

**Evaluación de la eficacia de un virus  
de la granulosis (CpGV) para su  
incorporación en las estrategias de  
control de *Cydia pomonella* (L) en  
montes comerciales de pera, manzana  
y nogal en Argentina**

*Tesis de Maestría*

**Ing. Agr. Graciela Quintana**



**CIPEIN- CITEFA  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN**

**“Evaluación de la eficacia del virus de la granulosis  
(CpGV) para su incorporación en las estrategias de  
control de *Cydia pomonella* (L) en montes  
comerciales de pera, manzana y nogal en Argentina”**

***Tesis***  
***Magíster Scientae en Control de Plagas y su Impacto***  
***Ambiental***  
***Universidad Nacional de Gral. San Martín***

**Por**  
**Ing. Agr. Graciela Quintana**

**Directora**  
**Dra. Leticia Alvarado**

**Laboratorio de Virus Entomopatógenos**  
**Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola**  
**Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria**

**2005**

***a Enrique Scholz***

## **AGRADECIMIENTOS**

La realización del trabajo reseñado en esta tesis, solo fue posible por el apoyo y el compromiso de colaboradores y de colegas; el afecto de los amigos y el amor de mi familia. Deseo agradecer muy especialmente a:

A **Leticia Alvarado**, mi querida Directora de tesis, por su apoyo para la realización de ésta; por su ejemplo de constancia y dedicación, por su amistad.

A **Marcelo Farinón** por ser mi compañero en el día a día durante todos estos años, por su contracción al trabajo, por su incondicionalidad en los tiempos duros, por su amistad.

A **Enrique Scholz**, a quien dedico esta tesis, por su inquebrantable apoyo, por su amistad. Por permitirme compartir tantos buenos momentos con su hermosa familia.

A **Juan José Cólica, Maika Rojas, Catalina Rivero, Orlando Pérez y Luis Luna**, mis queridos amigos y colegas de Catamarca por el trabajo compartido con generosidad y afecto, por poner siempre la cuota de humor y amor necesarias para crear un ámbito de trabajo inmejorable.

A **Omar Reviglio** por todos los días de trabajo compartidos, por su responsabilidad, por su amistad, por su calidad humana que me ayudaron a sobrellevar los días lejos de mi familia.

A **Germinal Arana**, por su valiosa colaboración en los ensayos del inicio de la tesis en Chilecito y Famatina.

A **Eduardo Dalla Pria** por su colaboración, su afecto y su amistad.

A **Alicia Sciocco**, mi amiga y compañera de área, por su apoyo y colaboración, por su generosidad, por el afecto de tantos y tantos momentos.

A **Gerardo Mujica** por su apoyo, por su excelente trabajo desde la UVT, por su afecto, por su amistad.

A **Guy de Froberville** por el apoyo desde NPP, por su amistad.

A **Walter Menéndez, Alejandro y Mariela Gómez de Alcazar - Expofrut**, por su valiosa colaboración, por la alegría y dedicación para trabajar, por el afecto que me han brindado.

A **Estela Favret** por su humor, por su afecto, por su colaboración de siempre, por su amistad.

A **Teodoro Stadler** por sus sugerencias para definir el tema de la tesis, por su apoyo, por su calidez y amistad.

A **Cecilia y Betina Scholz** por toda la colaboración y atenciones que me han brindado, por los buenos momentos compartidos en los viajes, por el trabajo serio y responsable, por el afecto.

A **mis hijos Federico y Victoria** por todo el amor y la comprensión para tolerar las largas y continuas ausencias del hogar. Por la colaboración en la casa, por la ayuda en el laboratorio, por el interés en mi trabajo, por ser como son. A Fede por la lectura y corrección de los borradores de la tesis. A Viqui por el diseño de la portada.

A **Claudio** por el apoyo incondicional, por su tolerancia, por ser el sostén en los momentos de desaliento y preocupación.

Al **INTA** por permitirme desenvolver mis actividades y sostener la realización de esta tesis, con la esperanza de que la actividad desarrollada contribuya mínimamente a cumplir con los objetivos de la Institución.

Al **IMYZA** que me brindó el ámbito de trabajo necesario para elaborar este proyecto. En especial a mis colegas Rubén La Rossa, Nancy Kahn; Esteban Saini y Alicia Sciocco por sus respectivos aportes; a Mónica Dicundo por su calidez y amabilidad al recepcionar los llamados telefónicos, por su apoyo desde su labor diaria y su amistad; a Andrea Salustio por su afecto y colaboración; a María del Carmen por su afecto; a Carmen Pereira y María Cornaccio por su colaboración y amistad. Y en general a todos mis compañeros por el afecto de cada día, por la colaboración, por la amistad.

A **Agro Roca S.A.** por el apoyo económico y técnico y por el afecto de todo su personal puesto de manifiesto cada vez que los visito.

A las **EEA Catamarca y Chilecito del INTA** por la colaboración y la integración a sus grupos de trabajo.

A la **Cámara Noglera de La Rioja** por el compromiso y el apoyo económico a este proyecto.

A la **Fac. Cs. Agrarias de la Univ. Nac. de Catamarca** por la colaboración técnica y económica en la ejecución de este trabajo.

A los **productores del Alto Valle, La Rioja y Catamarca** mi reconocimiento por la predisposición para aprender, apoyar y colaborar con su tiempo y dedicación a alcanzar los logros de esta investigación, por la hospitalidad y por el afecto que me han dispensado. Para ellos, sin duda, son los resultados de esta tesis.

***¡Oh, demasiado felices  
los labradores si  
conocieran los bienes  
de que gozan!***

**Virgilio, *Las Geórgicas***

---

## ÍNDICE

RESUMEN	I
ABSTRACT	III
1- Introducción	1
2- Antecedentes	5
3- La plaga	11
4- El agente biológico	19
4.1- Modo de acción	21
4.2- Citopatología	22
4.3- Patogénesis	25
5- El producto comercial	27
6- Las estrategias de producción de frutales de pepita en Argentina y su relación directa con el control de carpocapsa	29
7- Desarrollo de la Tesis	34
7.1- Hipótesis	34
7.2- Objetivos generales	34
8- Evaluación de la eficacia de CARPOVIRUS Plus en montes comerciales de pera, manzana y nogal	35
8.1- Objetivo	35
8.2- Material y métodos	36
8.3- Resultados y discusión	49
9- Evaluación en laboratorio de la persistencia de CARPOVIRUS Plus bajo las condiciones naturales del Alto Valle	71
9.1- Material y métodos	72
9.2- Resultados y discusión	73
10- Estrategias de aplicación del CpGV en sistemas de producción de frutales de pepita en Argentina	78
10.1- Recomendaciones de uso	78
10.2- Estrategias de uso	80
11- Conclusiones	85
12- Consideraciones sobre el uso del CpGV en el futuro	89
13- Bibliografía citada	91
14- Anexos	101

---

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Adulto de <i>Cydia pomonella</i>	11
Figura 2. Larva en diapusa	11
Figura 3. Desarrollo estacional de carpocapsa en el Alto Valle de Río Negro	13
Figura 4. Desoves sobre hoja	14
Figura 5. Desarrollo embrionario en desoves	15
Figura 6. Larva neonata sobre hoja	15
Figura 7. Detalle de daño por entrada en frutos	16
Figura 8. Detalle de daño en manzana y nuez	17
Figura 9. Estructura de granulovirus	20
Figura 10. Detalle corte de gránulos de CpGV	20
Figura 11. Larva sana	21
Figura 12. Larvas contaminadas	21
Figura 13. Microscopía óptica: corte de tejidos con CpGV	23
Figura 14. Microscopía electrónica: corte de tejidos con CpGV	24
Figura 15. Esquema de patogénesis de un granulovirus	26
Figura 16. Entomofauna benéfica: <i>Apis mellifera</i> , <i>Chrysoperla externa</i>	27
Figura 17. Detalle del envase del producto comercial	28
Figura 18. Vista panorámica de las fincas en el Valle de Chilecito	38
Figura 19. Vista parcial del ensayo en Guanchín, Chilecito	40
Figura 20. Vista panorámica de los ensayos en El Potrero, Andalgalá	42
Figura 21. Vista del cultivo en El Potrero, Andalgalá	43
Figura 22. Vista aérea cultivos de pomáceas, Alto Valle	45
Figura 23. Aplicación de CpGV	51
Figura 24. Curvas de capturas de <i>C. pomonella</i> Sañogasta. 00/01	52
Figura 25. Curvas de capturas de <i>C. pomnella</i> Guanchín. 01/02	53
Figura 26. Curvas de capturas de <i>C. pomonella</i> Andalgalá. 00/01	55
Figura 27. Curvas de capturas de <i>C. pomonella</i> Pomán. 00/01	56

Figura 28. Curvas de capturas de <i>C. pomonella</i> PFI Alto Valle. Campaña 2001/2002	61
Figura 29. Curvas de capturas de <i>C. pomonella</i> PFI Alto Valle. Campaña 02/03	62
Figura 30. Curvas de capturas de <i>C. pomonella</i> PFI Alto Valle. Campaña 02/03	63
Figura 31. Curvas de capturas de <i>C. pomonella</i> PO Alto Valle. Campaña 01/02	64
Figura 32. Curvas de capturas de <i>C. pomonella</i> PO Alto Valle. Campaña 02/03	65
Figura 33. Curvas de capturas de <i>C. pomonella</i> PO Alto Valle. Campaña 03/04	66
Figura 34. Curva de persistencia de CARPOVIRUS Plus vs. Metilazinfos en montes de manzana en Alto Valle. 00/01	74
Figura 35. Curva de persistencia de CARPOVIRUS Plus vs. Fosmet en montes de manzana en Alto Valle. 01/02	75
Figura 36. Aplicación de CpGV con equipo de turbina	79
Figura 37. Trampa de feromonas en nogal	80

