

# INFORME DE AVANCE TÉCNICO N° 1

## PROYECTO 12BPC2-13355

**Fortalecimiento del sector forestal mediante el  
diseño e implementación de un sistema de  
vigilancia temprana para el manejo integrado de  
plagas *Sirex noctilio*, basado en el uso de  
semioquímicos**



**Periodo informado julio 2012 – febrero 2014**

**CONTROLADORA DE PLAGAS FORESTALES S.A.**

**Marzo 2014**

## ÍNDICE

SÍNTESIS DEL PROYECTO .....	2
ACTIVIDADES INFORMADAS EN EL PERIODO .....	5
ETAPA 1: DISEÑO DE UN SISTEMA DE ALERTA TEMPRANA PARA <i>S. noctilio</i> .....	6
Actividad 1: Validación de atrayentes emitidos por el hospedero atacado por <i>Sirex noctilio</i> .....	6
Actividad 2: Validación de atrayentes emitidos por adultos de <i>Sirex noctilio</i> .....	16
Actividad 3. Validación del diseño de la trampa.....	36
LOGROS MÁS RELEVANTES ALCANZADOS A LA FECHA.....	40
RESUMEN DE DESEMBOLSOS REALES DEL PROYECTO .....	41
ANEXO N° 1: Certificados de aporte del Beneficiario y Coejecutor .....	42

## SÍNTESIS DEL PROYECTO

En el pujante sector forestal chileno, existen varias amenazas o dificultades para mantener su dinamismo, externamente están los vaivenes de la economía global e internamente una de las mayores dificultades son los incendios forestales, las plagas y las enfermedades, afectando tanto el abastecimiento de los recintos industriales como su calidad o el impedimento de exportar, si no se realiza algún tratamiento específico para controlar y/o eliminar las plagas o enfermedades.

Dentro de este marco, actualmente en las plantaciones de *Pinus radiata* del país se ha introducido una avispa taladradora de la madera, *Sirex noctilio*, que afecta tanto el abastecimiento de los recintos industriales, debido a que mata el árbol, y también disminuye la calidad de la madera por dejarla con galerías, perforaciones e incorporar un hongo de pudrición que es simbiote de esta plaga, *Amylostereum aerolatum*.

Este proyecto busca fortalecer el sector forestal mediante el diseño e implementación de un sistema de vigilancia temprana para el manejo integrado de *Sirex noctilio*, basado en el uso de semioquímicos, esto debido a que la mejor forma de manejar esta plaga es detectarla tempranamente, para posteriormente realizar los trabajos de control, ya sean curativos (raleos o cosechas sanitarias) o de control biológico con el establecimiento de un complejo de biocontroladores (*Deladenus siricidicola*, *Megarhyssa nortoni* e *Ibalia leucospoide*).

Los sistemas de detección específicos para *Sirex noctilio* que se están aplicando en la actualidad en el país son dos:

- Prospección visual orientado a buscar árboles con síntomas de ataque, los cuales deben cortarse, picarse y si se encuentra algún estado de desarrollo del insecto, enviarlo a laboratorio para su taxonomía y comprobación de que se trata de una ataque de *S. noctilio* (Instructivo SAG I-PA-FO-25).
- Parcelas cebos para la detección de *Sirex noctilio*: este método consiste en octubre-noviembre debilitar 5 árboles con un herbicida específico (Picloran) los cuales quedan más susceptible al ataque de la plaga. Estos árboles al año siguiente entre septiembre-octubre se cortan y se pican en busca de diferentes estadíos de la plaga, los que se envían a los Laboratorios del SAG, junto con 3 trozas de 30 a 50 cm sin picar obtenido de los 2 árboles más sospechosos de la parcela cebo. En laboratorio se analizan las muestras y se determina si el material enviado fue o no atacado por *Sirex noctilio* (Instructivo SAG I-PA-FO-026).

El tipo de vigilancia por parcela cebo tiene los inconvenientes de ser muy caro, y obtener los resultados varios meses después de su instalación, por esta razón y con los antecedentes recopilados de trabajos en otros países, es que se ha propuesto implementar un sistema de vigilancia temprana en función de una trampa con un atrayente específico para *Sirex noctilio*, lo que implica tener una metodología de detección de *S. noctilio* más económica y con un resultado inmediato de la presencia de la plaga por la captura del adulto cuando realiza su vuelo de dispersión, siendo muy fácil el reconocimiento taxonómico en forma visual (resultado inmediato de la detección).

El proyecto se ha dividido en 3 Etapas:

### **Etapas 1. Diseño de un sistema de alerta temprana para *S. noctilio*.**

Esta etapa busca validar la información recopilada de otros países, respecto del uso de los compuestos químicos usados como atrayentes, como el diseño de la trampa y la definición de un sistema de alerta temprana que utilice como base una trampa con atrayente.

Esta etapa para acortar tiempos de validación se realizará por tres líneas complementarias:

**Línea 1:** Determinar en árboles atacados o debilitados de *Pinus radiata* la aparición de los compuestos químicos a validar, debido a que no todos los trabajos han sido realizados sobre *Pinus radiata*. Estos compuestos son testados con un antenógrafo que determina que las antenas de *S. noctilio* reconoce el compuesto químico a estudiar o por túnel de viento (Actividad 1).

**Línea 2:** Determinar en insectos adultos de la plaga la emisión de los compuestos químicos a validar, ya que pueden existir variaciones por el tipo de alimentación (otra especie de hospedero) o por el origen genético de introducción de *Sirex noctilio* al país. Estos compuestos son testados con un antenógrafo que determina que las antenas de *S. noctilio* reconoce el compuesto químico a estudiar o por túnel de viento (Actividad 2).

**Línea 3:** Determinación en terreno si los compuestos químicos validados en laboratorio y los diferentes diseños de trampa atraen o no a la plaga (Actividad 3). Las líneas 1 y 2 permiten reducir los tiempos y los costos respecto de una validación totalmente hecha in situ, debido a que la plaga presenta un solo período de vuelo anual.

Con los datos obtenidos de las actividades antes descritas se diseñará el sistema de alerta temprana contemplado en la Actividad 4.

### **Etapas 2. Desarrollo de estrategias de transferencia para implementación del sistema de alerta temprana de *S. noctilio*.**

En esta etapa el Beneficiario (Oferente 1) y el Mandante (Oferente 2) definirán la mejor estrategia para difundir y transferir el sistema de vigilancia temprana para *S. noctilio* a los propietarios forestales, tanto PYMES como grandes empresas, principalmente de las Regiones del Bío Bío y Maule, que son las regiones con una mayor superficie plantada en proceso de colonización de la plaga y donde se estima que esta puede hacer un mayor daño económico. Para llevar esta etapa a un buen término, se utilizará la red de encargados forestales que posee el SAG y las Empresas Forestales, invitando a CONAF e INDAP a incorporarse en la difusión del sistema de vigilancia temprana de *S. noctilio*.

### **Etapa 3. Implementación y evaluación del sistema de alerta temprana de *S. noctilio*.**

En esta etapa se seleccionaran a lo menos dos empresas (una PYME y una Grande), en que se implementará el sistema de vigilancia temprana, para su evaluación económica definitiva y que sirva como demostración para otras empresas interesadas en implementar este sistema de vigilancia.

Finalmente se desarrollará y confeccionará un instructivo para la implementación del sistema de vigilancia temprana para *S. noctilio*, que sirva como base para continuar con la transferencia e implementación del sistema, ya que como esta es una plaga dinámica, al futuro debería propagarse a las demás regiones que vayan teniendo presencia de *S. noctilio* como la regiones de O'Higgins y Valparaíso entre otras.

## ACTIVIDADES INFORMADAS EN EL PERIODO

El proyecto en su comienzo tuvo una ampliación del tiempo de ejecución de 32 meses a 34 meses, lo que implicó que la Etapa 1 informada, aumentó su duración de 20 meses a 24 meses, para poder sincronizar el proyecto al ciclo biológico de la plaga *Sirex noctilio*.

<b>Etapa N°</b>	1			
<b>Objetivo(s) Especifico(s) Asociado(s) a la Etapa</b>	Diseñar un sistema de alerta temprana de <i>Sirex noctilio</i> en base a compuestos químicos naturales atrayentes. Los resultados se utilizan en la Etapa 2.			
<b>Nombre de la Etapa:</b>	Diseño de un sistema de alerta temprana para <i>S. noctilio</i> .			
<b>Descripción:</b>	En esta etapa se validará la información bibliográfica del uso de atrayente y trampa para la detección de <i>Sirex noctilio</i> por 3 líneas complementarias (Actividad 1 a la 3) para disminuir los tiempos de validación, ya que se debe determinar si los compuestos a validar están presente en <i>Pinus radiata</i> cultivado en Chile, en los adultos de la plaga establecida en el país (puede variar según la procedencia genética) y si la trampa con el atrayente realmente captura <i>S. noctilio</i> , es decir es más atractiva que la emisión de semioquímicos emitidos en forma natural.			
<b>Duración:</b>	24 meses			
<b>Descripción de la actividad</b>	<b>Hitos de la Actividad</b>	<b>Profesional Responsable</b>	<b>Entidad Responsable de Ejecutarla</b>	<b>N° Mes de Inicio y Terminó (Correlativos)</b>
1. Validación de atrayentes emitidos por el hospedero atacado por <i>Sirex noctilio</i> .	Validación de al menos un atrayente emitido por <i>Pinus radiata</i> .	Ricardo Ceballos, Ing. Forestal, Dr. Cs. profesional principal	Beneficiario / Coejecutor	Mes inicio: 1 Mes termino: 22
2. Validación de atrayentes emitidos por adultos de <i>Sirex noctilio</i> .	Validación de al menos un atrayente emitido por adultos de <i>Sirex noctilio</i> .	Ricardo Ceballos, Ing. Forestal, Dr. Cs. profesional principal	Beneficiario / Coejecutor	Mes inicio: 1 Mes termino: 22
3. Validación del diseño de la trampa.	Determinación de un diseño de trampa para usar con los atrayentes validados.	Ricardo Ceballos, Ing. Forestal, Dr. Cs. profesional principal	Beneficiario / Coejecutor	Mes inicio: 16 Mes termino: 22

## **ETAPA 1: DISEÑO DE UN SISTEMA DE ALERTA TEMPRANA PARA *S. noctilio***

### **Actividad 1: Validación de atrayentes emitidos por el hospedero atacado por *Sirex noctilio*.**

Mes inicio: 1 Mes término: 22. Informe del mes 1 al 20.

Esta etapa corresponde al estudio de los compuestos químicos involucrados en la interacción intra- e inter-específica de *Sirex noctilio* y su hospedero *Pinus radiata*. Durante esta etapa del proyecto se busca validar la información científica obtenida por estudios realizados principalmente en el hemisferio norte, respecto a la identidad y variedad de los compuestos químicos involucrados en la comunicación de esta plaga y la de aquellos compuestos empleados para su interacción con su medio ambiente, el bosque. Se estudiaron los compuestos emitidos por *P. radiata* e insectos adultos, machos y hembras. Dada la relación simbiótica entre *S. noctilio* y el hongo xilófago *Amylostereum aerolatum*, se incorporó estudiar la composición química de la fracción volátil de este hongo, con la finalidad de evaluar su rol en el comportamiento de la plaga.

