

CONTROL BIOLÓGICO DE LOS AFIDOS (HOM., APHIDIDAE) DE LOS CEREALES EN CHILE. III. MULTIPLICACION Y PRODUCCION MASIVA DE DEPREDADORES Y PARASITOIDES INTRODUCIDOS¹

The biological control of cereal aphids in Chile (Hom., Aphididae). III. Mass rearing of introduced predators and parasitoids species

Enrique Zúñiga S.², Hana Suzuki S.² y René Vargas M.²

SUMMARY

As a part of the biological control programme against the cereal aphids, the La Cruz Experimental Station of INIA was breeding predators and parasitoids through 1975 to 1981. Some technics were developed and tested to rear the introduced aphidophagous insects. Best system to rear coccinellids, to be released as eggs, was by feeding them in ice cream cups, with leaves and aphids (free of predators) massively collected with a net at wheat fields. Parasitoids were reared up in cages made of acrylic and mesh on aphids bred on wheat plants. Pieces of wheat plants with the spike, free of insects, were also proved to host aphids to be parasitized, being a promising technic. During 1975 more than 300.000 coccinellids were released and up to 1981 some 6 millions parasitoids were released by the Insectary to be massified by other centers.

The introduced aphidophagous species reared up were *Coccinella transversoguttata*, *Hippodamia variegata*, and *Lioadalia flavomaculata*; the parasitoids were: *Aphelinus varipes*, *Aphidius ervi*, *A. rhopalosiph*, *A. uzbekistanicus*, *Ephedrus plagiator*, *Monoctonus nervosus*, *Praon gallicum* and *P. volucre*.

La Subestación Experimental La Cruz (INIA) introdujo y multiplicó masivamente depredadores entre los años 1975 y 1978 y parasitoides entre 1976 y 1981, (Zúñiga, Van den Bosch, Drea y Gruber, 1986). Esto tuvo por objetivo la producción masiva de enemigos naturales para el control biológico de *Metopolophium dirhodum* y *Sitobion avenae*, y también, en cierta medida, de *Rhopalosiphum maidis*, *R. padi* y *Schizaphis graminum*, especies endémicas en Chile.

Etapas generales

Las etapas de multiplicación y producción masiva, fueron abordadas en cuatro fases: a) multiplicación inicial; b) obtención y mantención del stock básico; c) multiplicación para abastecimientos de los Centros Multiplicadores y; d) producción masiva, en invernaderos. Estas fases fueron desarrolladas en el Insec-

tario de la Subestación Experimental La Cruz. Simultáneamente, las estaciones experimentales de INIA, la Escuela de Agronomía de la Universidad Austral de Valdivia y la Sede Talca de la Universidad de Chile (Univ. de Talca, en la actualidad), mantuvieron Centros Multiplicadores a lo largo del país, re-multiplicando el material proveniente de La Cruz.

Multiplicación inicial: esta fase comenzó, luego de recibir la colonia original de una población foránea de entomófagos, en la sala de cuarentena y se prolongó durante tres a cuatro generaciones, hasta tener una masa suficiente para generar el stock básico de depredadores o parasitoides. Al mismo tiempo, consistió en un período de observación detallada de los insectos; prueba de diferentes condiciones alimenticias y ambientales, como luz, temperatura y humedad relativa; y desarrollo de métodos y materiales para la multiplicación masiva.

Obtención y mantención del stock básico: siendo ésta la etapa de mayor cuidado, para mantener y aumentar la calidad y cantidad de insectos, en ella se realizó la

¹ Recepción de originales: 12 de agosto de 1985.

² Subestación Experimental La Cruz (INIA), Casilla 3, La Cruz, Chile.

selección de los individuos reproductores. Esta selección se hizo buscando individuos mejor dotados, en cuanto a tamaño, edad, actividad y vigor. Periódicamente, se renovó la colonia, reintroduciendo especímenes preadaptados, obtenidos en condiciones más naturales, en el campo. Se realizó en salas o cámaras de crianza bajo condiciones de temperatura, humedad relativa y luz controladas. Estas unidades fueron especialmente acondicionadas, con estanterías metálicas, buena ventilación y absoluto confinamiento, por medio de baterías de acrílico y de aislación en salas de doble puerta.