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Evaluación de daño en montes comerciales de nogal en Guanchín y Sañogasta, La Rioja. Campaña 2000/01	53
Cuadro 2. Evaluación de daño en nogal con CpGV como única herramienta, Catamarca. Campañas 01/02 y 03/04	57
Cuadro 3. Evaluación de daño en nogal con CpGV como complemento de insecticidas químicos, Catamarca. Campañas 01/02 y 03/04	59
Cuadro 4. Evaluación de daño en montes de PFI en Alto Valle. Campañas 00/01; 01/02; 02/03 y 03/04	67
Cuadro 5. Evaluación de daño en montes de PO en Alto Valle. Campañas 01/02; 02/03 y 03/04	69
Cuadro 6. Registro de condiciones climáticas en Alto Valle enero 2001 y enero 2002	73

## RESUMEN

En la Argentina el control de carpocapsa, *Cydia pomonella* (L), plaga clave de los cultivos de pera, manzana y nogal, obliga a los productores a efectuar numerosas aplicaciones de insecticidas para mantener los daños por debajo del umbral económico. Este uso indiscriminado de agroquímicos ha provocado la aparición de resistencia en las poblaciones naturales, la contaminación del medio y la producción de frutos con niveles de residuos elevados que restringen el acceso a los mercados internacionales. Entre las herramientas disponibles, el uso del virus de la granulosis (CpGV), es una valiosa alternativa de control, altamente efectivo contra larvas jóvenes y muy específico para la especie, si se aplica como insecticida biológico. En el año 2000 el INTA registró CARPOVIRUS Plus, insecticida biológico en base al CpGV para el control de carpocapsa. El objetivo de esta investigación fue evaluar la eficacia y la persistencia del formulado en campo y definir las estrategias de aplicación del CpGV en montes comerciales de pera, manzana y nogal en Argentina. Las evaluaciones se realizaron en el período 2000-2004 en montes comerciales de nogal -ubicados en Chilecito y Famatina, en La Rioja y en Mutquín, Retiro de Colana y Andalgalá, en Catamarca- y en montes comerciales de pera y manzana -ubicados en General Roca, Maiqué e Ingeniero Huergo, en el Alto Valle del Río Negro-. En nogal el CpGV se aplicó como única herramienta de control, a intervalos de 10-12 días desde octubre hasta inicios de febrero, o como complemento de insecticidas químicos convencionales sobre la segunda generación de la plaga. En pera y manzana el virus se evaluó en montes de producción de fruta integrada (PFI), a intervalos de 8 días desde octubre hasta inicios de marzo, y de producción orgánica (PO) combinado con la técnica de confusión sexual (TCS). Lotes con 1000 emisores por hectárea se trataron con virus a intervalos de 14 días desde octubre hasta inicios de marzo. Asimismo, se evaluó la persistencia del formulado bajo las condiciones naturales del mes de enero de 2000 y 2001 en montes de manzana ubicados en Gral. Roca. Los resultados obtenidos permitieron establecer que las aplicaciones de CpGV en una dosis de  $10^{13}$  GI/ha - 1 L/2000 L-fueron comparables con las aplicaciones

de insecticidas químicos en su capacidad para controlar el daño de carpocapsa en montes de nogal, pera y manzana. El virus mantuvo una elevada eficacia de control de la plaga, similar a la obtenida con los productos químicos, durante un periodo de 7 a 14 días luego de estar expuesto a las condiciones ambientales. En los sistemas de producción convencional o de PFI el CpGV fue incorporado satisfactoriamente como única herramienta de control, a intervalos de 8 días, o como complemento de insecticidas químicos. En PO la combinación de la TCS con aplicaciones de CpGV a intervalos de 14 días arrojó resultados altamente satisfactorios (daño no detectable a cosecha) en lotes donde se habían registrado fallas de control de carpocapsa con el uso de las feromonas. En la zona nogalera el formulado viral permaneció activo y brindó un control efectivo de carpocapsa aún bajo condiciones ambientales extremas. El uso de productos químicos para tratar la primera generación de carpocapsa y virus para cubrir la segunda, ejerció un control eficaz. En general, se estableció que la estrategia de uso del CpGV más adecuada para el control satisfactorio de carpocapsa requiere conocer e interpretar de modo correcto la situación inicial del predio (porcentaje de daño a cosecha anterior, dinámica poblacional de la plaga, tipo de producción, ubicación y superficie del monte, etc.). El número de pulverizaciones a efectuar con el producto depende principalmente de la densidad poblacional, la duración del ciclo del cultivo y el sistema de producción. El CpGV puede ser incorporado en la secuencia de tratamientos con insecticidas convencionales para evitar el desarrollo de resistencia de carpocapsa a los agroquímicos.

*Palabras claves:* Granulovirus, Bioinsecticida, *Cydia pomonella*, ensayos en campo

## ABSTRACT

Codling moths (CM) control, a key pest in pomes orchards, traditionally employs amounts of synthetic insecticides to prevent damages that exceed economic thresholds. Among the biological control options available for CM, the granulovirus of *Cydia pomonella* (CpGV) offers potential for effective and selective control. CARPOVIRUSPlus, a CpGV product, was registered (2000) in Argentina. The product offers an alternative to chemical insecticides of frequent use and constitutes a new tool in the combination of techniques that can be used in Integrated Pest Management (IPM) programs. The aim of this study was to assess the efficacy and persistence of CpGV product in walnuts orchards, in La Rioja and Catamarca, Provinces and on the main growing area for apples and pears of Argentina, at the Río Negro Valley, in order to improve strategies of use that minimize the detrimental effects of chemical formulations. Field trials were carried out for 4 years (2000-2004) under different management conditions: Integrated Fruit Production (IFP) and Organic Production (OP). In walnuts orchards the CpGV assays were performed with virus sprays as unique tool at 10-12 days intervals, from October to early February, or with combined treatments of chemicals insecticides on 1<sup>st</sup> flight followed by CpGV sprays onto 2<sup>nd</sup> generation. In pears and apples orchards IFP assays virus applications sprayed at 8 days interval from October to early March, were compared to unsprayed treatment. On OP plots the assays were performed with combined treatments of pheromone (mating disruption technique, MD) plus CpGV insecticide. Plots with 1000 dispensers/Ha (Isomate C) were sprayed with virus at 14 days intervals and compared to plots with MD treatments. Virus applications started on October and ended by early March. Persistence tests were carried out for two years (2000 y 2001), under natural conditions, on January in apple orchards at Río Negro Valley. Virus sprayed on 8-10 intervals days were compared to chemicals applications in apple orchards. The incorporation of CARPOVIRUS Plus as unique tool or in combination with insecticides was very promising. The results showed that CpGV dosis of 10<sup>13</sup> GI/ha - 1 L/2000 L- were similar to conventional sprays with chemical

insecticides to control CM in pome and walnuts orchards. Under Río Negro Valley natural conditions the CpGV persistence was similar to conventional insecticides. Significant activity in all treatments remained after 10-14 days, suggesting prolonged survival of virus. In IFP management the CpGV was incorporated successfully at 8-10 days intervals alone or combined with chemical insecticides to control high density populations of CM. In OP management the used of combined treatments of MD plus CpGV insecticide sprayed at 14 days intervals showed a high efficacy in reducing the fruit damage (<1%). The applications of CpGV provide strong evidence for the effectiveness of well-timed virus applications against CM outbreaks during the 1<sup>st</sup> generation larvae, and then fruit damage was reduced or eliminated in the 2<sup>nd</sup> one. Several preconditions have to be met to ensure high efficacy of this method of protection against CM. These are mainly: low initial CM population density, sufficient isolation from neighboring parts of an orchard with high CM density populations, adequate intervals between CpGV sprays. It is also possible to include CpGV treatment in the sequence of conventional insecticides to avoid the development of resistance by CM.

*Key words:* Granulovirus, Bioinsecticide, *Cydia pomonella*, field trials

## **1- Introducción**

El sector frutícola argentino participa aproximadamente con el 6% del Producto Bruto Interno Agropecuario y constituye alrededor del 10% del Producto Bruto Interno Agrícola. La fruticultura es la principal actividad económica regional en los valles irrigados de Río Negro y Neuquén, de donde proviene más del 80% de la oferta de fruta de pepita y el 90% del volumen exportado por el país. (SENASA, 2004)

En la última década el sector frutícola argentino creció cinco veces en el volumen de envíos al exterior y el monto de ingresos por las exportaciones pasó de 285 millones de dólares en 1992 a 385 millones de dólares en 2002. Además se transformó en el quinto complejo exportador del país, realizó una actualización tecnológica con miras a la demanda internacional, y ratificó ser uno de los mayores tomadores de mano de obra del sector agropecuario (SENASA, 2003).

Las posibilidades de Argentina para incrementar sus exportaciones son reales, pero dentro de un marco de elevada competencia con otros países del hemisferio sur. Esto exige un cuidadoso análisis de los principales problemas y oportunidades para lograr desarrollar las ventajas del país y mejorar su competitividad.

Entre las ventajas caben mencionar las condiciones agroecológicas apropiadas para producir fruta diferenciada, la posibilidad de exportar fruta en contraestación con el hemisferio norte y la integración de la producción con el acondicionamiento, la conservación frigorífica, la transformación y la comercialización (Magdalena et al., 2003).