### **Compuestos químicos volátiles emitidos por *Pinus radiata***

#### **Primer periodo de vuelo de la plaga, *Sirex noctilio***

Se trabajó en terreno para determinar la aparición de los compuestos químicos descritos en literatura en árboles *Pinus radiata* atacados o debilitados debido a la acción de *S. noctilio*, ya que no todos los trabajos han sido realizados sobre *P. radiata*. El lugar escogido fue el Fundo “Las Quinientas” (Figura 1), ubicado en la comuna de Santa Bárbara, Región del Biobío.



**Figura 1: Entrada fundo “Las Quinientas”**

### Colecta volátiles en terreno

Dentro del predio “Las Quinientas” se localizó un árbol con señales de ataque de *S. noctilio* (Figura 2) y cercano a él se seleccionaron 3 árboles para ser debilitados con herbicida (Figura 3), para así colectar los volátiles que podrían generar y que pudieran atraer a *S. noctilio*.



**Figura 2: Árbol con señales de ataque se *S. noctilio***



**Figura 3: Aplicación de herbicida a árboles seleccionados.**

Se colectaron los componentes volátiles emitidos por estos árboles mediante la técnica de Head-Space dinámico, cada siete días por un período de siete semanas. Se utilizaron dos tipos de trampas: Porapak Q 80-100 mesh y Tenax TA 60/80 (Figura 4 y 5).



**Figura 4: Instalación de trampas de Porapak Q**

Con el fin de comparar un árbol sano con uno atacado, también se dispuso colectar los volátiles de un árbol sano. Se realizó esto en el mismo predio por tres semanas, hasta que se hizo evidente que el árbol seleccionado sano también fue ataque por *S. noctilio*. En este momento se comenzó a evaluar un árbol de *P. radiata* ubicado dentro del terreno de INIA-Quilamapu; Chillán, para asegurar que no estuviera atacado por *S. noctilio* y usarlo como referente de árbol sano.

El análisis de las muestras se realizó por cromatografía de gases acoplada a detector de masa (GC/MS), y la identificación de los componentes químicos volátiles se realiza mediante la determinación del tiempo de retención ( $t_R$ ). Los resultados obtenidos muestran coincidencias con los descritos en la bibliografía (Tabla 1).



**Figura 5: Sistema Head Space montado en terreno**

**Tabla 1. Identificación de compuestos volátiles presentes en *P. radiata***

Compuesto	Árbol sano		Árbol herbicida		Árbol atacado	
	t <sub>R</sub> Porapak Q	t <sub>R</sub> Tenax	t <sub>R</sub> Porapak Q	t <sub>R</sub> Tenax	t <sub>R</sub> Porapak Q	t <sub>R</sub> Tenax
α(-)-Pino	13,467	13,512	13,391	13,453	13,384	13,464
β(-)-Pino	15,074	14,522	n.d.	15,016	n.d.	15,019
D-Limoneno	16,699	16,741	16,61	16,668	16,602	16,608
Canfeno	n.d.	n.d.	14,05	n.d.	14,043	13,967
Mirceno	n.d.	n.d.	15,221	15,187	15,11	15,115
3-Careno	n.d.	n.d.	16,12	16,117	n.d.	n.d.
β-Felandreno	n.d.	n.d.	16,791	16,739	16,675	16,68
3-Hexanona	8,146	8,176	8,084	8,087	8,075	8,145
2-Hexanona	8,281	8,311	8,22	8,222	8,21	8,28
3-Hexanol	8,444	8,478	8,446	8,422	8,374	8,441
n-Undecano	15,444	15,491	15,369	15,422	15,361	15,366

n.d.: no detectado, n.d.: no detectado, t<sub>R</sub>: tiempo de retención en columna cromatográfica (minutos)

### Segundo periodo de vuelo de la plaga, *Sirex noctilio*

En esta temporada el área de estudio correspondió a un rodal del predio “La Suerte” ubicado en la comuna de Santa Bárbara, Octava región. (N:5821977, E:255805, WGS84/H19). Se seleccionaron 3 árboles los cuales se debilitaron con el herbicida Picloran, nombre comercial Tordon 24K (Figura 6). Dependiendo del diámetro del árbol se aplicaron entre 10 y 13 cc de herbicida. Se incluyeron árboles sanos como de control, además de un árbol atacado por la plaga. Las colectas de los componentes volátiles se realizaron cada siete días desde diciembre 2013 hasta la fecha del informe.



**Figura 6: Debilitamiento de árboles**

Los compuestos volátiles emitidos por los árboles fueron colectados mediante la técnica de Head-Space dinámico (Figura 7). Se realizaron pruebas preliminares con dos tipos de adsorbente químicos en las trampas: Porapak Q 80-100 mesh y Tenax TA 60/80 con el fin de determinar el óptimo para una colecta más amplia de compuestos químicos. Se comprobó que Porapak Q proporciona mejores resultados, por lo que todas las capturas de volátiles se realizaron con trampas rellenas de este compuesto.



**Figura 7: Colecta de volátiles mediante Sistema Head Space**

La colecta se realizó por 4 horas, al cabo de las cuales las trampas se retiraron y se eluyeron en terreno con 1 mL de n-Hexano grado cromatográfico con un 99.8% de pureza. Las muestras se almacenaron en frío y fueron transportadas al laboratorio para análisis, el que se realizó por cromatografía de gases acoplada a detector de masa (GC/MS) y la identificación de los componentes químicos volátiles se ha comenzado mediante la determinación del tiempo de retención ( $t_R$ ) y el índice de Kovats. Los resultados obtenidos hasta el momento se encuentran recogidos en la Tabla 2.

**Tabla 2. Compuestos volátiles presentes en *P. Radiata***

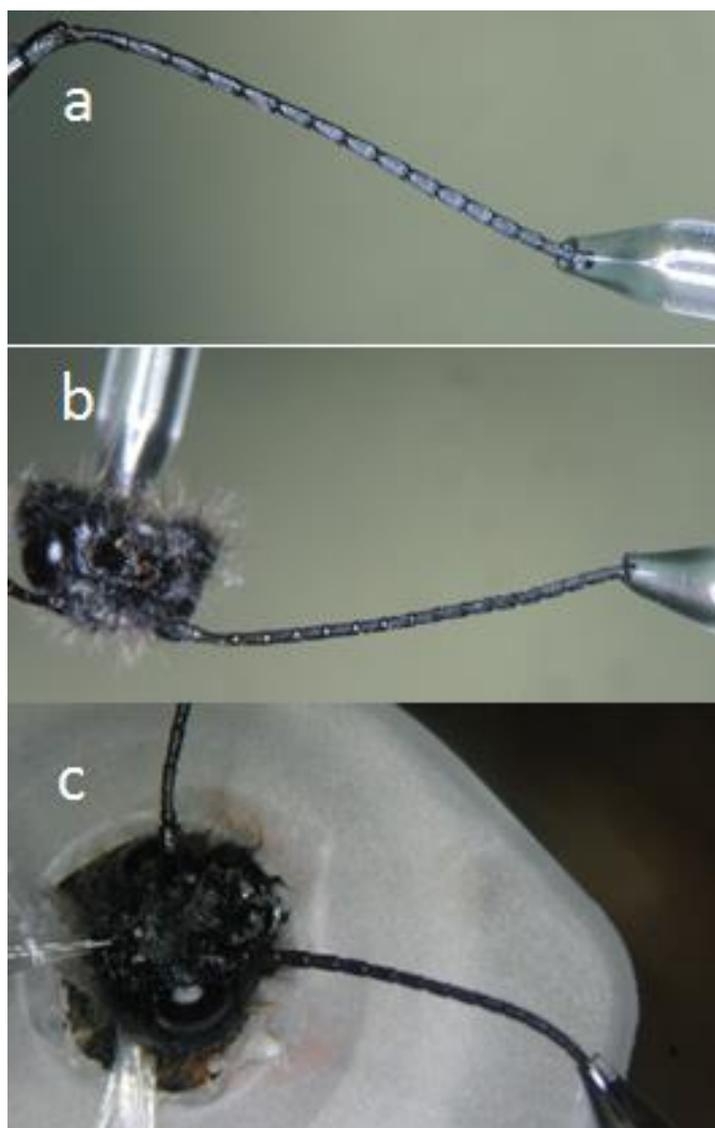
Compuesto	$t_R$	Kovats	Concentración [ppm]		
			Árbol sano	Árbol herbicida	Árbol atacado
$\alpha$ -(-)-pineno	15,208	938,5	5,28	13,09	0,42
canfeno	16,04	958,8	n.d.	0,10	0,04
N.I.	16,671	978,5	n.d.	0,09	n.d.
$\beta$ -(-)-pineno	16,728	980,1	3,98	23,92	0,24
mirceno	17,084	989,8	n.d.	0,75	n.d.
butil propil oxalato	17,518	1001,8	0,8	1,95	1,70
6-etil-2-metil- decano	17,681	1006,4	n.d.	0,13	0,19
$\alpha$ -felandreno	17,783	1009,3	n.d.	0,13	0,25
limoneno	18,677	1034,7	n.d.	0,34	n.d.
N.I.	28,547	1438,4	7,92	1,06	0,03
N.I.	28,652	1442,0	n.d.	1,29	0,20
N.I.	28,848	1448,7	n.d.	0,10	n.d.
2,3,8-trimetil-decano	30,389	1502,3	1,55	1,62	1,74

N.I.: no identificado, n.d.: no detectado,  $t_R$ : tiempo de retención en columna cromatográfica (minutos)

