos protocolizados, según las normas internacionales o determinar, cuando proceda, el nivel de los residuos del plaguicida al momento de la cosecha del cultivo, en conformidad con las instrucciones de uso.

### 5.1 Sobre los registros:

- El interesado deberá dar aviso al Sub departamento de Plaguicidas y Fertilizantes del SAG de las fechas en que realizará las aplicaciones donde se realice el ensayo con al menos 2 días hábiles de anticipación.
  - La institución ejecutante de los ensayos deberá contar con un registro de las fechas en que se realizaron los tratamientos, las dosis aplicadas, mojamiento, estadio del insecto al momento de realizar la aplicación y otros. Estos registros deben estar disponibles en todo momento para los fiscalizadores del SAG.
- a- Grupos de especies según Codex Alimentarius (Anexo N° 1)  
b- Registro de las evaluaciones de eficacia (Anexo N° 2)



- c- Pauta para autorizar productos fitosanitarios para plagas cuarentenarias presentes bajo control oficial (Anexo N°3)
- d- Aviso aplicación ensayos muestras de plaguicidas de uso experimental (faae – mpe) código: f-ris-aem-pa-005 versión: 01 (Anexo N°4)
- e- Aviso disposición final material vegetal tratado con plaguicidas de uso experimental (fadf - mvt) código: f-ris-aem-pa-004 versión: 01(Anexo N°5)
- f- Aviso disposición final saldos de muestras de plaguicidas de uso experimental (fadf – smp) código: f-ris-aem-pa-006 versión: 01 (Anexo N°6)

## 6- Información meteorológica

Se registrarán 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 y/o aplicación y estado fenológico del cultivo. El viento sólo se medirá el día de la aplicación.

La información meteorológica será registrada a la fecha de aplicación, horario y la temperatura al momento de la aplicación, utilizando para estas mediciones un data logger local con registro cada quince minutos y durante todo el tiempo que dure el ensayo, apoyándose además en la información de la RAN, de la estación de monitoreo más cercana, si es que su ubicación está en el radio de buena cobertura.