Algunas de las principales limitantes tecnológicas que deben ser superadas para mejorar el acceso y ampliar la participación en los mercados externos son el escaso desarrollo de paquetes tecnológicos para la producción diferenciada de frutas adaptados a las diferentes regiones frutícolas, la presencia de problemas fitosanitarios que limitan el desarrollo de los cultivos o que impiden el acceso de la fruta a importantes mercados, por los niveles de residuos de plaguicidas y/o productos químicos usados en pre y post cosecha en frutos y productos de su industrialización, no admitidos por mercados externos y la

escasez de tecnologías alternativas al uso de agroquímicos para el control de problemas sanitarios.

Entre estos últimos, las pérdidas causadas por los insectos tienen elevada incidencia en los rendimientos, calidad y, por ende, en la rentabilidad de los cultivos. Por otra parte, la presión ejercida por las plagas obliga a los productores a efectuar numerosas aplicaciones de productos químicos para mantener la sanidad de los cultivos.

La contaminación del medio agrega una nueva dimensión al desarrollo y a la continuidad del uso de los insecticidas químicos. La expresión de resistencia a varios de los principales grupos químicos y la aparición de resistencia cruzada se han incrementado, dificultando la implementación satisfactoria de estrategias de control. El aumento de la dosis o de la frecuencia de aplicación se traduce en la disminución de la eficacia en el tiempo, lo que hace prácticamente imposible obtener cultivos rentables.

Uno de los ejemplos más claros de lo expresado con anterioridad, lo constituye el uso de insecticidas químicos para el control de *Cydia pomonella*, carpocapsa, polilla o gusano de la pera y la manzana, plaga clave de cultivos de pera manzana y nogal, de amplia distribución mundial.

En nuestro país la presión ejercida por la elevada densidad de las poblaciones de carpocapsa obliga a los productores a recurrir a reiteradas aplicaciones de plaguicidas para evitar daños que de otro modo oscilarían entre el 80 y 100% (Vermeulen et al, 1990). Pero a pesar de la enorme inversión dirigida al control químico, los resultados no son satisfactorios e igualmente se registran daños que varían entre el 10 y 30%, y representan una pérdida anual estimada en 60 millones de dólares (Cichón, 2002).

Prácticamente todos los grupos de plaguicidas, incluyendo organofosforados, clorados, piretroides, reguladores de crecimiento y feromonas, han sido utilizados para el control de esta especie. La elevada incidencia de la plaga obligó a un incremento del uso de insecticidas que, en una primera etapa, generó resistencia a los organofosforados y piretroides (Dickler, 1999). A principios de los '90 se reportaron problemas de resistencia hacia un regulador de crecimiento (Diflubenzuron) en numerosos cultivos de Europa y resistencia

cruzada de todos estos productos por el uso y dosificación excesiva de los mismos (Waldner, 1977; Reidl y Zelger, 1994; Sauphanor, et al 1988).

Estas limitaciones económicas, sumadas a la prédica de los profesionales preocupados por la preservación del ambiente y el cuidado de la salud humana, han llevado a la búsqueda de herramientas alternativas a los productos químicos, que consideren no solo el modo de acción, mantengan la eficiencia y el beneficio ambiental, en caso de aplicarse en escala regional, que pudiera derivarse de su adopción.

Entre estas alternativas, el control microbiano y en particular el uso de virus entomopatógenos, ha sido promocionado por más de medio siglo por su potencial para controlar plagas. El virus es formulado y se aplica en una concentración de partículas virales establecidas para el satisfactorio control de la plaga. La posibilidad de aplicarlos con la maquinaria de uso convencional e integrarlos dentro de los procesos de toma de decisión, basados en el monitoreo de la plaga, permite su incorporación dentro de los sistemas de manejo. Sin embargo, aún frente a los probables beneficios de la innovación en el desarrollo de estos agentes, suele transcurrir un largo período antes de lograr el ajuste de la técnica a campo para luego alcanzar una amplia adopción por parte de los productores y sólo unos pocos tienen éxito comercial o son usados en gran escala (Federici, 1999).

Si se analiza la eficacia de una estrategia de control basada en el uso de virus, en el plano productivo, será siempre comparada con la obtenida con otras tácticas de control convencionales, especialmente con las que emplean productos químicos de síntesis. Los parámetros que se tienen en cuenta seguramente serán cuán rápido mata al insecto blanco y cuál es el costo para alcanzar un nivel aceptable de protección del cultivo. La lenta velocidad de acción, la carencia de poder de volteo y la elevada especificidad pueden desalentar al productor, pero una vez consideradas las ventajas ambientales y de calidad de la producción resultante en el balance, se pueden superar las limitaciones técnicas.

Considerando que los productores juegan un papel decisivo en la adopción de los insumos terapéuticos, las actividades desarrolladas en este trabajo

estuvieron orientadas a solucionar los aspectos críticos - persistencia, inicio y oportunidad de tratamientos, compatibilidad con otros productos, etc.- que pueden presentarse en la incorporación de esta estrategia innovadora.

## 2- Antecedentes

El gusano de la pera y la manzana o carpocapsa, *Cydia pomonella* (L), es una de las plagas más severas en los cultivos de pepita en todo el mundo. La implementación de programas de control clásico constituye un factor limitante porque los enemigos naturales de esta especie son incapaces de mantenerla por debajo de un nivel de daño económico aceptable (Dickler, 1999).

El virus de la granulosis (CpGV) es una valiosa alternativa de control, altamente efectivo contra larvas jóvenes y muy específico para la especie, si se aplica en forma de insecticida biológico.

Este agente biológico fue identificado por Tanada (1964) a partir de un aislamiento proveniente de larvas enfermas colectadas en el Valle de Allende en Chihuahua, Méjico, en 1963.

Las primeras evaluaciones de patogenicidad realizadas en laboratorio sobre larvas de 3er y 4to estadio de *C. pomonella*, pusieron de manifiesto el potencial del virus para actuar como un selectivo agente de control (Falcon, 1968).

Entre los años 1966 y 1968 se realizaron en EE.UU. los primeros ensayos con la cepa de CpGV de origen mejicano (CpGV-M), para controlar carpocapsa en montes de pera y manzana. Los resultados arrojaron un 90% de reducción del daño por falla en el ingreso en los frutos y del pequeño porcentaje de larvas que penetraron, la mayoría murió en primer estadio y sólo unas pocas alcanzaron el estado de prepupa o pupa, observándose una elevada mortalidad de las mismas (Falcon et al, 1968;).

En Australia, la cepa del CpGV-M fue extensivamente usada dentro del programa "Cooperative Research Programme on Orchard Pest Managment". Varias formulaciones y técnicas de aplicación fueron evaluadas sobre lotes experimentales en Victoria durante los años 1969 a 1972. Los tratamientos fueron muy efectivos pero se consideraron muy costosos, lo que produjo el abandono del programa (Morris, 1972). Paralelamente, se iniciaron en Suiza las investigaciones con el virus, donde los ensayos iniciales indicaron el

potencial del CpGV para controlar eficazmente carpocapsa también bajo las condiciones europeas (Keller, 1973).

En 1974, Jaques inició una serie de ensayos en campo en varias provincias de Canadá, que se extendieron por más de diez años. En las primeras aplicaciones lograron reducir los daños a porcentajes que oscilaban entre el 52 y 86% con 2 a 5 aplicaciones por generación con dosis de  $2 \times 10^{10}$  GI/planta (Jaques et al., 1987). Asimismo, confirmaron la especificidad del virus pues observaron que su uso no redujo el número de artrópodos predadores. Por comparación, el virus fue menos efectivo en los ensayos realizados por Shepard y Stairs (1976) en Ohio, quienes informaron una reducción del daño por entrada del 40% con dosis cien veces menores que la aplicada por Falcon en los primeros ensayos con la cepa de CpGV.

A principios de 1973, se inició en el Instituto para el Control Biológico de Plagas de Damstadt, Alemania, un intensivo y continuo programa de investigación con el CpGV. En el marco de estas investigaciones se desarrollaron métodos para la producción masiva del virus y se realizaron numerosos ensayos en montes frutales. Los buenos resultados de estos ensayos alentaron al grupo de trabajo de la Internacional Organisation for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants/ West Palaearctic Regional Section (IOBC/WPRS) a incluir al CpVG dentro de las actividades del plan "Genetic Control of Codling Moth and *Adoxophyes*" (Dickler, 1978; Cranham et al., 1980). En el marco de este grupo internacional de colaboración el virus fue ensayado desde 1976 a 1977 en más de una docena de montes frutales en seis países europeos: Austria, Alemania, Holanda, Bélgica, Hungría y Suiza. La mayor parte del virus usado en estos ensayos fue producido en Damstadt, Alemania (Huber, 1981).

En 1979 se inició una nueva fase de estudio del control biológico en cultivos comerciales de manzanas en la Comunidad Económica Europea (CEC). Las actividades del programa estaban centradas en el uso de Baculovirus para el control de carpocapsa y *Adoxophyes*. Durante cuatro años la CEC financió proyectos de investigación en Francia, Alemania, Grecia, Países Bajos y Gran Bretaña. Se generó una vasta información relacionada con la producción,

estandarización, formulación y aplicación de granulovirus (Cavallero y Piavarux, 1984). Al mismo tiempo, y sobre la base de la metodología desarrollada en Damstadt, se iniciaron producciones de virus en el INRA de Monfavet (Francia) y en el Glasshouse Crop Research Institute (GCRI), en Littlehampton (Gran Bretaña).