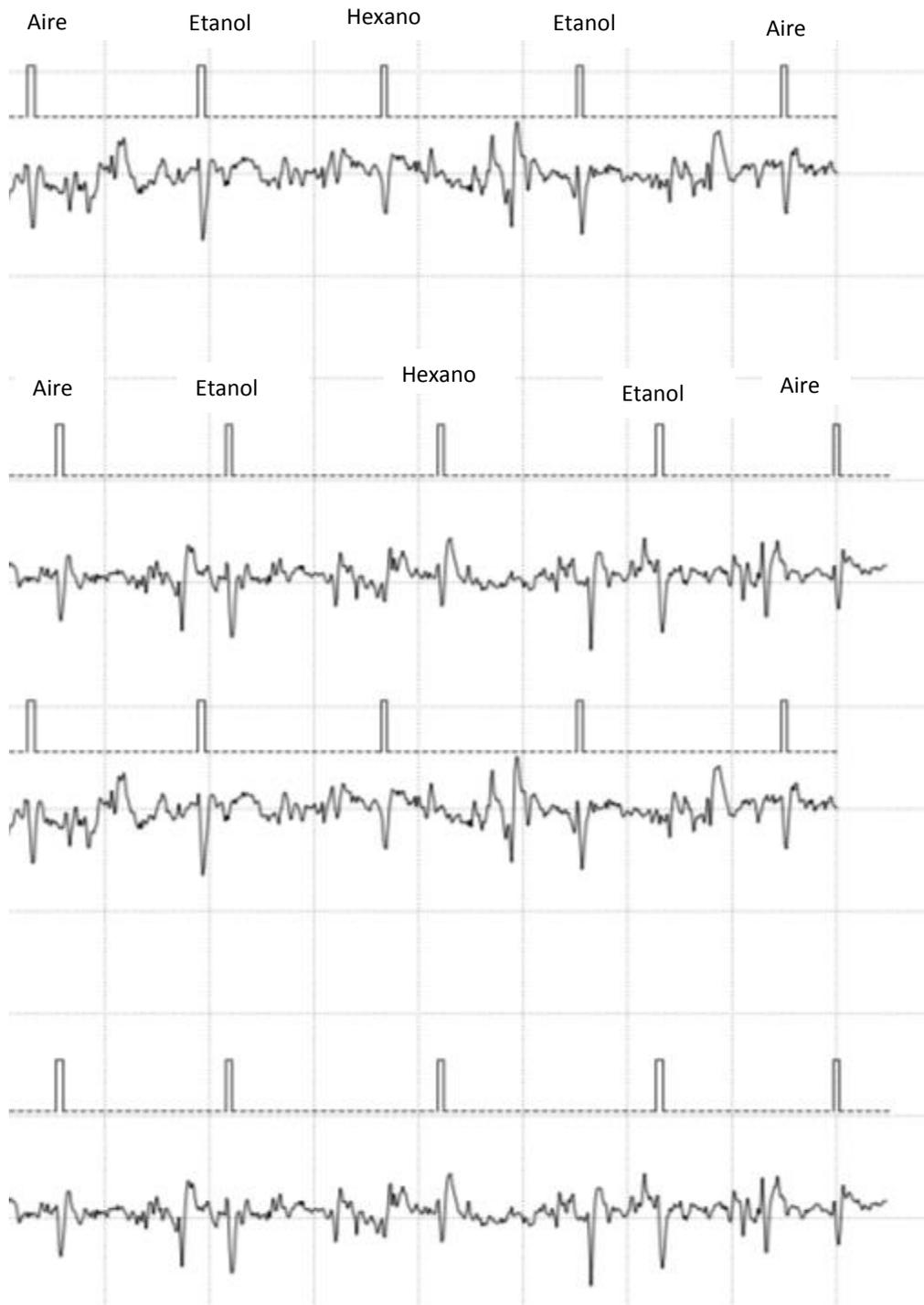
## Análisis electroantenográfico

La respuesta olfativa de *S. noctilio* frente a los compuestos químicos presentes en su hospedero (*P. radiata*), está siendo evaluada mediante el registro de las deflexiones eléctricas generadas en el sistema olfativo de estos insectos.

El experimento se lleva a cabo mediante electrofisiología del sistema olfativo, probando diferentes formas de conectar al insecto. Al iniciar los experimentos se obtuvo señales muy bajas desde antenas de machos y hembras, por lo cual se probó entonces con cabezas enteras o cuerpos enteros, lográndose intensificar la señal al trabajar con cabezas de machos e insectos enteros en las hembras (Figura 8 y 9).



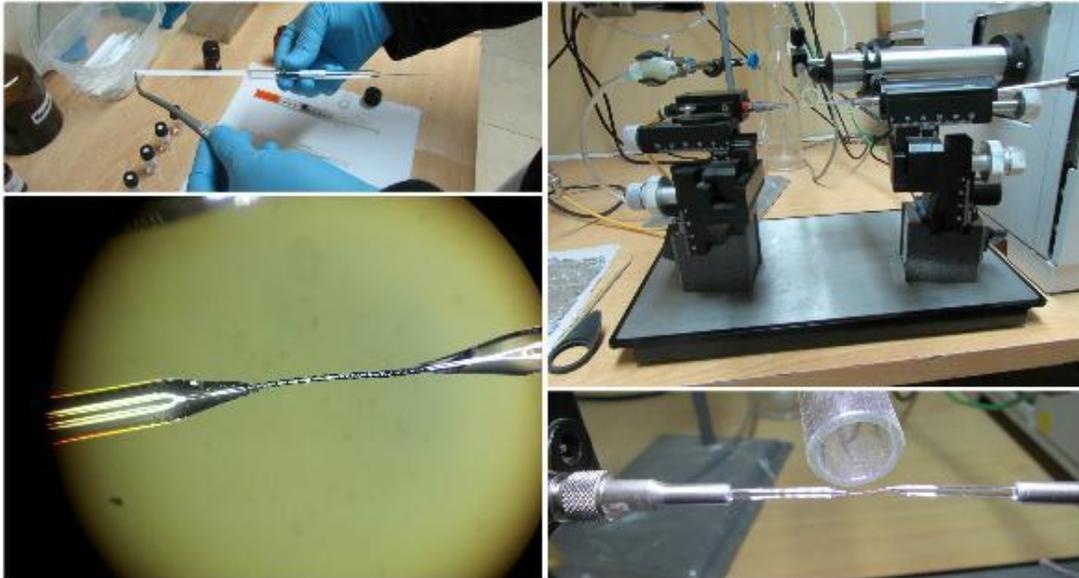
**Figura 8: Distintas formas de conexión probadas con *S. noctilio*: a) antena b) cabeza c) insecto completo inmovilizado.**



**Figura 9: Registro señal con cuerpo inmovilizado de hembra (antena derecha).**

El experimento se llevó a cabo mediante electrofisiología del sistema olfativo (Figura 10), evaluando la respuesta EAG, entendida ésta como la intensidad eléctrica producto de la

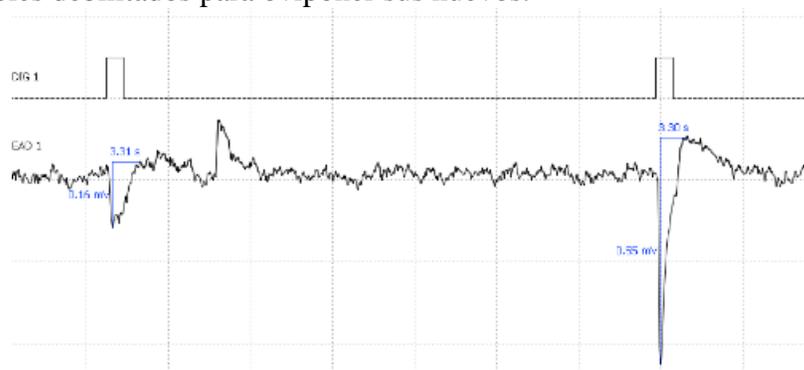
despolarización de las antenas, empleando como estímulos los compuestos volátiles obtenidos de *P. radiata* e insectos.



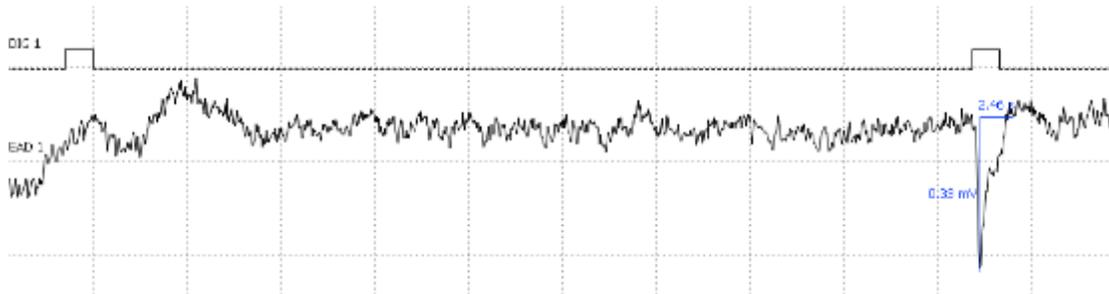
**Figura 10: Bioensayos electro-antenográficos**

Los bioensayos electro-antenográficos mostraron una identificación sensorial por parte de las hembras de *S. noctilio* al extracto de árbol dañado artificialmente con herbicida (Figura 11). La deflexión de antenográfica obtenida con el extracto volátil de árbol dañado con herbicida alcanza un valor de 0,55 mV, significativamente mayor que el obtenido con el control, hexano, 0,16mV. Por otra parte, los machos de *S. noctilio* respondieron con una menor intensidad a este mismo estímulo, 0,33 mV (Figura 12).

Lo anterior demuestra que la hembra detecta de mejor forma los compuestos volátiles extraídos de un árbol cebo, concordando que la hembra es el individuo de la especie que busca los árboles debilitados para oviponer sus huevos.



**Figura 11: Respuesta electro-antenográfica de *S. noctilio* hembra a etanol y extracto de árbol dañado con herbicida.**



**Figura 12: Respuesta electro-antenográfica de *S. noctilio* macho a extracto de árbol dañado con herbicida.**

### Resumen de la Actividad 1. Validación de atrayentes emitidos por el hospedero atacado por *Sirex noctilio*.

Inicio	Inicio Real	Desviación	Término
26/07/2012	26/07/2012	0	25/04/2014
<b>% Realizado</b>	95%		
<b>Observación</b>	<p>La Actividad 1 tuvo un aumento en su duración de 20 meses a 24 meses para poder sincronizar el proyecto al ciclo biológico de la plaga <i>Sirex noctilio</i>.</p> <p>Se validó que existen compuestos volátiles tanto de un árbol sano de <i>Pinus radiata</i> como de un árbol atacado por <i>Sirex noctilio</i> o árbol debilitado con el herbicida picloran (Tordon 24K).</p> <p>Se comprobó que Porapak Q proporciona mejores resultados de capturas de volátiles que Tenax TA 60/80.</p> <p>Se validó que las hembras de <i>Sirex noctilio</i> son atraídas por volátiles de árboles cebos.</p> <p>Se obtuvieron a la fecha 7 compuestos químicos (<math>\alpha</math>-pineno, <math>\beta</math>-pineno, Canfeno, Mirceno, 3-Careno, Limoneno y Felandreno) como posibles atrayentes.</p>		

## **Actividad 2: Validación de atrayentes emitidos por adultos de *Sirex noctilio*.**

Mes inicio: 1 Mes término: 22. Informe del mes 1 al 20.

### **Crianza de *Sirex noctilio* para la obtención de adultos**

La técnica de crianza de *Sirex noctilio* la desarrolló CPF S.A con la experiencia adquirida en el trabajo y evaluación de *Sirex noctilio* en estos últimos 12 años.

La producción de *Sirex noctilio* se realizó en dos insectarios: el Insectario Los Nogales, ubicado en el Predio Los Nogales, en la Comuna de Santa Bárbara y el Insectario Los Maños, ubicado en las oficinas/laboratorio de CPF S.A., en la Comuna de Los Ángeles.

Los insectarios cuentan con 2 salas de crianza que tienen sus paredes y techo confeccionadas con malla metálica desplegada con una abertura de 7 x 4,5 mm. lo que no permite que se escapen los adultos de *Sirex noctilio* (Figura 13).

La producción se inicia en cada periodo antes del vuelo de *Sirex noctilio* introduciendo, antes de octubre, trozas de *Pinus radiata* de 10-25 cm de diámetro y 2 mt. de largo atacadas por *Sirex noctilio* (con presencia de estadíos larvales), los cuales se recolectaron en los altos del Bío Bío. Las trozas antes de ser introducidas al insectario se sellaron con parafina sólida para evitar su rápida deshidratación.

Las trozas se mantienen en condiciones ambientales externas, y se les asperja agua, asemejando el rocío. Diariamente se revisan los insectarios y se colectan los adultos en frascos individuales (Figura 9) los que se mantienen en frío (10°C a 12°C) antes de su despacho a INIA Quilamapu.

En el periodo informado se han producido y destinado a los ensayos realizados en INIA Quilamapu, 4.809 adultos de *Sirex noctilio* (1.847 hembras y 2.962 machos).



**Figura 13. Insectarios de crianza de *Sirex noctilio*.**

### **Compuestos químicos presentes en *Sirex noctilio*.**

La obtención de volátiles emitidos por *S. noctilio* se está realizando por dos técnicas: Head-Space dinámico y extracción por solvente.