Multiplicación para el abastecimiento de centros de re-multiplicación: este proceso fue similar al anterior; algo menos riguroso, más masivo, pero sin descuidar la calidad de los especímenes. Se llevó a cabo en salas aisladas para cada especie y en invernaderos de tul y polietileno, manejados cuidadosamente.

Producción masiva en invernaderos de La Cruz, Curacaví y Osorno: se realizó únicamente en el interior de invernaderos y siguiendo el método que se describirá más adelante.

Crianza y Multiplicación de Depredadores

Alimentación: por la dificultad de multiplicación de coccinélidos depredadores a escala masiva, se intentó desarrollar y probar varias dietas artificiales, en base a polvo de áfidos (deshidratados al sol), gelatina con áfidos frescos, huevos de polillas, dietas de hígado

con miel, polen de maíz, pulgones vivos, etc. El mejor resultado, pese a la laboriosidad, se obtuvo a través de la alimentación con áfidos vivos a discreción, en trozos de hojas de trigo, y agua hervida como bebida. Los áfidos empleados fueron principalmente de las especies *M. dirhodum* y *S. avenae* y, ocasionalmente, *Acyrtosiphon pisum*, *Myzus persicae*, *R. padi* y *S. graminum* (Cuadro 1). Para la deshidratación de áfidos, su inclusión en gelatina, o para la alimentación directa con individuos vivos, los pulgones fueron recolectados con red entomológica en sementeras de trigo, y luego separados de los enemigos naturales, capturados con ellos. Otros depredadores, como larvas de sírfidos y larvas de Cecidomyiidos, también fueron alimentados con áfidos vivos.

Condiciones ambientales: la multiplicación se llevó a cabo en salas o cámaras de crianza con: temperatura de $25^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$; humedad relativa de $74\% \pm 5\%$; fotoperíodo de 17 hr de luz y 7 hr de oscuridad (ampollitas de mercurio); y ventilación permanente, por extractores.

Crianza de estados inmaduros: para reponer el stock de hembras productoras de huevos, fue necesario criar periódicamente huevos, larvas y pupas de las especies introducidas. Los huevos fueron criados dentro de cajas de plástico de 10 x 10 x 10 cm, manteniendo la humedad relativa con algodón humedecido, aprisionado contra la tapa. Al nacer, las larvitas fueron aisladas en grupos de 25 a 30, en vasos. Para evitar el canibalismo, se mantuvo una provisión suficiente de pulgo-

CUADRO 1. Coccinélidos depredadores (Aphidiidae y Aphelinidae) y parasitoides multiplicados masivamente y áfidos hospederos utilizados

TABLE 1. Predators and parasitoids reared and host aphids used for their rearing

	M. d.	S. a.	R. m.	R. p.	S. g.
<i>Adalia bipunctata</i>	x	x	x	x	x
<i>Adalia deficiens</i>	x	x	x	x	
<i>Coccinella transversoguttata</i>			x	x	
<i>Hippodamia convergens</i>	x		x	x	
<i>Hippodamia variegata</i>		x			x
<i>Lioadalia flavomaculata</i>					x
<i>Aphelinus abdominalis</i>	x				
<i>Aphelinus</i> sp. nr. <i>asychis</i>					x
<i>Aphelinus varipes</i>					x
<i>Aphidius ervi</i>	x	x			
<i>Aphidius rhopalosiphi</i>	x	x			
<i>Aphidius uzbekistanicus</i>		x			
<i>Ephedrus plagiator</i>	x	x			x
<i>Lysiphlebus testaceipes</i>					x
<i>Monoctonus nervosus</i>		x			
<i>Praon gallicum</i>	x				
<i>Praon volucre</i>	x	x			

M. d. = *Metopolophium dirhodum*; *S. a.* = *Sitobion avenae*; *R. m.* = *Rhopalosiphum maidis*; *R. p.* = *Rhopalosiphum padi*; *S. g.* = *Schizaphis graminum*.

nes y agua, similar a la utilizada para los adultos, y se redujo su densidad por vaso, en la medida que crecían, llegando a ser 3–5, al final del desarrollo larval. En la medida que entraban al estado de pupa, fueron colocadas en cajas de plástico de 10 x 10 x 10 cm, con malla de nylon en la tapa, para adecuada ventilación. La sala de crianza de individuos inmaduros fue mantenida en las condiciones ya descritas.