En 1983, Harvey y Volkman caracterizaron y evaluaron la patogenicidad de dos nuevos aislamientos de cepas de CpGV -uno obtenido a partir de larvas colectadas en Rusia (CpGV-R)) y otro aislado de larvas enfermas de una colonia de laboratorio de la Universidad de Reading en Inglaterra (CpGV-E)- por comparación con muestras patrones del aislamiento CpGV-M, mantenidos en diferentes laboratorios. Los análisis de restricción enzimática, poliacrilamida gel electroforesis y los bioensayos efectuados determinaron que los stocks de virus tenían patrones idénticos. Este resultado fue corroborado por comparación de muestras de ADN de cepas del virus aisladas en Canadá, Nueva Zelanda, Italia, Suiza, Inglaterra, Rusia y Méjico. Asimismo, estudios más detallados revelaron un alto grado de homología en todas las secciones de los genomas comparados y permitieron establecer que el CpGV poseía un genoma particularmente estable (Harvey y Volkman, 1983; Burges, 1983; Crook, 1985). Finalmente, Crook (1985) estableció que esta situación era el resultado de la amplia difusión que se había hecho de la cepa mejicana a través de los ensayos realizados en aquellos países.

Los resultados de las investigaciones realizadas en Europa y EE.UU., motivaron que algunas compañías comerciales de productos fitosanitarios se interesaran por el CpGV. En los siguientes veinte años numerosas formulaciones experimentales fueron evaluadas y alcanzaron el registro definitivo en países como Francia (CARPOVIRUSINE), Alemania (GRANUPOM), Gran Bretaña (AGC200) y Suiza (MADEX); documentados por Burgerjon et Sureau, 1985 y Ballard, 1988.

En los últimos años el producto ha sido registrado en EEUU (Cyd-X, Virosoft.y CARPOVIRUSINE); en Italia (Madex) y en Chile (CARPOVIRUSINE) (Lacey et al, 2004).

La posibilidad de disponer de una herramienta alternativa de control a partir de la llegada al mercado de las formulaciones comerciales, hizo necesario evaluar y definir estrategias de uso para distintas regiones productivas, acorde con la presión de la plaga y las condiciones naturales propias.

Existen numerosas referencias que ponen de manifiesto la eficacia de estas formulaciones y establecen recomendaciones para su incorporación en los programas de manejo integrado de la plaga. Desde un comienzo, los ensayos de eficacia en campo mostraron que las aplicaciones de CpGV son comparables con las de los insecticidas químicos para controlar el daño provocado por carpocapsa en manzanas (Huber y Dickler, 1977; Mantinger et al., 1992; Charmillot y col. 1991). Las dosis de uso de los productos varían usualmente entre  $10^{11}$ GI/ha a  $5 \times 10^{13}$  GI/ha (Shepard y Stairs, 1976; Audemar et al, 1992; Charmillot, 1989, 1991; Lacey et al 2003).

En el 2003, Quèvin y Laur presentaron los resultados de los ensayos experimentales realizados en el marco del programa de MIP "Verger 2000", en el período 1983-1993, en montes comerciales de manzana en Francia. Los datos permitieron promover el uso del insecticida biológico CARPOVIRUSINE (Calliope SA) como una herramienta eficaz para controlar las poblaciones de carpocapsa y para el manejo de la resistencia a los insecticidas convencionales. Otros ensayos conducidos en montes comerciales de peras y manzanas en Europa, Canadá y EE.UU. dieron resultados satisfactorios para el control de la plaga y permitieron definir estrategias de uso, intervalos de tratamiento y evaluar el impacto ambiental del CpGV en el control de carpocapsa (Stará y Kocourek, 2003; Quèvin y Laur, 2003; Lacey et al., 2003; Keith et al., 2003; Jaques, R, 2003).

Otro aspecto puesto de relevancia en los diferentes ensayos realizados, ha sido la incidencia del CpGV como depresor de las poblaciones de carpocapsa. En este sentido, se ha observado una marcada disminución de la emergencia de adultos en la primavera siguiente en lotes que fueron tratados con el virus, como consecuencia de la mortalidad de larvas invernantes que, habiendo ingerido dosis subletales de virus, atravesaron los estadios larvales y alcanzaron a entrar en diapausa protegiéndose en las bandas de cartón

corrugado. Sin embargo, la mayoría de ellas no lograban transformarse en pupas y morían durante este estado (Stará y Kocourek, 2003; Quèvin y Laur, 2003; Lacey *et al*, 2003).

La estabilidad del CpGV en campo también ha sido un aspecto orientador para el desarrollo de las formulaciones comerciales y el establecimiento de estrategias de uso. La persistencia de la actividad viral sobre el follaje y los frutos es un factor determinante para alcanzar un control eficaz, tanto por los hábitos de alimentación del insecto -las larvas neonatas deben ingerir una dosis letal en el breve tiempo en la etapa ambulatoria previa al ingreso al fruto- como por el largo periodo de eclosión secuencial de los huevos. Lamentablemente, el CpGV es altamente inestable frente a la radiación ultravioleta y las elevadas temperaturas. Las evaluaciones en campo demostraron suficiente persistencia de los productos formulados sobre frutos y follaje, cuando se aplicaron en intervalos de 10 a 14 días durante el ciclo vegetativo del cultivo (Stará y Kocourek, 2003; Lacey *et al*, 2003; Keith *et al*, 2003).

En Argentina, en 1987, el Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, INTA, Castelar, inició las investigaciones para el desarrollo de un insecticida biológico en base a este virus entomopatógeno. Esto fue necesario porque los alentadores resultados, tanto de laboratorio como de campo, obtenidos por los grupos de investigadores de otros países sobre la eficacia del CpGV para el control de la plaga, debían ser validados para las poblaciones de carpocapsa y las condiciones naturales de las diferentes zonas productoras de pera, manzana y nogal de la Argentina. Durante más de diez años se trabajó en el desarrollo y la evaluación de formulaciones experimentales sobre la base de la cepa de CpGV con el fin de seleccionar y registrar un producto (Quintana y Alvarado, 1998). El proceso abarcó diferentes etapas que comprendieron desde el establecimiento de una colonia de *C. pomonella* bajo condiciones de laboratorio (Quintana *et al*, 1998), pasando por la caracterización bioquímica y biológica de la cepa del virus (Quintana *et al*, 1995); el desarrollo y evaluación de formulaciones experimentales en laboratorio y campo y la evaluación tóxica y ecotoxicológica hasta alcanzar el registro definitivo ante el SENASA a inicios

del año 2000 (Quintana y Alvarado, 2004). Este producto fue el primer insecticida biológico desarrollado y registrado en el país para el control de una plaga.

Este logro permitió encarar la transferencia de tecnología al sector privado para la elaboración a escala industrial y comercialización del bioinsecticida en el país. Dentro de este marco, en la campaña frutícola 1999/2000, se iniciaron las actividades de la presente tesis con el fin de evaluar la eficacia del formulado en campo y definir las recomendaciones de uso para la incorporación satisfactoria del virus en las distintas estrategias de producción.

### 3- La plaga

La especie *Cydia pomonella* (L.), Lepidoptera, Tortricidae, conocida como "carpocapsa", "gusano o polilla de la pera y la manzana" (Fig. 1), es la plaga clave de los cultivos de manzano, pera, nuez y membrillo.

De distribución mundial, en nuestro país sus poblaciones se caracterizan por tener tres generaciones anuales y pueden presentar una cuarta generación incompleta en veranos con temperaturas elevadas hasta avanzado marzo. Los daños se intensifican sin interrupción desde diciembre hasta marzo.



**Fig. 2:** Larva en diapausa



**Fig.1:** Adulto de *C. pomonella*

Durante el desarrollo atraviesa cuatro estados diferentes: huevo, larva, pupa y adulto (mariposa) que se cumplen en un periodo variable de 49 a 54 días, dependiendo de las temperaturas acumuladas.

Carpocapsa pasa el invierno como larva de último estadio en diapausa (hibernación), protegida dentro de gruesos capullos debajo de la corteza de frutales, en el suelo, en grietas de postes y puntales, en las maderas de los bins, o incluso en las paredes de edificios utilizados para el empaque de fruta (Fig. 2).

Cabe aclarar que, por la incapacidad para regular la temperatura corporal, el desarrollo de la especie está influenciado principalmente por la temperatura ambiente (poiquilothermia).

Otros factores que influyen son el fotoperíodo (cantidad de horas de luz) y en menor medida la humedad. Por lo tanto, poseen un umbral mínimo de desarrollo (LT), dado por la temperatura a la cual algunas de sus funciones metabólicas básicas se interrumpen y un umbral máximo (UT) en el que el insecto entra en un estado de latencia.