La colecta de volátiles por Head-Space se realizó con insectos vivos, machos y hembras por separado, en grupos de 20 individuos. El atrapamiento de los compuestos volátiles se realizó con los insectos en campanas de vidrio estériles (Figura 14) con trampas de Porapak Q y Tenax, por un periodo de 72 hrs., las que posteriormente fueron eluidas con 1 mL de n-Hexano p.a 99.8% de pureza. El análisis de las muestras se realizó por cromatografía de gases acoplada a detector de masa (GC/MS) y la identificación de los componentes químicos volátiles mediante la determinación del tiempo de retención ( $t_R$ ) (Tabla 3).



Figura 14: Colecta de volátiles de insectos vivos

Tabla 3. Identificación de compuestos volátiles presentes en ejemplares machos y hembras de *S. noctilio*

Compuesto	Macho		Hembra	
	t <sub>R</sub> Porapak Q	t <sub>R</sub> Tenax	t <sub>R</sub> Porapak Q	t <sub>R</sub> Tenax
3-Hexanona	8,157	8,134	8,139	8,125
2-Hexanona	8,292	8,269	8,28	8,264
3-Hexanol	8,46	8,433	8,444	8,428
Heptanal	n.d.	n.d.	n.d.	12,043
α-Pinene	n.d.	n.d.	n.d.	13,458
Canfeno	n.d.	n.d.	n.d.	14,037
n-Undecano	n.d.	n.d.	n.d.	15,433
3-Careno	n.d.	n.d.	n.d.	16,082
D-Limoneno	n.d.	n.d.	n.d.	16,678
Nonanal	n.d.	n.d.	n.d.	18,939

n.d.: no detectado, t<sub>R</sub>: tiempo de retención en la columna cromatográfica (minutos)

La extracción por solvente se realizó con insectos machos y hembras por separado, se hicieron macerados en n-Hexano p.a. de insectos enteros, como también extractos de secciones del cuerpo del insecto como abdomen y cabeza-tórax.

En el caso de insectos enteros, se evaluó la cantidad de compuestos que se podían identificar en distintos tiempos. Se preparó el macerado de hembras y machos, y cada hora se tomó una muestra, hasta completar 6 muestras distintas (Tabla 4 y 5).

**Tabla 4: Tiempo de retención en la columna cromatográfica (minutos) de compuestos identificados en extracto en hexano de *S. noctilio* macho**

Compuesto	Tiempo de macerado					
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas
3-Hexanona	8,164	8,138	8,148	8,128	8,125	n.d.
2-Hexanona	8,3	8,281	8,285	8,264	8,261	8,268
3-Hexanol	8,46	8,446	8,445	8,425	8,422	8,432
2-Hexanol	8,593	n.d.	n.d.	8,56	8,557	8,565
4-hydroxy-4-methyl-2-Pentanona	10,012	10,005	10,003	9,978	9,977	9,986
(S)-Isopropil lactato	13,81	13,817	13,815	13,788	13,79	13,792
$\beta$ -Pinoeno	n.d.	15,036	n.d.	15,004	15,004	15,007
(Z)-3-Decen-1-ol	23,638	23,644	23,644	23,616	23,615	23,615
$\alpha$ -Pinoeno	n.d.	13,48	n.d.	n.d.	n.d.	13,453

n.d.: no detectado

**Tabla 5: Tiempo de retención en la columna cromatográfica (minutos) de compuestos identificados en extracto en hexano de *S. noctilio* hembras.**

Compuesto	Tiempo de macerado					
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas
3-Hexanona	8,128	8,133	8,127	8,139	8,135	8,141
3-Hexanol	8,265	8,268	8,264	8,274	8,269	8,276
2-Hexanol	8,429	8,56	8,426	8,433	8,427	8,437
4-hydroxy-4-methyl-2-Pentanona	n.d.	8,561	8,559	8,566	8,56	8,568
(S)-Isopropil lactato	9,981	9,989	9,985	9,992	9,992	9,996
$\beta$ -Pinoeno	n.d.	n.d.	13,792	13,794	13,793	13,799

n.d.: no detectado

El macerado de las distintas partes del cuerpo del insecto también se realizó en hexano (Tabla 6)

**Tabla 6: Tiempos de retención de compuestos identificados en extracto en hexano de *S. noctilio* seccionado**

Compuesto	Macho		Hembra	
	cabeza torax	Abdomen	cabeza torax	abdomen
tetrahydro- 2-Furanmethanol	n.d.	7,769	n.d.	7,776
3-Hexanone	8,134	8,127	8,136	8,136
2-Hexanone	8,275	8,262	8,271	8,271
3-Hexanol	8,424	8,424	n.d.	n.d.
2-Hexanol	n.d.	8,559	8,564	8,565
4-hydroxy-4-methyl- 2-Pentanone	9,987	9,981	9,988	9,989
Ácido (S)-Isopropyl lactate	n.d.	13,793	n.d.	n.d.
cis-10-Heptadecenoico	n.d.	26,19	26,061	26,612
n-Hexatriacontano	n.d.	35,66	35,678	35,723

n.d.: no detectado

### Segundo periodo de vuelo de la plaga, *Sirex noctilio*

Con el fin de obtener compuestos químicos de mayor peso molecular que los colectados con la técnica de Head-Space (Figura 15) y evaluar su rol en el comportamiento de la plaga, se realizaron macerados y extracciones en solvente orgánico de los insectos adultos.



**Figura 15: Captura de volátiles de insectos por medio de Head-Space**

La extracción por solvente se realizó mediante un extractor Soxhlet (Figura 16), se utilizaron tanto machos como de hembras y se realizaron extracciones tanto de insectos enteros como de secciones del cuerpo del insecto (abdomen y cabeza-tórax).

Los macerados de insectos (machos y hembras), al igual que con las extracciones, se realizaron tanto en insectos enteros como en sus secciones. Se evaluó la cantidad de compuestos que se podían identificar en función del tiempo de macerado, por lo que se tomaron muestras cada una hora hasta completar 5 horas.

El análisis de las muestras se realiza por cromatografía de gases acoplada a detector de masa (GC/MS) y la identificación de los componentes químicos volátiles mediante la determinación del tiempo de retención ( $t_R$ ) y el índice de Kovats.



Figura 16: Extracción Soxhlet de insectos enteros

## Análisis electroantenográfico

Una fuerte estimulación antenográfica fue observada con hembras expuestas a un estímulo volátil de hembras de la misma especie, la deflexión alcanzó los 1,21 mV (Figura 17). La respuesta de los machos a este mismo estímulo fue menor, alcanzando 0,33 mV (Figura 18).

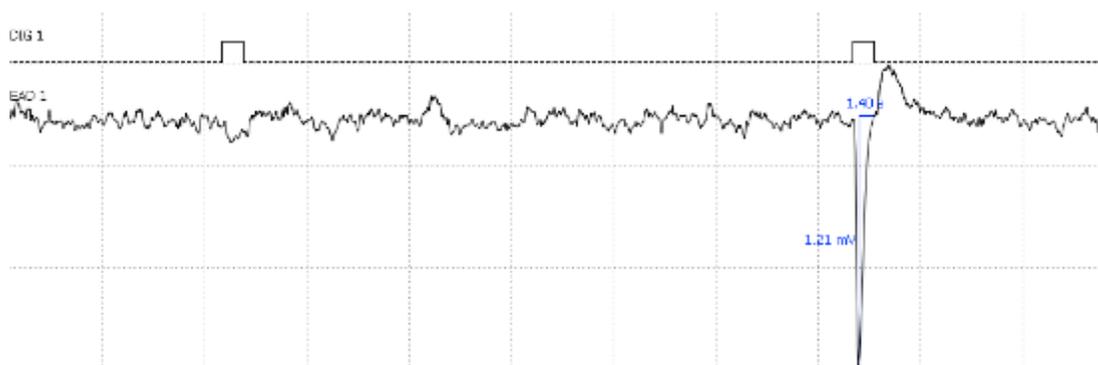
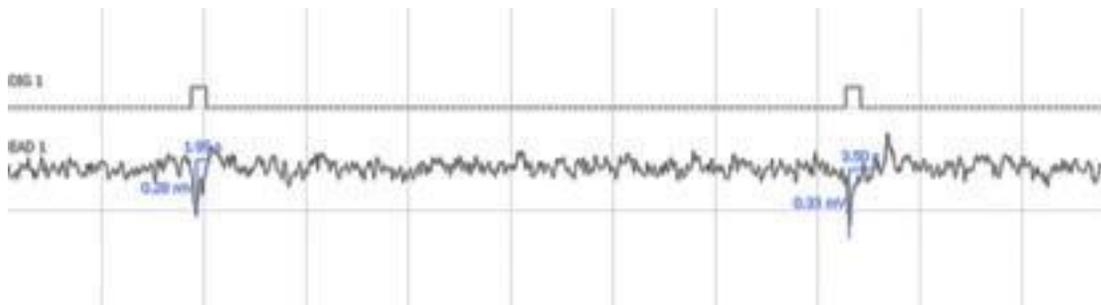


Figura 17: Respuesta electro-antenográfica de *S. noctilio* hembra a extracto de individuo adulto de *S. noctilio* hembra.



**Figura 18: Respuesta electro-antenográfica de *S. noctilio* macho a extracto de abdomen de *S. noctilio* hembra.**

### Compuestos químicos volátiles emitidos por *Amylostereum areolatum*

La extracción de compuestos volátiles emitidos por *Amylostereum areolatum* se realizó mediante la técnica de micro extracción en fase sólida (SPME). Se emplearon placas Petri (60 mm diam.) conteniendo *Amylostereum areolatum* inoculado en agar-papa dextrosa (PDA) como medio de cultivo. Se expuso una fibra de tipo CAR/PDMS de 75  $\mu\text{m}$ , sobre cada placa un periodo de 18 horas (Figura 19). Posteriormente las muestras fueron analizadas mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas. Se lograron separar 29 compuestos diferentes (Tabla 7). Debido a la imposibilidad de utilizar un estándar, se utilizó el porcentaje de áreas de cada compuesto como una forma de comparación.



**Figura 19: Captura de volátiles por SPME**

**Tabla 7: Tiempos de retención de compuestos identificados en placas de *Amylostereum areolatum***

Nombre del Compuesto	t <sub>R</sub>	% área
N.I.	3,02	0,12
N.I.	3,19	8,17
N.I.	3,39	1,75
N.I.	3,47	0,49
N.I.	3,56	1,11
Hexano	3,64	7,97
1-Nitropropane	4,12	4,74
N.I.	4,35	0,65
Acetic acid	4,49	6,8
Dimethylnitromethane	5,76	0,33
Dihydroxydimethylsilane	6,05	35,27
Fluoroacetylene	6,28	0,11
N.I.	6,68	5,78
sec-Butylcarbinol	6,79	4,01
Formamide	8,48	1,84
2,3-Butanediol	8,74	5,8
N.I.	9,27	1,86
N.I.	11,85	4,16
2-Nitrotterephthalamide	13,61	0,83
N.I.	15,07	1,28
Methyl 4-5,5-dimethyl-2-4,5-dihydro-3-furancarboxylate	15,13	1,3
N.I.	15,69	0,9
N.I.	16,46	1,36
2,5-Dimethyl-1-(4-chlorophenyl)pyrrole 1H-Pyrrole	17,57	0,38
3-nitro-Naphtho[2,1-E]tetrazolo[1,5-b][1,2,4]-triazine	18,80	0,25
N.I.	20,26	0,39
N.I.	24,08	1,35
N.I.	31,09	0,72
N.I.	35,05	0,28

N.I.: no identificado, t<sub>R</sub>: tiempo de retención en columna cromatográfica (minutos)

## Bioensayos olfativos

La respuesta de *Sirex noctilio* hacia los compuestos químicos presentes en *P. radiata*, está siendo evaluada por medio de bioensayos olfativos, los que consisten en la observación de la conducta de un insecto al interior de una arena de prueba, también llamado Olfatómetro. La realización de estos ensayos está sujeta a la disponibilidad de una cantidad suficiente de insectos sanos.