Producción de huevos: los coccinélidos fueron liberados al campo, principalmente al estado de huevos, cuya obtención masiva se realizó confinando 1–3 hembras adultas ovíparas, en vasos de plástico de 250 cc de capacidad. Los vasos fueron forrados con papel celofán en su interior y a su tapa, también forrada, se le practicó una boca de 3 cm de diámetro. Este forro facilitó la obtención de huevos, cortando los trozos donde habían sido depositados. Como alimentación, se agregó cada día pulgones vivos a discreción, sobre hojas de trigo, y agua hervida, como bebida, en un algodón. Los huevos se recolectaron diariamente, para evitar el canibalismo y regular su edad. Para reponer el stock de productoras de huevos, consistente en 600 a 700 hembras, se mantuvo paralelamente una crianza de 2.000 individuos, de huevo a adulto, durante aproximadamente 20 días. De esta crianza fueron utilizadas las hembras ovíparas mejor dotadas, durante el período de mayor oviposición.

Crianza y Multiplicación de Parasitoides

Este proceso incluyó varias etapas interdependientes: a) obtención de plantas hospederas; b) multiplicación de pulgones; c) parasitación, y d) producción masiva de parasitoides.

Obtención de plantas hospederas: el objetivo de esta fase fue disponer de plantas de trigo, vigorosas, aptas para sobrevivir las condiciones de confinamiento y soportar una alta población de áfidos, por un período prolongado. El trigo fue sembrado en maceteros de plástico (polietileno de 2 mm), con suelo franco, desinfectado con bromuro de metilo. Cada macetero se llenó hasta un cuarto de su capacidad con tierra fertilizada, con una dosis equivalente a 90 u./ha de P. Se sembró 20 a 25 semillas, previamente desinfectadas con Bayleton (3 g/kg). Esto se realizó con un sembrador de acrílico, después de 18 hr del riego, cubriendo la semilla con 2,5 cm de suelo.

Los maceteros fueron instalados en un invernadero, donde las plantas eran asperjadas 1–2 veces con DDVP al 0,15% y regadas con 100 cc de Bayfolan (abono foliar) al 2% desde la germinación hasta el estado de 3–4 hojas. Durante el verano, para evitar la elongación excesiva, se aplicó 50 cc de hidracida maleica.

Multiplicación de pulgones: para disponer de pulgones libres de virus, se recolectaron colonias del campo, aislándose grupos de 20 hembras adultas, en cada placa de Petri, sobre papel filtro humedecido. Cada hora se retiró la progenie nacida, poniéndola en plántulas libres de áfidos, dentro de gabinetes bioclimáticos a 21° C. Para la masificación de este material, se colocó 15 maceteros en cada batería, infestando cada planta con 30 a 40 áfidos avirulíferos. Alcanzada una alta densidad (3–4 generaciones), las plantas infestadas fueron trasladadas a las salas de parasitación o a los invernaderos herméticos. Las condiciones ambientales de las salas fueron: temperatura 21° ± 2° C, regulada automáticamente, con un sistema de seguridad, que desconectaba incluso las luces, en caso de subir la temperatura; luz suministrada por ampollitas HQL o HPL/N de 125 W de mercurio, más una de sodio, en número de 4 por m², (dos ampollitas por batería); fotoperíodo de 12 hr de luz y 12 hr de oscuridad; y ventilación permanente, con extractores de 8".

Parasitación: 30 a 50 hembras y 25 machos fueron colocados en el interior de la batería de acrílico, que contenía 15 maceteros, con 300 a 400 áfidos cada uno. Los parasitoides adultos permanecían en cautiverio, disponiendo de hilos de miel, aplicados sobre el techo, y agua hervida, asperjada a las paredes internas varias veces al día. A los 7–15 días, según la especie y condiciones de crianza, aparecían las primeras momias, que se recolectaron con aspirador entomológico y/o cortando las hojas con las momias. Las condiciones ambientales de la sala de parasitación fueron idénticas a las de áfidos.