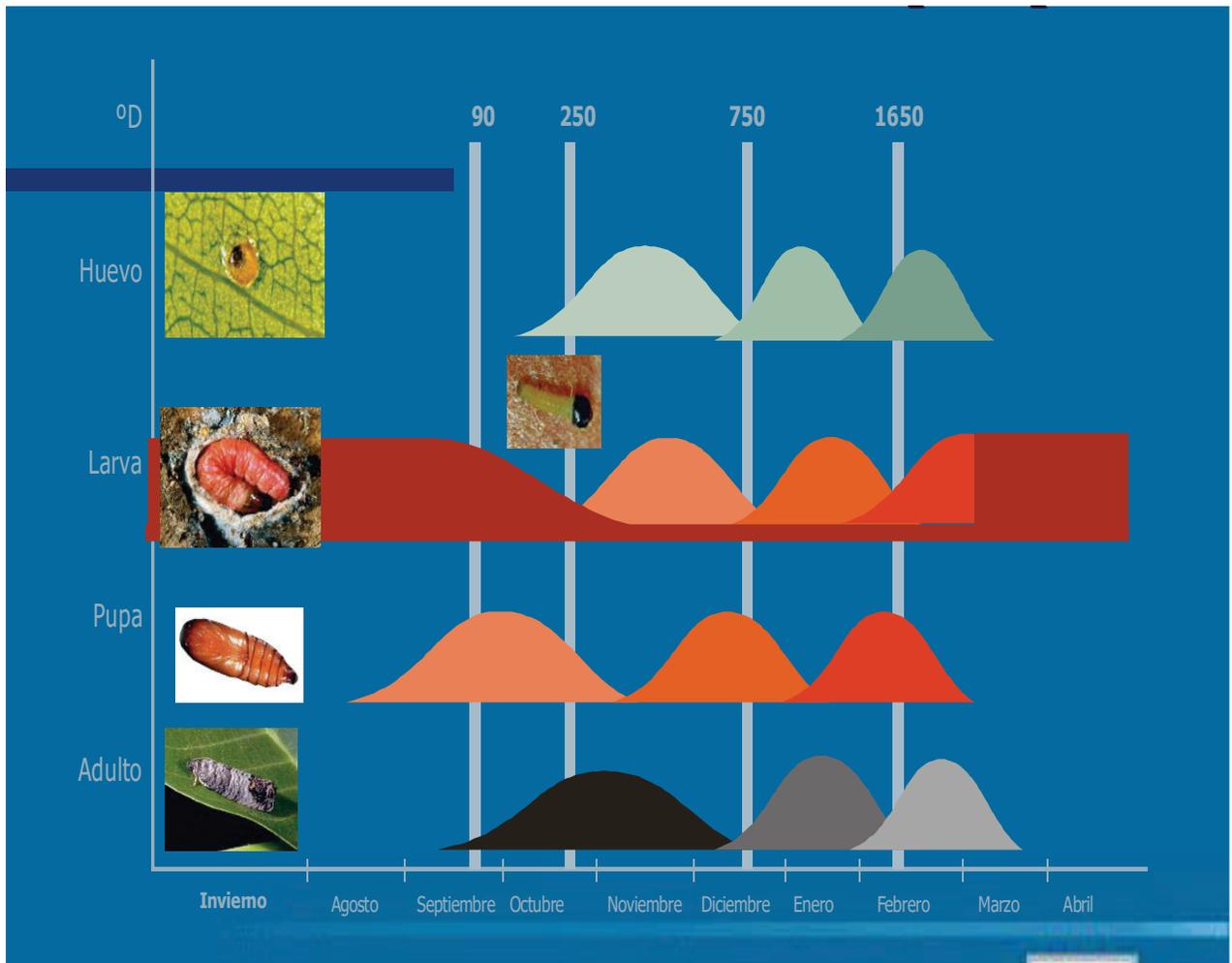
Este desarrollo según un tiempo fisiológico determinado por condiciones climáticas, permite predecir el momento fisiológico y de desarrollo estacional en que se encuentra una población a partir del monitoreo de estas variables.

El tiempo fisiológico puede ser estimado por la acumulación de día-grados ( $^{\circ}\text{D}$  o carpogrados).

El grado de desarrollo de carpocapsa es aproximadamente lineal al aumento de la temperatura. La curva se aleja cuando los valores de temperatura se acercan a los umbrales máximo o mínimo. Los umbrales aceptados para la mayoría de los modelos fenológicos son de  $31^{\circ}$  y  $10^{\circ}\text{C}$  para el UT y LT, respectivamente.

Es esta aproximación lineal de la tasa de desarrollo dentro del rango de temperatura citado, lo que determina las unidades fisiológicas de desarrollo (UFD) necesarias para cada estado del insecto.

En la Fig. 8 se puede observar el desarrollo estacional de carpocapsa en la región del Alto Valle en relación con los  $^{\circ}\text{D}$  acumulados.



**Fig. 8:** Desarrollo estacional de carpocapsa en el Alto Valle del Río Negro (Fuente: EEA INTA Alto Valle)

En el hemisferio sur entre fines de agosto y principios de setiembre, con el incremento de la temperatura, las larvas reanudan su desarrollo para transformarse en pupa y luego en adultos que darán origen a la primera generación. La reactivación de las larvas invernantes se produce de modo sincronizado con el momento del cuaje y desarrollo de los frutos.

Los primeros individuos en aparecer son los machos; el vuelo de las hembras ocurre una o dos semanas después.

Este primer vuelo se caracteriza por tener una duración muy extendida, desde mediados de octubre hasta diciembre, en Alto Valle y Cuyo y desde inicio-miados de setiembre hasta fines de noviembre en las zonas nogaleras de Catamarca y La Rioja. Presenta dos o más picos de nacimientos, y a partir de mediados de diciembre se superpone con el nacimiento de las larvas de la segunda generación, por lo que se lo considera el período más crítico para el control de la plaga.

Los adultos ven limitada su actividad diaria a unas pocas horas durante la tarde e inicio de la noche y, en menor medida, durante la madrugada.

Durante el día las polillas descansan sobre las ramas o el tronco.

Con facilidad, pueden ser distinguidas de otras polillas por las marcas cobrizas que poseen en el extremo distal de las alas del primer par (Quintana *et al*, 1998).

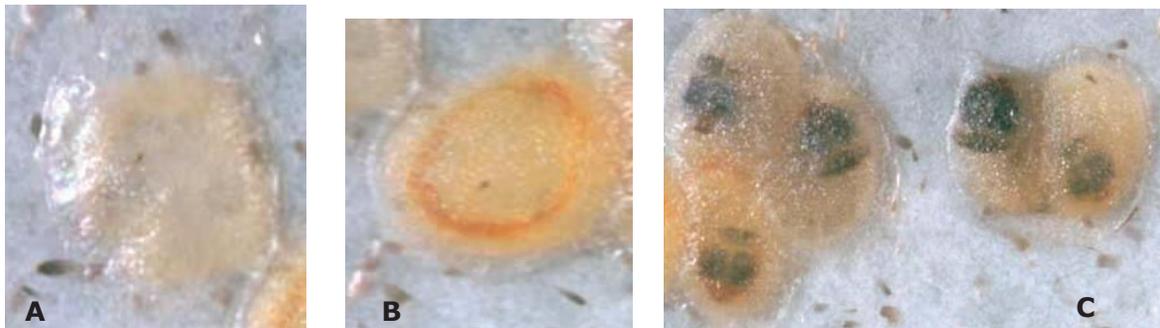
Su reproducción es sexual. El vuelo nupcial se realiza en horas del crepúsculo cuando las temperaturas superan los 10°C (13 °C para ♂y 15°C para ♀). Pero para la cópula requieren temperaturas superiores a 15°C (Cichón *et al*, 2004).



**Fig. 3:** Desoves sobre hoja  
La hembra coloca los huevos sobre las hojas, cerca de los frutos o bien sobre ellos (Fig. 3). Las hembras provenientes de larvas invernantes colocan un promedio de 60 huevos, los que dan inicio a la primera generación.

El cambio de coloración del huevo es indicio de desarrollo embrionario. Se distinguen tres estadios: cremoso; anillo rojizo y cabeza negra (Fig. 4). Miden de 1.3 a 1.5 mm de diámetro. Después de un período de incubación durante el que necesitan acumular 90°D, se produce la eclosión.

Las larvas de la primera generación tardan entre 10 y 12 días en nacer mientras que las de 2ª y 3ª generación entre 5 y 7 días (Quintana *et al*, 1998).



**Fig.4:** Desarrollo embrionario en desoves: A) huevo cremoso, B) anillo rojizo y C) cabeza negra

*La larva atraviesa cinco estadios para completar su desarrollo. Recién nacida mide 1,5 mm, es blanca con cabeza negra y tiene gran movilidad. Concluido el desarrollo, al fin del 5to estadio, alcanza entre 18 y 24 mm de longitud.*



**Fig. 5:** larva neonata sobre hoja

Las larvas neonatas cumplen un período ambulatorio recorriendo hojas y el fruto. Esta etapa, que dura pocas horas, es de gran importancia para el control químico y biológico (Fig. 5).

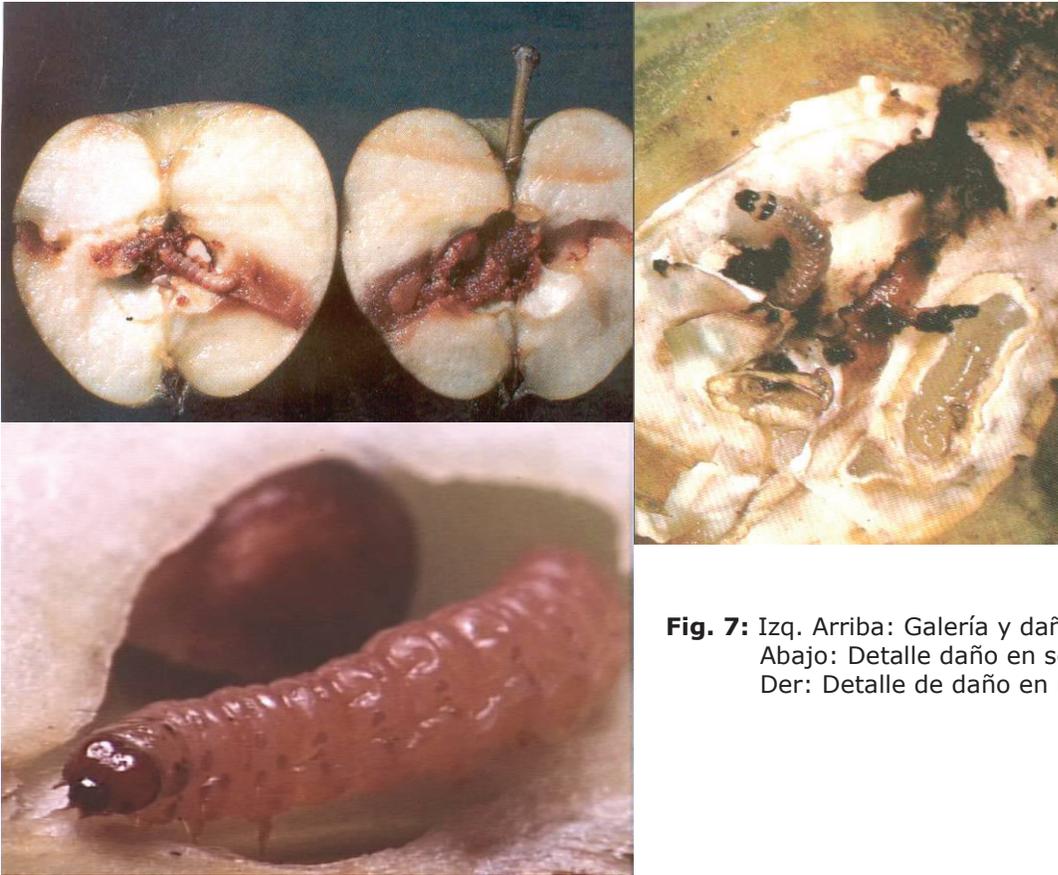
El ingreso al fruto se puede producir por cualquier parte de la superficie, por el cáliz, pedúnculo o por la zona de contacto entre dos o más frutos (Fig. 6).