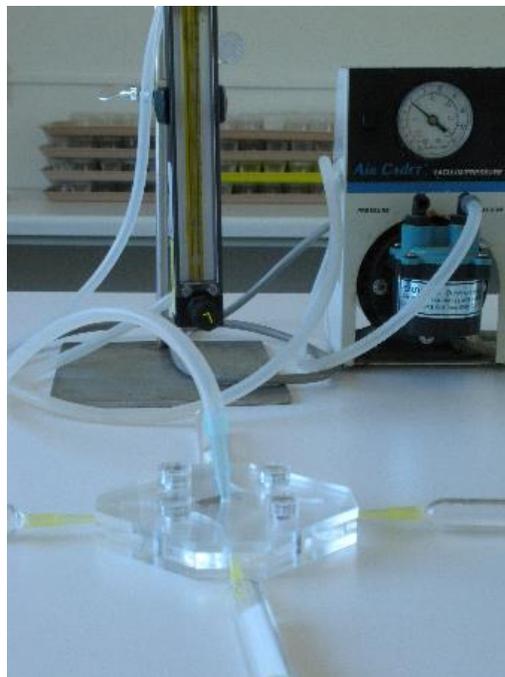
Se comenzaron los ensayos olfativos evaluando el comportamiento de un individuo en un olfatómetro tipo “Y” (Figura 20). Sin embargo, debido a la dificultad experimentada por los

insectos en su desplazamiento (falta de tracción) se optó por continuar los estudios en un olfatómetro de Petterson (Figura 21).



**Figura 20: Insecto en olfatómetro tubo Y**

Los bioensayos se realizan con luz día, realizando 10 repeticiones por concentración para cada sexo por separado para cada compuesto a estudiar, empleando hexano como control. 100  $\mu$ l de cada estímulo son aplicados sobre trozos de papel filtro (1 cm de ancho x 7 cm de largo, Whatman N° 2), luego de un minuto, éstos son ubicados al interior de los brazos del olfatómetro en forma alternada en cada uno de los 4 brazos, y por medio de una bomba de vacío conectada a la arena de prueba, se arrastraron los estímulos hacia el centro de la arena de prueba con un flujo de 200 mL  $\text{min}^{-1}$ .



**Figura 21: Olfatómetro de Petterson (Petterson, 1971)**

Los bioensayos se realizan con luz día, con 10 repeticiones por concentración para cada Fortalecimiento del sector forestal mediante el diseño e implementación de un sistema de vigilancia temprana para el manejo integrado de plagas *Sirex noctilio*, basado en el uso de semioquímicos. Proyecto 12BPC2-13355.

sexo por separado y para cada compuesto a estudiar, empleando hexano como control. 100 µl de cada estímulo son aplicados sobre trozos de papel filtro (1 cm de ancho x 7 cm de largo, Whatman N° 2), luego de un minuto, éstos son ubicados al interior de los brazos del olfatómetro en forma alternada en cada uno de los 4 brazos, y por medio de una bomba de vacío conectada a la arena de prueba, se arrastraron los estímulos hacia el centro de la arena de prueba con un flujo de 200 mL min<sup>-1</sup>.

Después de una serie de pruebas se evaluó el tiempo de respuesta conductual de *S. noctilio* en 10 minutos. Los ensayos con los compuestos químicos presentes en los extractos de insecto y volátiles de pino se realizarán después de terminar los ensayos con los estándares comerciales.

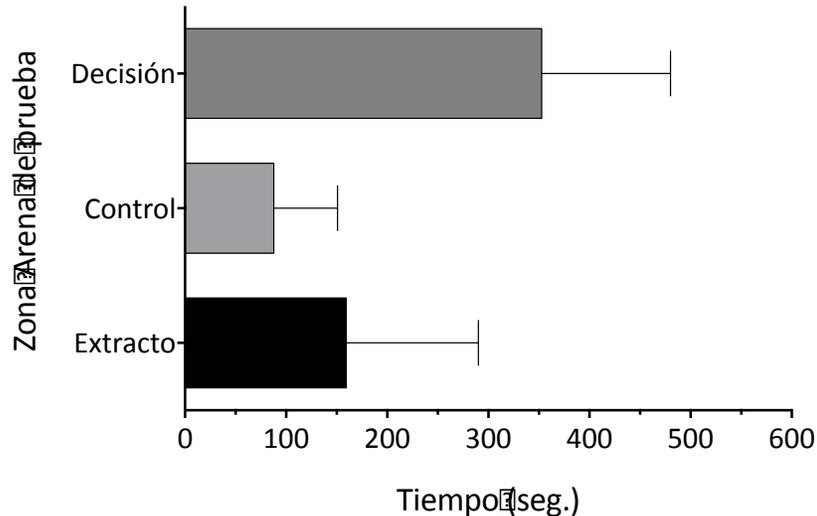
Los insectos estudiados fueron colectados desde los Insectarios de crianza ubicadas en la Controladora de Plagas Forestales S.A. en la ciudad de Los Ángeles, Región de Biobío. Los bioensayos se realizaron entre las 10 hrs y las 17 hrs. del día siguiente a la recepción de los insectos en el laboratorio. Los insectos fueron transportados y mantenidos separados por sexo, y sólo se emplearon aquellos individuos que se mostraron activos en la etapa previa al bioensayo. Los individuos fueron empleados solamente una vez y se realizaron 5 repeticiones. El bioensayo consistió en la observación del comportamiento y registro del tiempo gastado por los individuos en las diferentes zonas de la arena de prueba (Figura 22).

Los bioensayos fueron conducidos empleando como estímulos olfativos extractos de árboles y de individuos adultos de *S. noctilio*, tanto machos como hembras y secciones de estos. Los extractos evaluados correspondieron a extracto de machos enteros, extracto de hembras enteras, extracto de abdomen de macho, extracto de abdomen de hembras, extracto de cabeza/tórax de machos y extracto de cabeza/tórax de hembras. Un tratamiento consistente de hexano al 96% fue empleado como control.



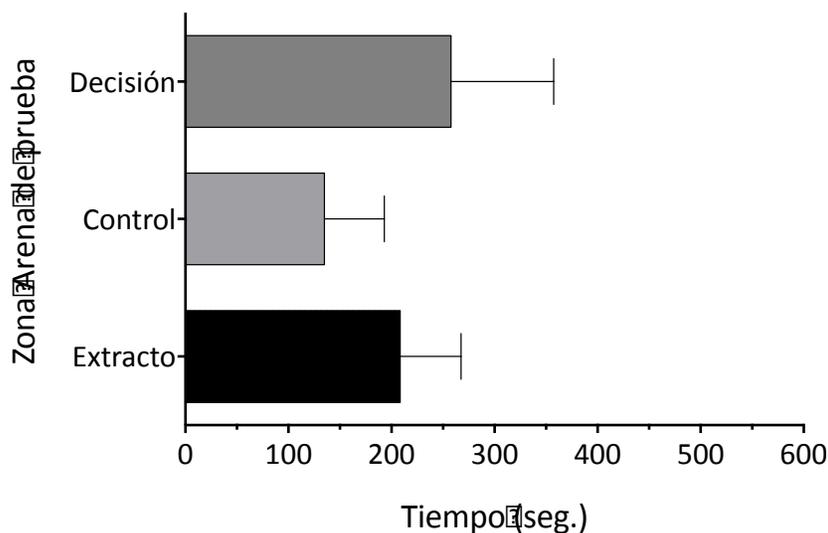
**Figura 22: Bioensayos con individuos adultos de *S. noctilio***

Las hembras de *S. noctilio* no fueron atraídas al extracto de machos enteros, y solamente destinaron un 27% tiempo de experimentación a este estímulo, el control tampoco resultó ser atrayente para las hembras (Figura 23).



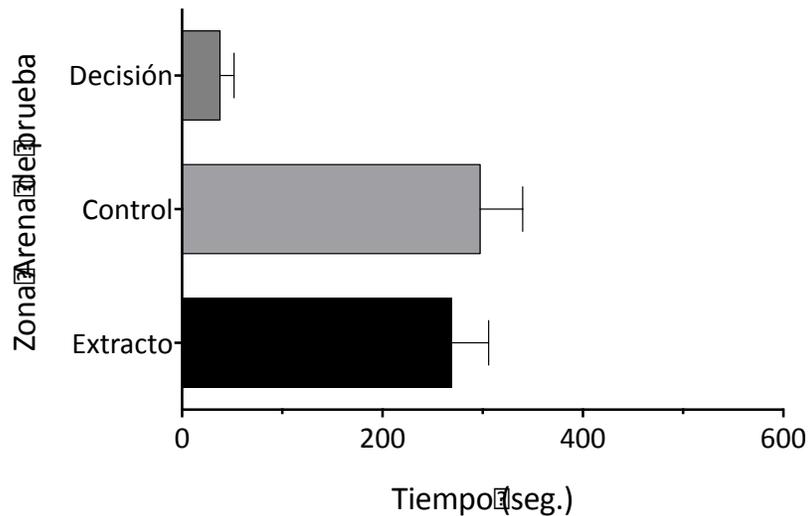
**Figura 23: Respuesta olfativa de hembras adultas de *S. noctilio* frente a extracto de machos enteros de *S. noctilio***

La respuesta de las hembras frente al extracto de hembras enteras muestra un comportamiento similar al observado con el extracto de machos, sin embargo los tiempos destinados a las zonas control y de estímulo son mayores que las anteriores (Figura 24).



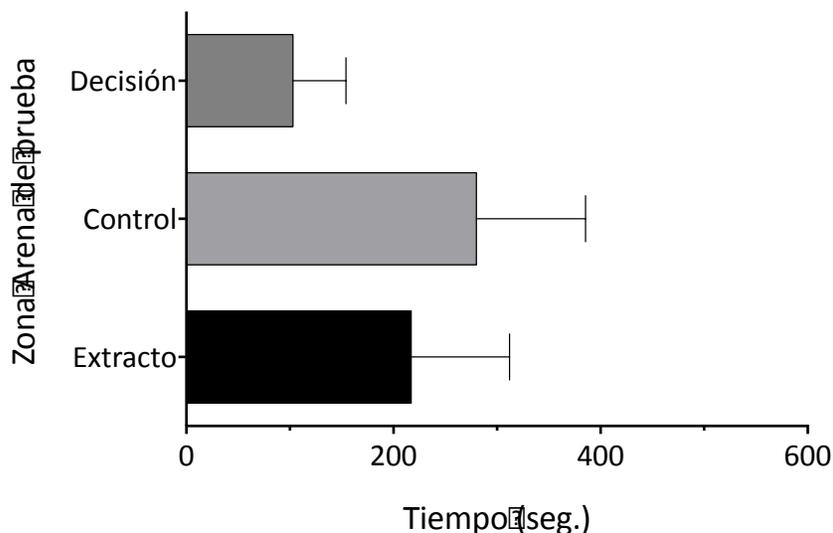
**Figura 24: Respuesta olfativa de hembras adultas de *S. noctilio* frente a extracto de hembras enteras de *S. noctilio***

Frente al extracto de abdómenes de machos, las hembras respondieron similar al tratamiento control. Los tiempos destinados a estos estímulos fueron superiores a los observados con los extractos anteriores, 43% en la zona del extracto y 50% para el control, respectivamente (Figura 25).