Producción masiva en invernaderos: 5–15 invernaderos de tul y polietileno fueron utilizados en cada centro de multiplicación. En suelo bien mullido y desinfectado con bromuro de metilo, se sembraba la mitad de la dosis recomendada de semilla, con una variedad apropiada a cada zona y según época del año, en hileras separadas a 15 cm; el suelo se abonó con 148 kg de superfosfato y 180 kg de salitre sódico/ha. Semanalmente, se asperjó con DDVP, hasta tres días antes de la infestación con los pulgones. Eventualmente, se aplicó Morestan 25%, 1–2 lt por invernadero, en solución de 3 g/10 lt de agua, para evitar la proliferación de hongos, sobre plantas y pulgones. Se regó y desmalezó cada vez que fue necesario. En general, con la eliminación de plantas emergidas se dividió la superficie en parcelas de 1 m².

La multiplicación de pulgones para invernaderos se realizó, complementariamente, sobre maceteros ubicados dentro de baterías de acrílico, en uno de los invernaderos. Para evitar la entrada de insectos ajenos a la multiplicación, se colocó 15–30 pulgones/planta, al estado 2–3 de la escala de Feekes, y se selló herméticamente la estructura. Una vez establecidos (± 3

días), se colocaron 2.000 a 3.000 momias, en cajas suspendidas a la altura de las plantas, emergiendo los parasitoides durante los primeros cinco días. Esta modalidad evitó la manipulación de los adultos y su consiguiente deterioro o mortalidad. Los pulgones parasitados o momificados, aparecían entre 15 y 25 días después, dependiendo de la temperatura y la humedad relativa.

Durante la etapa de multiplicación en invernaderos, se evitó temperaturas superiores a 28° C, ya que afectaban sensiblemente la reproducción y sobrevivencia de los áfidos. La recolección de parasitoides se hizo según el destino de ellos: si se deseaba larvas (áfidos parasitados) y pupas (áfidos momificados), se colocaban las plantas cortadas en cajas de cartón, para trasladarlas al campo. Para la recolección de adultos, se utilizó aspirador entomológico.

Los invernaderos eran de doble puerta, para evitar la entrada de otros enemigos naturales, áfidos o plagas. La siembra y multiplicación se hizo de manera escalonada y se parasitó con una sola especie de enemigo natural, en cada oportunidad.

Tanto en las salas, como invernaderos, se llevó un control y registro de las condiciones ambientales, de las operaciones realizadas y producción de insectos. Esto

permitió, en muchos casos, mejorar las crías tomando medidas correctivas o evitando condiciones adversas para la multiplicación.

Discusión

Siendo este el primer proyecto de control biológico clásico de áfidos en cereales de grano pequeño, hubo que desarrollar metodologías nuevas, ingeniosas y simples. Anteriormente, se habían realizado proyectos de control biológico contra: el pulgón lanífero del manzano, en diferentes regiones del mundo; el pulgón del nogal, en Estados Unidos (Frazer y Van den Bosch, 1973); el pulgón manchado de la alfalfa (Barnes, 1960; Schlinger y Hall, 1959; Van den Bosch y otros, 1959); y el pulgón verde del sorgo, en Estados Unidos (Jackson, Rogers y Eikenbary, 1971).