**Fig. 6:** Detalle daño por entrada en frutos: Arriba: der. Manzana, izq. Nogal  
Abajo: der. Manzana; izq. Nuez

La larva suele atacar la hoja, probablemente para evitar la deshidratación. Ya sobre el fruto, atraída por las sustancias químicas, perfora la epidermis y cava una galería en espiral donde muda del primer al segundo estadio.

La galería producida se va rellenando con pulpa deteriorada y excrementos que llegan a salir por el orificio de entrada. Como larva de 2do estadio atraviesa la pulpa y se dirige casi en forma recta hacia la zona de las semillas, en el corazón del fruto. A esta altura ya ha mudado al 3er estadio. La larva atraviesa el 4to y 5to estadio alimentándose de las semillas.



**Fig. 7:** Izq. Arriba: Galería y daño en manzana  
Abajo: Detalle daño en semilla de manzana  
Der: Detalle de daño en nuez

Permanece en el fruto entre 20 y 27 días, según la época del año. Para abandonarlo puede ampliar la galería de entrada, salir a través del cáliz o hacer una nueva galería. Una vez afuera, busca un lugar protegido y teje un capullo para empupar.

Durante la primera generación más del 95% de las larvas que buscan refugio se transforman en pupa y emergen como adultos que dan origen a la 2da. generación a principios de diciembre. La emergencia se extiende hasta mediados de enero. Un pequeño porcentaje de larvas permanece en diapausa hasta la primavera siguiente.

Las hembras de la 2da generación colocan entre 100 y 140 huevos, principalmente sobre la superficie de los frutos. Luego de 5 a 7 días de incubación nacen las larvas que, después de unas pocas horas de vagabundeo, penetran en los frutos para completar el desarrollo en aproximadamente tres

semanas. Alrededor del 20% de estas larvas entran precozmente en diapausa, las restantes empupan y dan origen la 3er vuelo o generación.

Los adultos que emergen desde mediados de enero hasta mediados de marzo, copulan y dan origen a la 3ra generación de huevos. Las larvas de esta tercera generación provocarán daños en los frutos desde inicios de febrero hasta mediados de marzo.

Las larvas completan su ciclo y forman los capullos para empupar. Sin embargo, esta vez, el desarrollo se interrumpe y el cien por ciento de las mismas entra en diapausa. Atraviesan el invierno como larvas de último estadio y completarán el ciclo en la primavera siguiente.

#### 4- EL AGENTE BIOLÓGICO:

El virus de la granulosis de *Cydia pomonella* o CpGV ó granulovirus de *C. pomonella*, en la naturaleza es un parásito intracelular que sólo se multiplica a expensas del material nuclear del insecto huésped.

La identificación y caracterización (bioquímica-molecular) de la cepa de CpGV está ampliamente documentada, habiendo sido por ello seleccionada recientemente como la especie tipo de su género (Blissard *et al.*, 2000).

El estudio de los aspectos morfológicos establece el género viral entre los miembros de la Familia *Baculoviridae*. Las características de la forma de los cuerpos de inclusión y su tamaño, su ubicación en la célula de los insectos infectados y el número de partículas infectivas (sólo una) por cuerpo de inclusión, conllevan a la identificación del agente como perteneciente al Género *Granulovirus* (GV) (Tanada, 1964).

La partícula infectiva, denominada virión, está constituida por un nucleocápside denso con forma de bastón con una membrana simple. Los nucleocápsides miden entre 30 - 60 nm de diámetro por 250 - 300 nm de largo. Poseen estructura ovocilíndrica (Figs. 9 y 10).

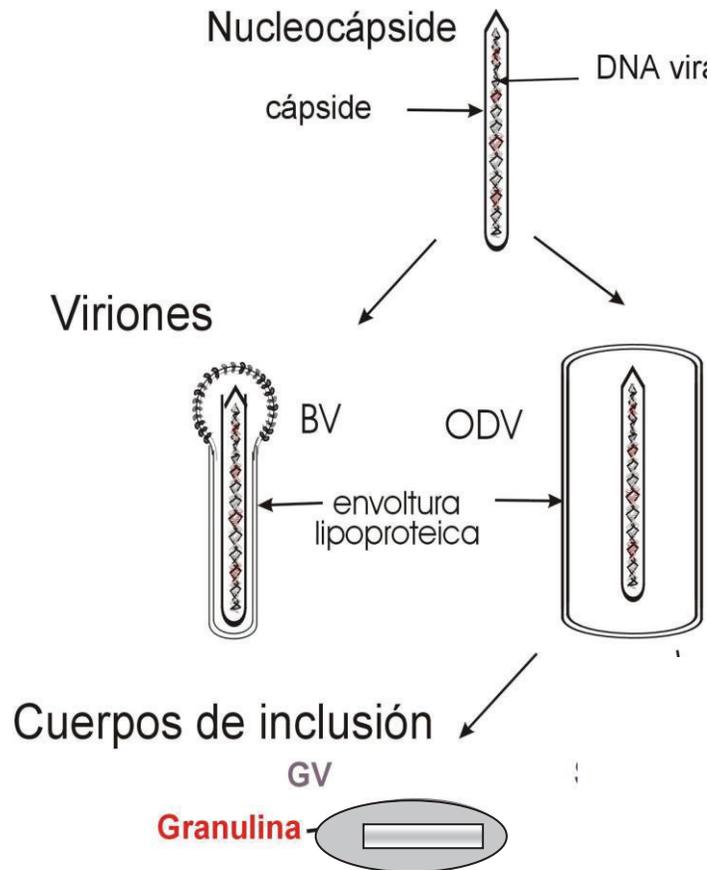
La densidad del nucleocápside en CICs = 1.47 g/cm<sup>3</sup>; la del virión = 1.8 - 1.25 g/cm<sup>3</sup>. Lábil en éter y calor.

El genoma está constituido por una molécula de ADN doble cadena, superhelicoidal; peso molecular = 90 - 230 Kb, 8 -15% de peso de la partícula. El contenido de guanidina (G) + citosina (C) es variable entre 28 - 59%.

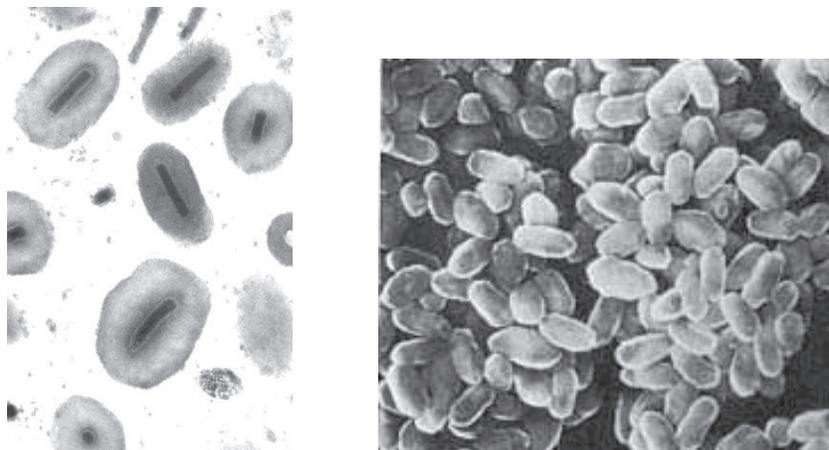
Los viriones son de estructura compleja y contienen por lo menos de 12 a 30 polipéptidos que los forman. Presentan proteasas alcalinas asociadas con occlusiones aisladas de insectos infectados. La proteína de inclusión mayor es un polipéptido simple, con un PM = 25-33x10<sup>3</sup>. Esta proteína se denomina *granulina* para los VG. Los virus tienen actividad proteína-quinasa.

Lípidos: Presentes, pero no caracterizados.

Carbohidratos: Presentes, pero no caracterizados (Volkman, L.E. *et al.*, 1996).