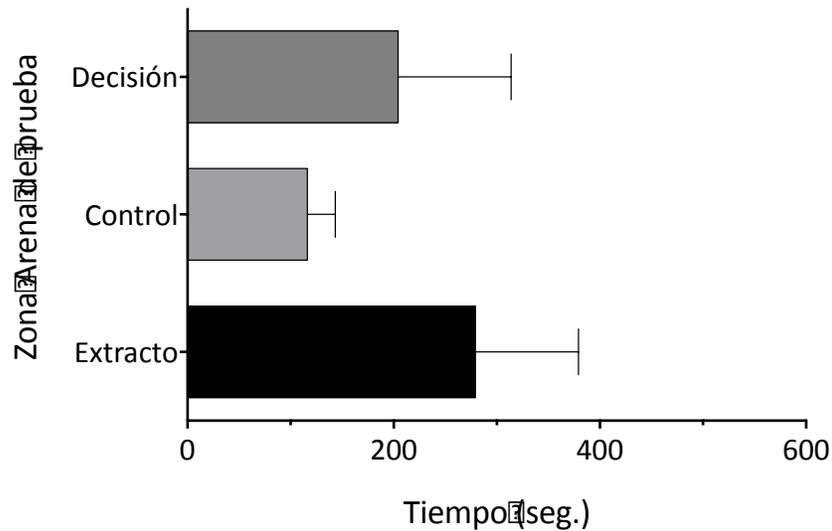
**Figura 25: Respuesta olfativa de hembras adultas de *S. noctilio* frente a extracto de abdómenes de machos de *S. noctilio***

Las hembras de *S. noctilio* frente al extracto de abdómenes de hembras mostraron un comportamiento similar al extracto de abdómenes de machos. Sin embargo los tiempos empleados en cada zona de la arena de prueba fueron levemente menores (Figura 26).



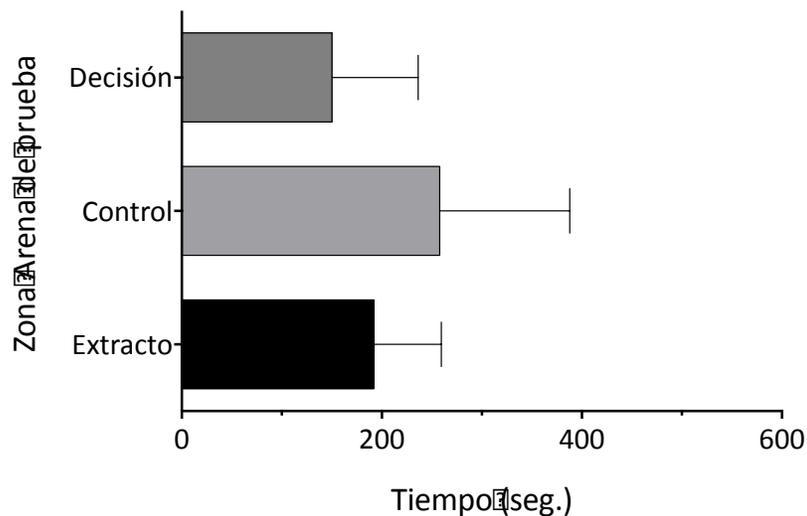
**Figura 26: Respuesta olfativa de hembras adultas de *S. noctilio* frente a extracto de abdómenes de hembras de *S. noctilio***

Cuando el estímulo ensayado fue extracto de cabeza/tórax de machos las hembras de *S. noctilio* muestran una atracción a este estímulo. Los tiempos gastados en la arena de prueba fueron 20% para el control y 47% para el extracto (Figura 27).



**Figura 27: Respuesta olfativa de hembras adultas de *S. noctilio* frente a extracto de cabeza/tórax de machos de *S. noctilio***

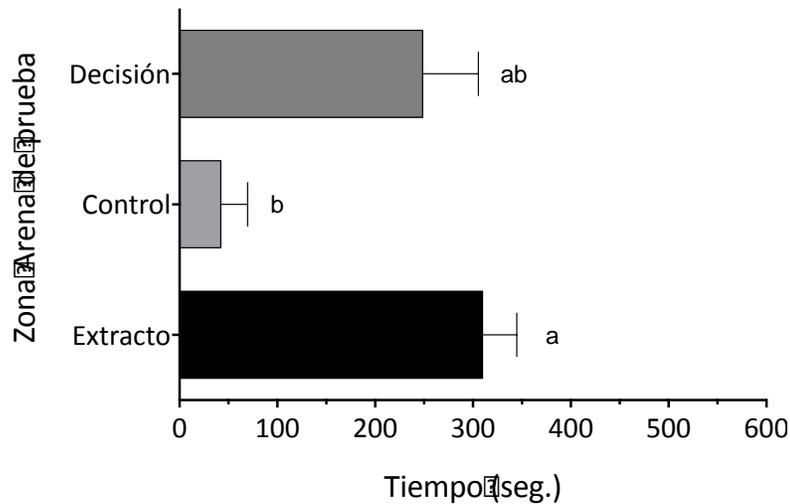
La respuesta de las hembras de *S. noctilio* frente al extracto de cabeza/abdomen de hembras fue menor que la observada con el extracto de cabeza/abdomen de machos. Las hembras destinaron un 43% a la zona del control y 32% al extracto, respectivamente (Figura 28).



**Figura 28: Respuesta olfativa de hembras adultas de *S. noctilio* frente a extracto de cabeza/tórax de hembras de *S. noctilio***

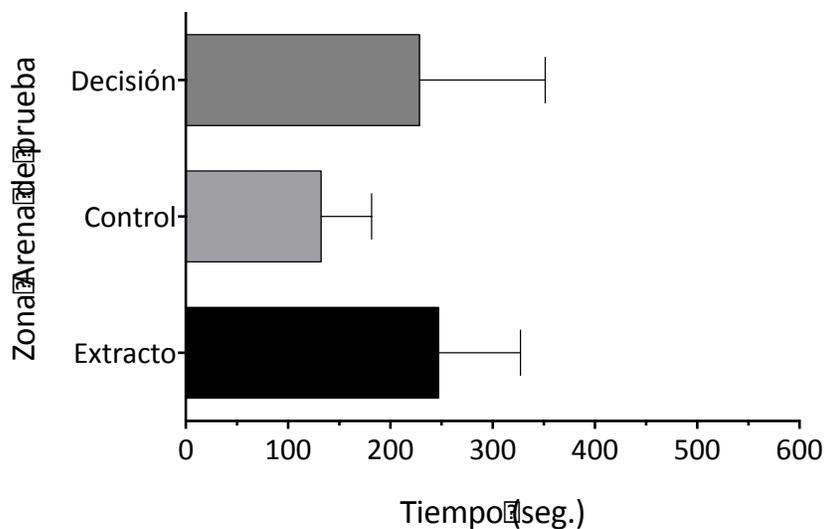
### Respuesta de Machos

Se observó atracción de los machos de *S. noctilio* en el bioensayo olfativo con el extracto de machos enteros de la misma especie. Los machos de *S. noctilio* frente al extracto de machos enteros destinaron 51% y 41% del tiempo del experimento a la zona del extracto y control, respectivamente (Figura 29).



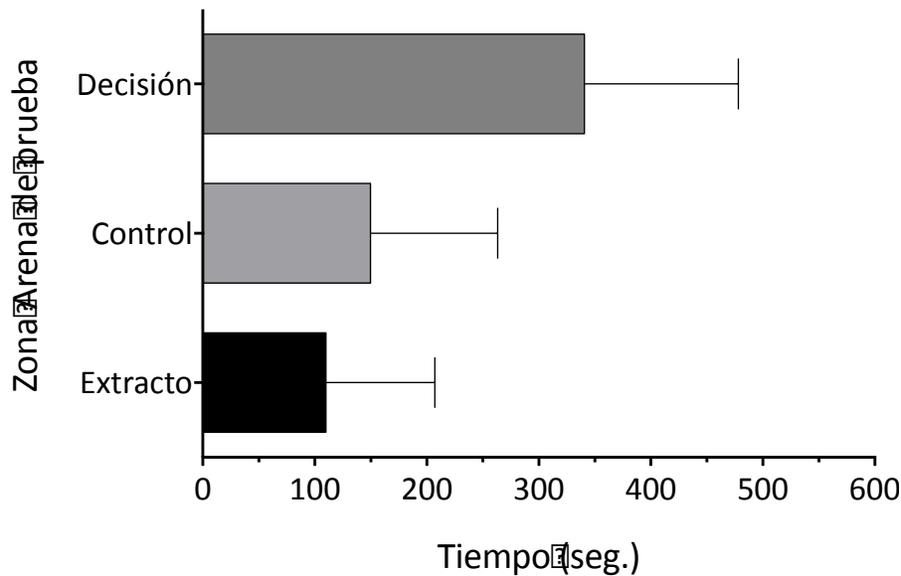
**Figura 29: Respuesta olfativa de machos adultos de *S. noctilio* frente a extracto de machos enteros de *S. noctilio***

Frente al extracto de hembras enteras, los machos de *S. noctilio*, mostraron un comportamiento similar al observado con el extracto anterior, sin embargo, los tiempos destinados para los estímulos fueron menores, 41% para el extracto y 21% para el control (Figura 30).



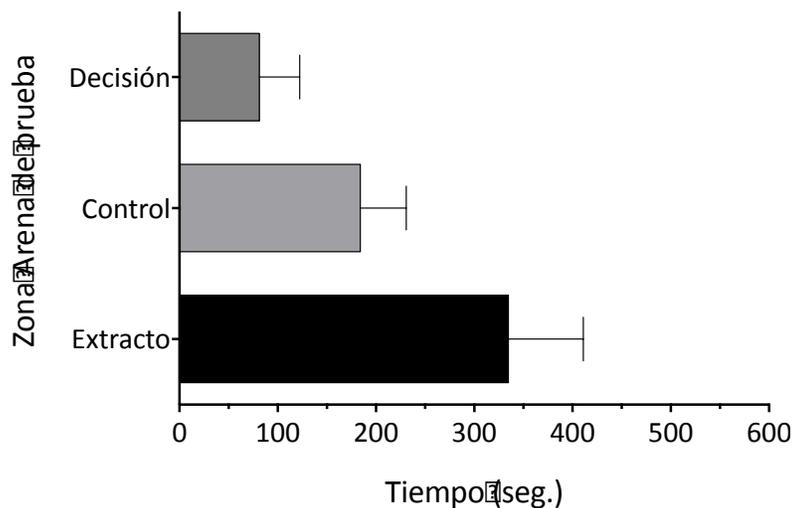
**Figura 30: Respuesta olfativa de machos adultos de *S. noctilio* frente a extracto de hembras enteras de *S. noctilio***

Una menor atracción de los machos *S. noctilio* se observó con el extracto de abdómenes de machos de la misma especie. Los tiempos destinados a visitar las zonas del extracto y control en la arena de prueba fueron 18% y 25%, respectivamente (Figura 31).