Las especies entomófagas y los resultados de la multiplicación de depredadores y parasitoides llevada a cabo por el INIA en La Cruz, entre 1975 y 1981 pueden apreciarse en el Cuadro 2, que viene a complementar los datos publicados por Rojas (1980). Las especies mencionadas por este autor como *Aphidius* sp. y *Aphidius pascuorum* corresponden a *A. rhopalosiphii* y las citas de *Praon* sp. se refieren a *Praon volucre*, recientemente identificadas. A los totales del cuadro,

CUADRO 2. Enemigos naturales criados por el Insectario de la S.E.E. La Cruz (INIA), para los centros de re- multiplicación y para liberaciones directas contra los pulgones del trigo

TABLE 2. Number of aphidophagous insects reared at the La Cruz insectary, to supply breeding centers and for direct mass releases

Enemigos Naturales	Origen	1975	1976	1977	1978	1979	1980	1981	Totales
Depredadores									
<i>Adalia bipunctata</i>	I	892	—	640	8.679	1.992	—	—	12.203
<i>Adalia deficiens</i>	E	—	1.771	249	—	268	—	—	2.288
<i>Adalia</i> spp.	E	1.670	5.631	—	—	—	—	—	7.301
<i>Coccinella transversoguttata</i>	I	1.597	788	—	—	—	—	—	2.385
<i>Eriopis connexa</i>	N	17.967	35.204	5.174	13.135	1.321	—	—	72.801
<i>Hippodamia convergens</i>	I	—	136	—	937	2.208	—	—	3.281
<i>Hippodamia variegata</i>	I	220.624	41.913	7.915	4.748	3.219	—	—	278.419
<i>Liodalia flavomaculata</i>	I	96.672	27.585	—	—	—	—	—	124.257
Totales		339.422	113.028	13.978	27.499	9.008	—	—	502.935
Parasitoides									
<i>Aphelinus abdominalis</i>	E	—	11.972	14.360	4.625	19.303	—	—	50.260
<i>Aphelinus</i> sp.	I	—	—	—	760	118.365	—	—	119.125
<i>Aphelinus varipes</i>	I	—	185	410	1.280	—	—	—	1.875
<i>Aphidius ervi</i>	I	—	61.961	337.634	62.132	10.191	10.840	78.026	560.784
<i>Aphidius rhopalosiphii</i>	I	—	49.700	693.106	1.259.790	286.623	88.160	96.615	2.473.994
<i>Aphidius (Luzbekistanicus?)</i>	I	—	—	—	—	—	12.675	—	12.675
<i>Ephedrus plagiator</i>	I	—	—	—	5.763	20.523	—	—	26.286
<i>Lysiphlebus testaceipes</i>	E	—	—	—	15.755	950	—	12.700	29.405
<i>Monoctonus nervosus</i>	I	—	7.570	116.960	27.610	—	—	—	152.140
<i>Praon gallicum</i>	I	—	—	—	19.769	130.947	111.995	142.770	405.481
<i>Praon volucre</i>	I	—	5.494	175	110.023	178.212	41.230	80.654	415.788
Totales		—	136.882	1.162.645	1.507.507	765.114	264.900	410.765	4.247.813

I = Especie introducida; E = Especie endémica; N = Especie nativa.

hay que agregar los parasitoides liberados por otras estaciones experimentales del INIA y de la Universidad Austral de Chile, que actuaron como re-multiplicadores.

Se estima que la metodología desarrollada en La Cruz, fue eficiente, obteniéndose una adecuada producción y liberación de entomófagos, que satisface los mejores estándares descritos por Chambers (1977).

La liberación de coccinélidos al estado de huevo, obtenidos de madres criadas con pulgones y agua de bebida a discreción, fue más apropiada, ya que permitió liberaciones más numerosas y en menor tiempo (1/20 del período para obtener adultos). Sin embargo, requirió un elevado número de laborantes, llegando hasta 15 personas en el año 1975. Se puede reducir la mano de obra, con un sistema mixto de dieta, a base de pulgones vivos con individuos deshidratados, o en jaleas, o complementados con huevos de polillas, o

dieta de hígado y miel. Sin embargo, esto afecta la calidad y cantidad de individuos a liberar.

En cuanto a multiplicación de parasitoides, Zúñiga (1982) sugiere otro método simple, multiplicando *S. avenae* sobre espigas de trigo. Para ello, se siembra éste en invernaderos, o telados de malla de plástico, escalonadamente durante todo el año y absolutamente libre de áfidos. Se van cortando los tallos, con su hoja bandera, al comenzar a formarse la espiga, y se disponen en floreros o recipientes con agua de pozo, dentro de las baterías. Infestándolas con áfidos, éstos llegan a adquirir un mayor tamaño y tornan más numerosas sus colonias, ya que las espigas ofrecen una calidad nutritiva superior a las plántulas más jóvenes u hojas. Este método reduce esfuerzos y mejora la producción en la fase de multiplicación de pulgones, y además, favorece el vigor y tamaño de los parasitoides producidos en condiciones artificiales.