**Fig. 9:** Estructura de granulovirus (adaptado de Federici, 1987)



**Fig 10:** Izq. Detalle corte de gránulos de CpGV por microscopía de transmisión. Der. Detalle de CpGV microscopía de barrido

#### **4.1- Modo de acción**

En general las larvas infectadas con granulovirus no presentan signos ni síntomas hasta varios días después de la ingestión del virus. La pérdida de la coloración y el retraso en el desarrollo son los indicios de la alteración de las funciones metabólicas provocadas por la enfermedad. Por lo general, la larva infectada con GV demora el crecimiento y a veces alcanza el último estadio al tiempo en que una sana atraviesa el estado de pupa.

Frecuentemente, se observan modificaciones en el comportamiento como la pérdida del apetito, en las primeras horas post infección y la interrupción de la ingesta a medida que esta progresa. Asimismo, las larvas tienden a alejarse del alimento o a ubicarse sobre el mismo de manera inusual.



**Fig. 11:** Larva sana

En los últimos estados de la infección la larva adquiere una apariencia turgente o hinchada y un color amarillo pálido o blanco uniforme. A la muerte se produce la licuefacción de los tejidos internos. La larva se convierte en una especie de "saco de virus".

Cuando la epidermis está altamente atacada se torna muy frágil y se rompe con facilidad. Asimismo, si la epidermis no está afectada la larva se oscurece y el tegumento se mantiene firme y coriáceo (Smirnoff, 1965).



**Fig. 12:** Larvas contaminadas

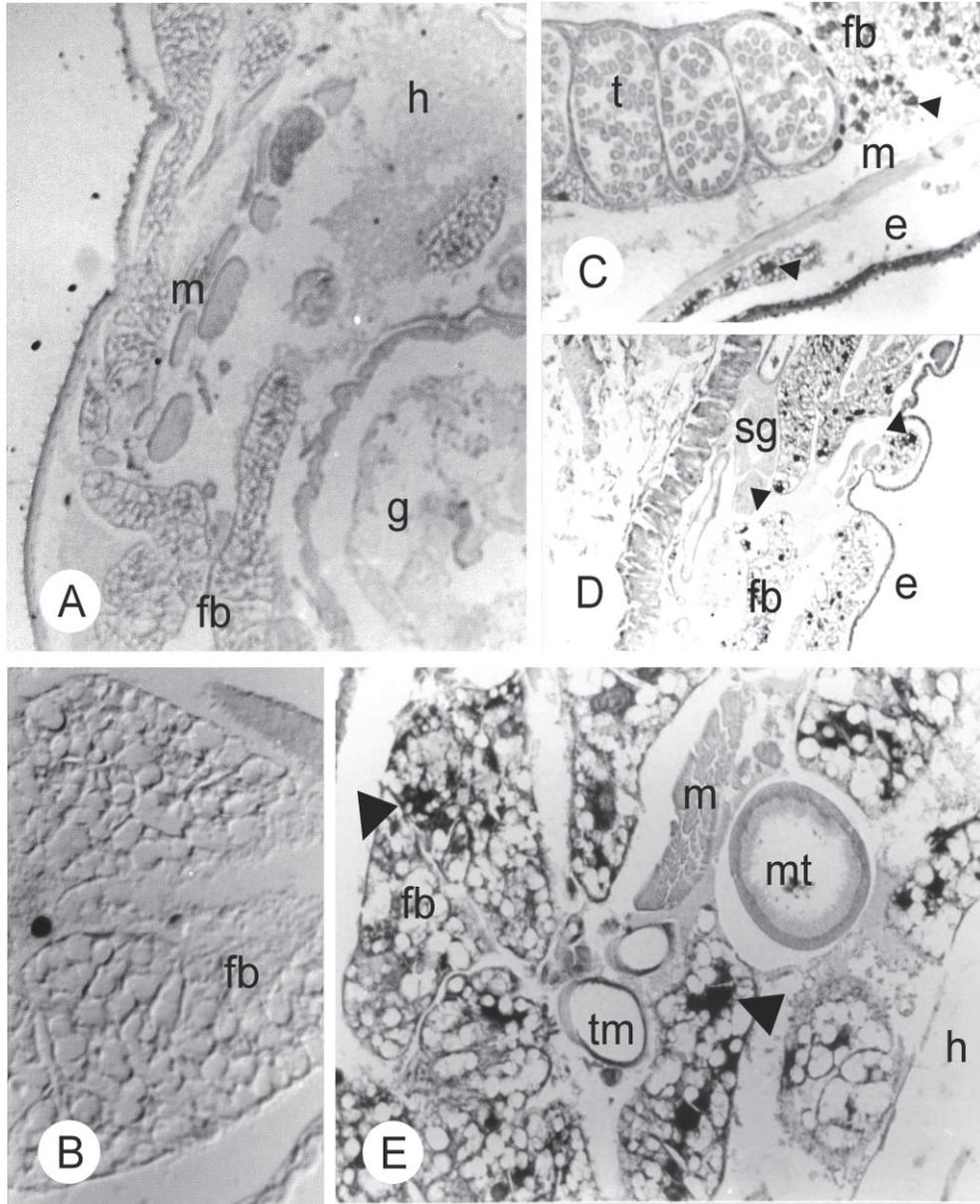
El período que va desde la infección por el Baculovirus hasta la muerte de la larva es variable y puede ser afectado por diversos factores: la edad del insecto, temperatura, dosis de virus, patogenicidad del aislamiento y nutrición del huésped. Las cepas más virulentas pueden matar a la larva dentro de los dos a cinco días, pero cepas menos virulentas pueden tardar entre dos y tres semanas (Huger, 1963).

#### **4.2- Citopatología.**

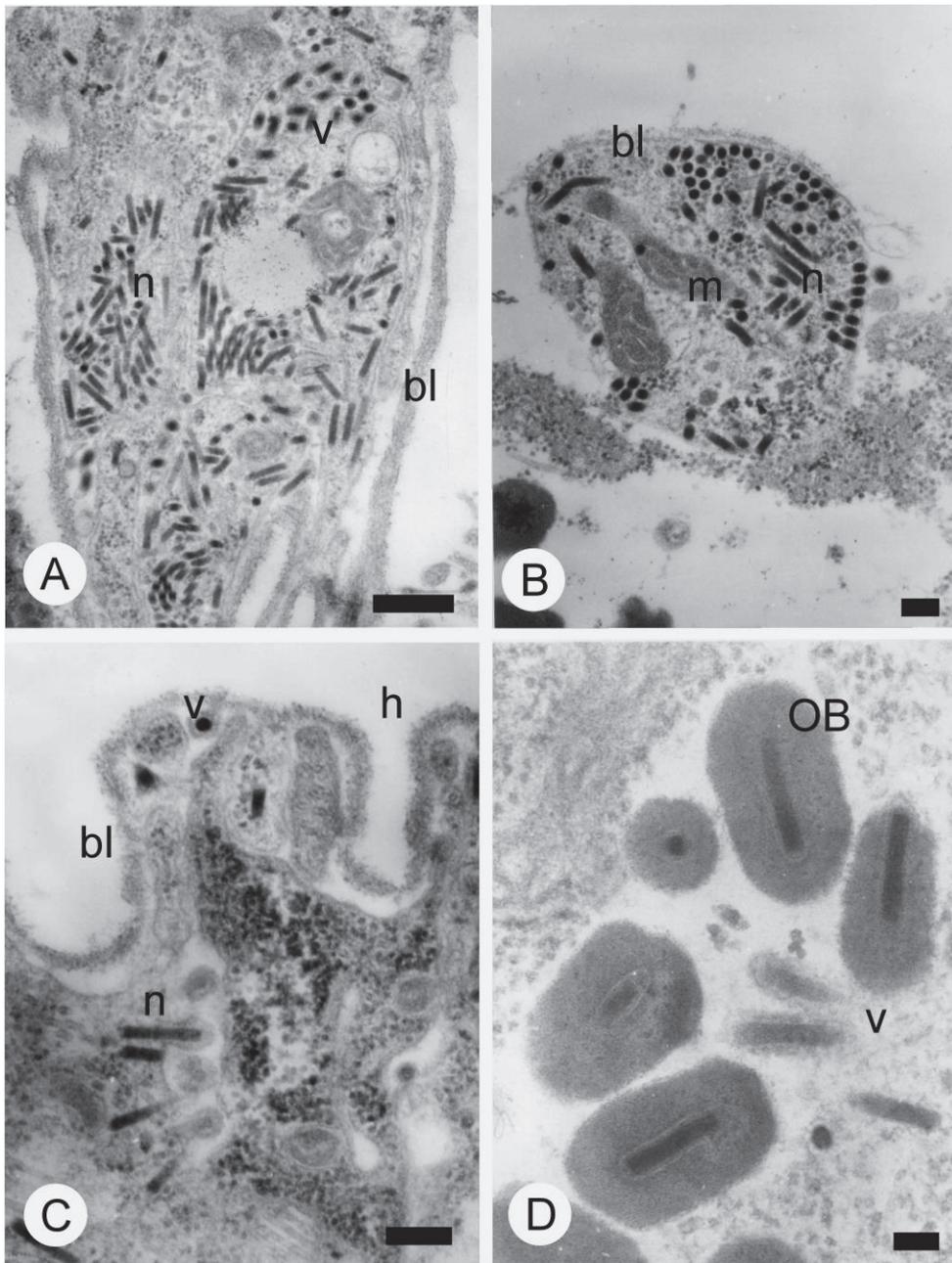
Las infecciones causadas por los granulovirus en larvas de lepidópteros son clasificadas como poliorganotrópicas, ya que a diferencia de lo que ocurre con otros virus entomopatógenos que sólo afectan a un órgano o tejido, son varios los órganos y tejidos comprometidos en el proceso de invasión. Usualmente, el tejido graso, la epidermis y la matriz traqueal son infectados por los gránulos, siendo el cuerpo graso el más atacado (Federici, 1997).