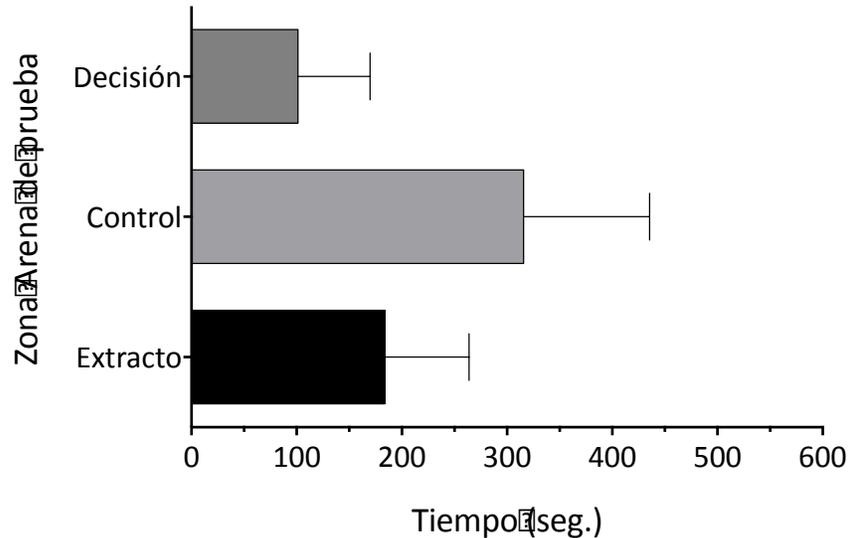
**Figura 31: Respuesta olfativa de machos adultos de *S. noctilio* frente a extracto de abdómenes de machos enteros de *S. noctilio***

Se observó atracción de los machos de *S. noctilio* en el bioensayo olfativo con el extracto de abdómenes de hembras de la misma especie, destinando un 57% del tiempo a visitar la zona de la arena de prueba con este estímulo (Figura 32).



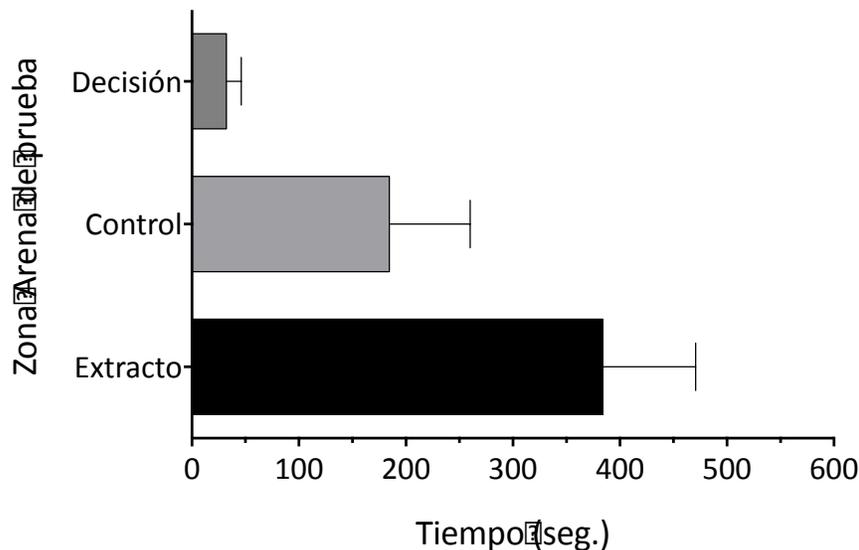
**Figura 32: Respuesta olfativa de machos adultos de *S. noctilio* frente a extracto de abdómenes de hembras enteras de *S. noctilio***

Al ensayar el extracto de cabeza/tórax de machos de *S. noctilio*, éstos mostraron una preferencia por el control destinando un 54% del tiempo del ensayo a visitar esta zona de la arena de prueba (Figura 33).



**Figura 33: Respuesta olfativa de machos adultos de *S. noctilio* frente a extracto de cabeza/tórax de machos de *S. noctilio***

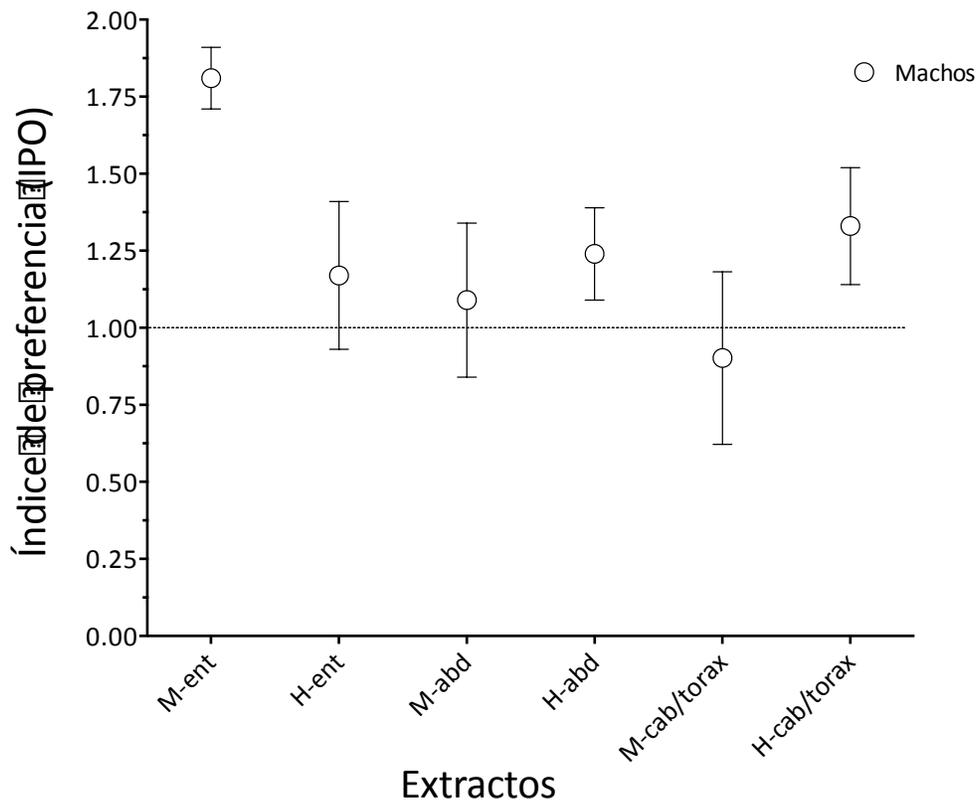
Al evaluar el extracto de cabeza/tórax de hembras de *S. noctilio*, los machos de esta especie fueron atraídos a este estímulo, destinando un 63% del tiempo del ensayo a visitar esta zona de la arena de prueba (Figura 34).



**Figura 34: Respuesta olfativa de machos adultos de *S. noctilio* frente a extracto de cabeza/tórax de hembras de *S. noctilio***

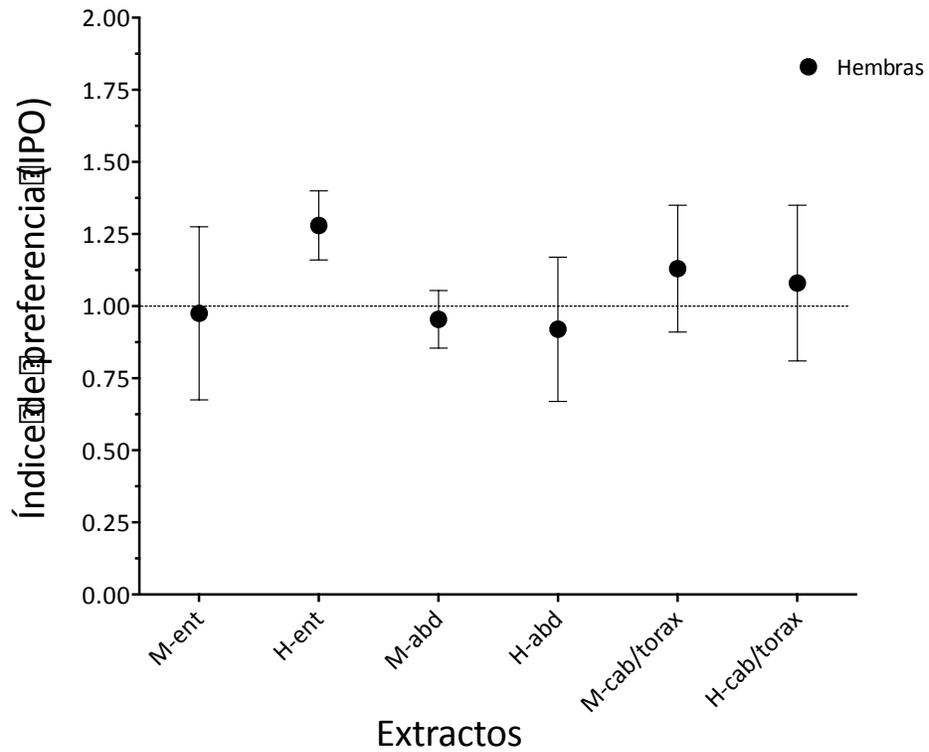
## Índice de preferencia olfativa

El índice de preferencia olfativa de los machos de *S. noctilio* obtenidos con los diferentes extractos evaluados, muestra que en general estos estímulos fueron atractivos. Los extractos con mayor poder de atracción de machos adultos *S. noctilio* fueron extracto de machos de *S. noctilio* enteros y extracto de cabeza/tórax de hembras (Figura 35).



**Figura 35: Índice de preferencia olfativa de machos adultos de *S. noctilio* frente a diferentes extractos de individuos adultos de *S. noctilio*.**

Por su parte las hembras, solamente mostraron atracción para los extractos de hembras enteras, cabeza/tórax de macho y cabeza tórax de hembra (Figura 36).



**Figura 36: Índice de preferencia olfativa de machos adultos de *S. noctilio* frente a diferentes extractos de individuos adultos de *S. noctilio*.**

## Resumen de la Actividad 2. Validación de atrayentes emitidos por adultos de *Sirex noctilio*.

Inicio	Inicio Real	Desviación	Término
26/07/2012	26/07/2012	0	25/04/2014
<b>% Realizado</b>	95%		
<b>Observación</b>	<p>La Actividad 2 tuvo un aumento en su duración de 20 meses a 24 meses para poder sincronizar el proyecto al ciclo biológico de la plaga <i>Sirex noctilio</i>.</p> <p>Se validó que existen compuestos volátiles tanto en adultos hembras como machos de <i>S. noctilio</i>.</p> <p>Se validó que los machos de <i>S. noctilio</i> son atraídos por extracto de machos enteros, cabeza/tórax de hembras y abdomen de hembras.</p> <p>Se validó que las hembras de <i>S. noctilio</i> son atraídas solo por extracto de cabeza/tórax de macho.</p> <p>Se obtuvieron a la fecha 5 compuestos químicos, similares a los obtenidos en la Actividad 1 (<math>\alpha</math>-pineno, <math>\beta</math>-pineno, Canfeno, 3-Careno y Limoneno), como posibles atrayentes.</p>		

### Indicador Actividad 1 y Actividad 2

Indicador	Formula	Meta propuesta	Plazo meses	Meta Alcanzada	Análisis desviación
Validación positiva de atrayente(s) para <i>S. noctilio</i> .	(Número de atrayentes/2)* 100	50%	22	A la fecha se han detectado 7 posibles compuestos atrayentes, los que se terminaran de evaluar al mes 22	