RESUMEN

Luego de introducir y estudiar en cuarentena varias especies de afidófagos, la Subestación Experimental La Cruz (INIA) multiplicó especies seleccionadas de depredadores y parasitoides para el control de los pulgones del trigo. Las especies exóticas criadas fueron: *Coccinella transversoguttata*, *Hippodamia variegata*, *Lioadalia flavomaculata*, *Aphelinus varipes*, *Aphidius ervi*, *A. rhopalosiphi*, *A. uzbekistanicus*, *Ephedrus plagiator*, *Monoctonus nervosus*, *Praon gallicum* y *P. volucre*.

Se ensayó varios métodos de crianza y los resultados más prácticos se obtuvieron al alimentar los coccinélidos "reproductores" con áfidos recolectados masivamente desde sementeras de trigo y criados en vasos libres de otros afidófagos. Los parasitoides fueron cria-

dos en baterías de acrílico con tul de nylon, usando maceteros con trigo, infestados con áfidos hospederos, dentro de salas con temperatura y humedad controlada. También, se les reprodujo en mayor cantidad dentro de invernaderos de tul y plástico, con alta infestación de pulgones, libres de otros afidófagos.

Se presenta una descripción de los métodos desarrollados y se comenta sobre los resultados obtenidos. En 1975 se crió más de 300 mil coccinélidos y entre 1976 y 1981, más de 4 millones de parasitoides fueron despachados a centros re-multiplicadores, en otras sedes del INIA y en la Universidad Austral de Chile y en la Sede Talca de la U. de Chile (actualmente, U. de Talca).

LITERATURA CITADA

- BARNES, O.L. 1960. Establishment of imported parasites of the spotted alfalfa aphid in California. Jour. Econ. Ent. 53 (6): 1094–1096.
- CHAMBERS, D. 1977. Quality control in mass rearing. Ann. Rev. Ent. 22: 289–308.
- FRAZER, B.D. and VAN DEN BOSCH, R. 1973. Biological control of the walnut aphid in California; the interrelationship of the aphid and its parasite. Environ. Ent. 2 (4): 561–568.
- JACKSON, H.B.; ROGERS, C.E. and EIKENBARY, R.D. 1971. Colonization and release of *Aphelinus asychis*, imported parasite of the greenbug. Jour. Econ. Ent. 64 (6): 1435–1438.
- ROJAS, S. 1980. Introducción de insectos entomófagos para el control biológico de los pulgones del trigo *Metopolophium dirhodum* (Walker) y *Sitobion avenae* (Fabricius). Simiente 50 (1–2): 33–37.
- SCHLINGER, E.I. and HALL, J.C. 1959. A synopsis of the biologies of the three imported parasites of the spotted alfalfa aphid. Jour. Econ. Ent. 52 (1): 154–157.
- VAN DEN BOSCH, R.; SCHLINGER, E.I.; DIETRICK, E.J.; HAGEN, K.S.; and HOLLOWAY, J.K. 1959. The colonization and establishment of imported parasites of the spotted alfalfa aphid in California. Jour. Econ. Ent. 52 (1): 136–141.
- ZUÑIGA, E. 1982. Controle biológico dos afídeos do trigo (Homoptera: Aphididae) por meio de parasitóides no Planalto Médio do Rio Grande do Sul, Brasil. Ph.D. Tese; Univ. Federal de Paraná. 319 p.
- ZUÑIGA, E.; VAN DEN BOSCH, R.; DREA, J. y GRUBER, F. 1986. Control Biológico de los áfidos (Hom., Aphididae) de los cereales en Chile. II. Obtención, introducción y cuarentena de depredadores y parasitoides. Agricultura Técnica (Chile) 46 (4):