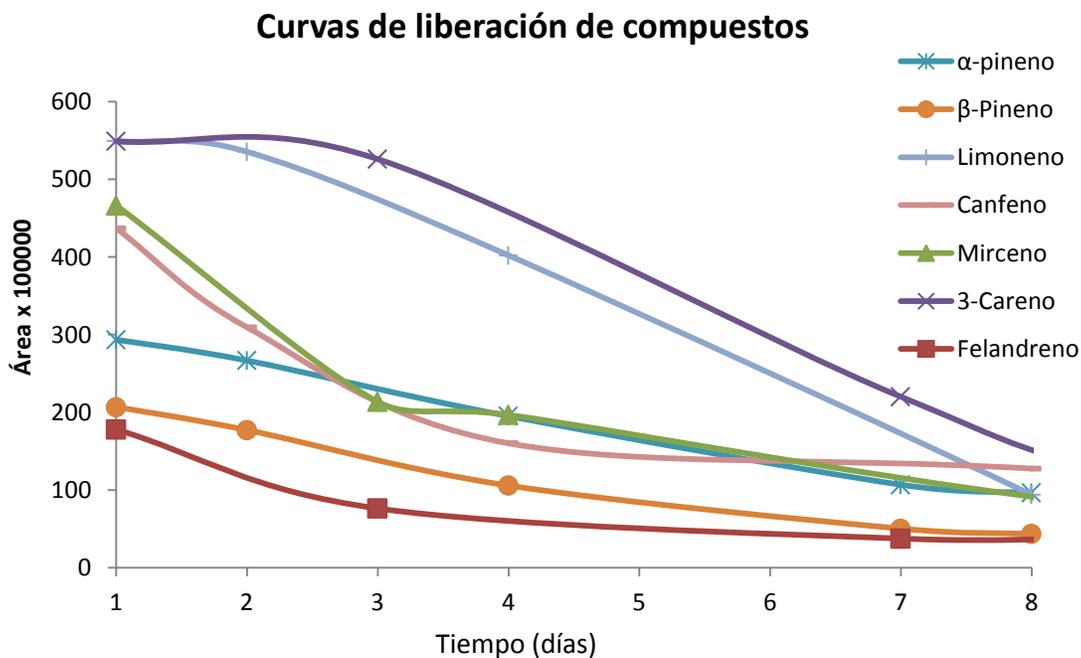
### Actividad 3. Validación del diseño de la trampa.

Mes de inicio: 16 Mes de término: 22. Informe del mes 16 al 18.

#### Curvas de liberación de compuestos

Con el fin de evaluar la eficiencia de las septas como dispositivos de liberación es necesario conocer la cinética de emisión de los compuestos de interés, para lo cual se deben estimar sus tasas de liberación. Se utilizó la técnica de micro extracción en fase sólida (SPME) con una fibra de tipo CAR/PDMS de 75  $\mu\text{m}$ , para capturar las moléculas volátiles. Se utilizaron septas de silicona impregnadas con los diferentes estándares comerciales, las que fueron mantenidas a una temperatura constante de 30°C, por un periodo de entre 8 y 14 días. Se relacionó la cantidad de estándar liberado por unidad de tiempo utilizando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, con la finalidad de determinar y comparar las tasas de liberación de los diferentes compuestos estudiados (Figura 37).

Con los datos obtenidos se estableció que el periodo de recambio óptimo de septas es de 7 días.



**Figura 37: Curvas de liberación de los diferentes estándares**

## Ensayo en terreno

Se evaluaron en campo los estándares comerciales de los compuestos químicos identificados en los arboles debilitados con herbicida, para lo cual se seleccionaron 2 predios forestales en la comuna de Santa Bárbara, Región del Bío Bío: “San Joaquín”, N:5820547 E:257093 WGS 84/H19, y “La Suerte”, N:5821634 E:255282 WGS 84/H19.

Este ensayo de campo fue realizado utilizando trampas del tipo embudo de 8 conos, los compuestos evaluados y sus concentraciones se presentan en la Tabla 8. Los compuestos ensayados fueron impregnados en septas de silicona de 8 mm (sleeve stopper, Sigma Aldrich) 24h antes de ser utilizadas en terreno, cada septo fue impregnado con 500 microlitros de cada compuesto (Figura 38).

**Tabla 8: Compuestos químicos utilizados en trampas desplegadas en terreno.**

	Compuesto	Cantidad de trampas		Concentración en [ppm]
		San Joaquín	La suerte	
1	$\alpha$ -pineno	4	4	10000
2	$\beta$ -pineno	4	4	10000
3	Canfeno	4	4	10000
4	Mirceno	4	4	10000
5	3-Careno	4	4	10000
6	Limoneno	4	4	10000
7	Felandreno	4	4	10000
8	Acetona (control)	2	2	10000



**Figura 38: Preparación de septas**

Los ensayos se establecieron el 12 de diciembre de 2013 y continúan en evaluación las capturas. Se emplearon 30 trampas en cada predio, las que fueron colocadas a diferentes alturas: en el predio “La Suerte” se instalaron entre 1,5 y 2 metros, mientras en “San Joaquín”, entre 4,5 y 4 metros de altura. Las trampas fueron dispuestas en hileras, con una distancia de 10 metros entre ellas y los compuestos fueron distribuidos en forma alternada en las trampas (Figura 39 y 40).

Hasta el momento sólo se han capturado insectos en el predio “La Suerte”, el cual tiene situadas las trampas entre 1,5 a 2 metros de altura.

Las trampas han colectado principalmente insectos del genero coleóptera, y las capturas de *Sirex noctilio* han sido bajas, lográndose la colecta de 9 individuos. De éstos 8 son hembras y solamente se ha colectado un macho.

San Joaquín				La Suerte			
4d	3c	2b	1a	4d	3c	2b	1a
5d	4c	3b	2a	5d	4c	3b	2a
6d	5c	4b	3a	6d	5c	4b	3a
7d	6c	5b	4a	7d	6c	5b	4a
8d	7c	6b	5a	8d	7c	6b	5a
1d	-	7b	6a	1d	-	7b	6a
2d	1c	8b	7a	2d	1c	8b	7a
3d	2c	1b	-	3d	2c	1b	-

**Figura 39: Ubicación de las trampas en terreno**



**Figura 40: Septas y trampas empleadas en terreno**

### Resumen de la Actividad 3. Validación del diseño de la trampa.

Inicio	Inicio Real	Desviación	Término
25/10/2013	25/10/2013	0	25/04/2014
<b>% Realizado</b>	75%		
<b>Observación</b>	<p>La Actividad 3 tuvo un aumento su duración de 2 meses para poder sincronizar el proyecto al ciclo biológico de la plaga <i>Sirex noctilio</i>.</p> <p>Determinación de la curva de liberación de los 7 compuestos a evaluar en terreno como atrayentes, definiendo un recambio óptimo de estos cada 7 días.</p> <p>Los resultados parciales, indican que las trampas de embudo de 8 conos deben ser ubicadas entre 1,5 a 2 metros de altura.</p> <p>Actualmente se está validando en terreno los 7 posibles compuestos atrayentes (<math>\alpha</math>-pineno, <math>\beta</math>-pineno, Canfeno, Mirceno, 3-Careno, Limoneno y Felandreno) en trampas de embudo de 8 conos.</p>		

### Indicador Actividad 3

Indicador	Formula	Meta propuesta	Plazo meses	Meta Alcanzada	Análisis desviación
Validación positiva de la trampa para captura de <i>S. noctilio</i>	0 = no captura 1 = captura	1	22	Actualmente están instalados los ensayos, y en evaluación, tanto para validar la forma de instalación de la trampa como los atrayentes.	

## **LOGROS MÁS RELEVANTES ALCANZADOS A LA FECHA**

Durante el periodo transcurrido entre julio 2012 a febrero 2014 (20 meses), el proyecto amplió su plazo de ejecución de 32 meses a 34 meses, para sincronizar las actividades con el ciclo biológico de la plaga *Sirex noctilio*, lo que implicó que la Etapa 1 se ampliara de 20 meses a 24 meses, por lo que los resultados presentados son parciales y no de la etapa completa.

Los logros más importantes alcanzados a la fecha son los siguientes:

- Criar *Sirex noctilio* en laboratorio obteniendo 4.809 adultos de *Sirex noctilio* (1.847 hembras y 2.962 machos) que se han utilizado en los ensayos de laboratorio.
- Captura e identificación de volátiles tanto de un árbol sano de *Pinus radiata* como de un árbol atacado por *Sirex noctilio* o árbol debilitado con el herbicida picloran (Tordon 24K).
- Captura e identificación de volátiles de adultos hembras y machos de *Sirex noctilio*, enteros, cabeza/torax o abdomen.
- Captura e identificación de volátiles del hongo simbiote de *Sirex noctilio*, *Amylostereum areolatum* (actividad adicional).
- Determinar por análisis electroantagráfico y bioensayos olfativos que:
  - Los machos de *Sirex noctilio* son atraídos por extracto de machos enteros, cabeza/tórax de hembras y abdomen de hembras.
  - Las hembras son atraídas por volátiles de árboles cebos y por extracto de cabeza/tórax de macho.
- Obtención de 7 compuestos químicos ( $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, Canfeno, Mirceno, 3-Careno, Limoneno y Felandreno) que se están validando en terreno como compuesto atrayente en una trampa de embudo de 8 conos.
- Determinación de la curva de liberación de los 7 compuestos químicos a evaluar en terreno como atrayentes, definiendo un recambio óptimo de estos cada 7 días.

## RESUMEN DE DESEMBOLSOS REALES DEL PROYECTO

Respecto al desembolso real del proyecto, éste ha sido menor al programado en el periodo rendido, utilizándose solo el 88,3% de los recursos destinados para los 20 meses del proyecto.

### TOTAL PROYECTO

ÍTEM	A - PERÍODO SELECCIONADO			C - TOTAL PROYECTO		
	Presupuestado	Rendido	(Desviación)	Presupuestado	Rendido	(Desviación)
1 - RECURSOS HUMANOS	\$ 60.559.611	\$ 58.702.136	\$ 1.857.475	\$ 93.343.162	\$ 58.702.136	\$ 34.641.026
5 - GASTOS DE OPERACIÓN	\$ 77.526.516	\$ 62.351.262	\$ 15.175.254	\$ 105.963.169	\$ 62.351.262	\$ 43.611.907
7 - GASTOS DE ADMINISTRACIÓN	\$ 9.255.040	\$ 9.085.882	\$ 169.158	\$ 15.032.605	\$ 9.085.882	\$ 5.946.723
<b>Grand Total</b>	<b>\$ 147.341.167</b>	<b>\$ 130.139.280</b>	<b>\$ 17.201.887</b>	<b>\$ 214.338.936</b>	<b>\$ 130.139.280</b>	<b>\$ 84.199.656</b>

Las desviaciones se deben principalmente debido a:

#### 1. Recursos Humanos:

- Menor aporte de CPF S.A. por menor cantidad de horas utilizadas para el proyecto a la fecha del informe.
- Menor uso de horas de técnicos a la fecha del informe.

#### 5. Gatos de Operación:

- Menor gasto en labores de terreno debido a que los predios donde se han desarrollado los ensayos se ubicaron a una menor distancia de lo presupuestado.
- Menor gasto en laboratorio por una identificación menos compleja de los volátiles identificados respecto a lo programado.

#### 7. Gastos Administrativos:

- Menor gasto el cual se compensaría en el desarrollo del proyecto.

## **ANEXO N° 1: Certificados de aporte del Beneficiario y Coejecutor**