Los estudios con microscopía óptica y electrónica han demostrado que el desarrollo de los GV comienza en el núcleo de las células y finaliza, previa ruptura de la membrana nuclear, en el citoplasma celular (Figs. 13 y 14). En algunos casos los nucleocápsides virales pueden formarse en el núcleo, pero la adquisición de la cubierta viral y la formación de los cuerpos ocluidos ocurren en la mezcla de los constituyentes nucleares y citoplasmáticos (Watanabe y Kobayashi, 1970).

La proliferación mitótica de células sanas de tejido adiposo es un cambio patológico que se observa en la larva enferma. Las células mitóticas y sanas rodean a las enfermas que se encuentran dentro de los lóbulos de cuerpo graso alargado. Estas células sanas son eventualmente infectadas por el virus de la periferia de los lóbulos. Esta proliferación de las células del tejido graso es la responsable de la apariencia hinchada de las larvas durante los últimos estadios de la enfermedad (Walker *et al.*, 1982).



**Fig. 13: Microscopía óptica:** Cortes de tejidos de larvas sanas (A y B) e infectadas con GV (C, D, E). Las células teñidas de negro, en tejido adiposo y epidermis, muestran tinción positiva a la infección viral (Golberg et al, 2002)



**Fig. 14: Fig. Microscopía electrónica:** Cortes de tejidos de larvas infectadas con GV mostrando estructuras tipo-vesículas con nucleocápsides (A y B). Virones brotando de dichas estructuras (C) y morfogénesis de cuerpos de inclusión (D) (Goldberg et al, 2002).

### **4.3- Patogénesis.**

En la naturaleza, la transmisión de los Baculovirus se realiza a través de los cuerpos ocluidos producidos por las granulosis.

La vía de entrada más común en el huésped es por ingestión de alimentos contaminados con virus durante el estado larval, que es la etapa activa de alimentación de los lepidópteros. Por consiguiente, este estado es el de mayor susceptibilidad al control con insecticidas virales. Otras rutas alternativas de entrada son la transmisión transovárica y el pasaje transovum, los espiráculos y por parasitismo, aunque estos últimos no son considerados mecanismos importantes de transmisión de virus por la poca frecuencia con que se verifican (Granados, 1980).

La matriz proteica de los gránulos ingeridos es disuelta en el lumen del intestino medio por la acción de degradaciones enzimáticas, favorecidas por la elevada alcalinidad de los jugos digestivos (pH 9.5 a 11.5). Así, los viriones son liberados y expuestos a la acción de los jugos gástricos. Algunos son liberados con las heces o inactivados por los jugos intestinales, pero un número considerable de viriones sobreviven al riguroso medio bioquímico del lumen del intestino, atraviesan la membrana peritrófica e interactúan con las células epiteliales del mismo (Faulkner, 1981).

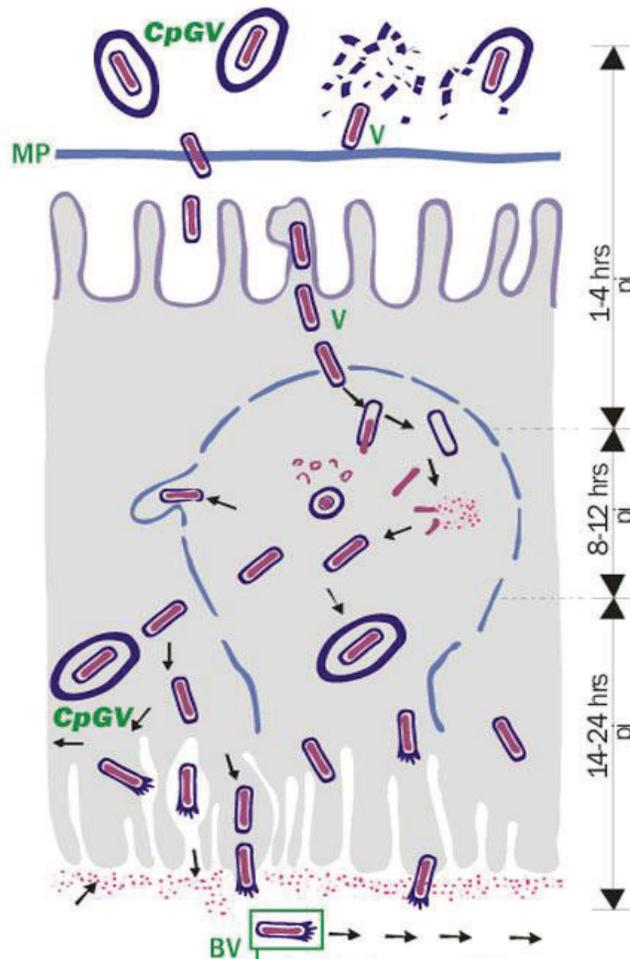
Durante el proceso natural de infección los cuerpos ocluidos (gránulos) son solubilizados en pocos minutos y liberan los viriones dentro del lumen del intestino. Este proceso es favorecido por la elevada alcalinidad de los jugos digestivos, pH 9.5 a 11.5 y por degradaciones enzimáticas (Granados, 1978;).

Los viriones liberados se fusionan a la membrana plasmática de la región apical de las microvellosidades del intestino medio, los nucleocápsides desnudos penetran en el núcleo y comienza la replicación del virus (Granados, 1978; Harrap, 1970; Granados y Lawler, 1981).

Durante el proceso de infección se producen dos fenotipos de viriones: no oclusos o brotados (NOV o BV) y oclusos (OV). Los NOV son nucleocápsides que brotan a través de la lámina basal y están comprendidos en el proceso de infección secundaria dentro del hemocele del insecto. Los OV aparecen más

tarde en el ciclo de infección como viriones embebidos dentro de un cuerpo de occlusión de naturaleza proteica. La forma oclusa es responsable de la transmisión horizontal del virus, de insecto a insecto (Sciocco-Cap, 2001).

En la figura 15 se presenta un esquema que sintetiza las diferentes etapas de la patogénesis de los GV.



**Fig. 15: Esquema de patogénesis de un granulovirus.** (A) En el intestino medio se disuelven los cuerpos de inclusión y quedan así liberados los viriones (V) que luego de atravesar la membrana peritrófica (mp), se unen por fusión a las microvellosidades del intestino medio. (C) Las nucleocápsides se dirigen al núcleo donde liberan el DNA, se produce la lisis de la membrana nuclear y la progenie viral será la responsable de diseminar la infección dentro del insecto. (E) Luego de atravesar la lámina basal (lb) las partículas virales (v) entran a las células de tejidos susceptibles via hemocele, iniciando un nuevo ciclo de replicación, que culmina con la formación de nuevos viriones (BV) y de viriones que se incluyen en los cuerpos de inclusión.

## 2- EL PRODUCTO COMERCIAL: CARPOVIRUS Plus

Las investigaciones desarrolladas por el INTA con una cepa de CpGV que responde al patrón mejicano (Quintana, G y Sciocco, A; 2000), permitieron obtener un insecticida biológico para el control de carpocapsa en montes comerciales de pera, manzana y nogal.

El producto comercial ha sido denominado CARPOVIRUS Plus –Nº de registro SENASA 33.541-.

### Composición

**CpGV\*** ..... **3%**  
**Inertes** ..... **97%**

\*Concentración:  $10^{13}$  GI/litro, determinados por titulación biológica  
Los inertes son biodegradables, de naturaleza comestible.

El formulado es una suspensión concentrada de CpGV obtenido a partir del macerado y homogeneización de cadáveres de larvas de cuarto estadio de *C. pomonella*, infestadas por ingestión de dieta artificial contaminada en superficie con una suspensión del inóculo viral.

CARPOVIRUSPlus se caracteriza por su alta especificidad, la ausencia de residuos tóxicos en fruto y ambiente, inocuidad para el hombre y la entomofauna benéfica (Fig. 16) y plantas. Además, tiene un alto impacto como depresor de las poblaciones de carpocapsa, ya que causa elevada mortalidad de larvas invernantes que han ingerido dosis subletales.



**Fig 16:** Entomofauna benéfica. Arriba. *Apis mellifera* Abajo *Chrysoperla externa*



**Fig. 17:** Detalle del envase del Producto comercial

Por sus características y modo de acción es compatible con los principios del Manejo Integrado de Plagas (MIP) siendo también una herramienta fundamental para la producción orgánica de fruta. Puede ser usado solo o en combinación con otras alternativas biológicas (técnica de confusión sexual, liberación de enemigos naturales, etc.) dentro de una estrategia de MIP.

La producción convencional también se beneficia con este bioinsumo que es compatible con los productos de síntesis y puede ser estratégicamente utilizado durante el período de carencia. Es ideal para los programas de manejo de resistencia.

## **6- Las estrategias de producción de frutales de pepita en Argentina y su relación directa con el control de carpocapsa**

La producción de frutales de pepita en Argentina está centrada en tres sistemas principales que incluyen metodologías propias para el manejo de las plagas: producción convencional, producción frutícola integrada (PFI) y producción orgánica o biológica (PO).

En los sistemas de producción convencional la sanidad del cultivo está basada en el uso de plaguicidas de amplio espectro, principalmente organofosforados, carbamatos y piretroides, con aplicaciones a calendario fijo, con períodos de carencia –lapso próximo a la cosecha en el que no pueden aplicarse productos químicos- establecidos para alcanzar los mercados con residuos en fruta por debajo de los límites tolerados.

La producción integrada está orientada a la obtención económica de fruta de alta calidad, dando prioridad al empleo de métodos de control complementarios de los insecticidas químicos ecológicamente más seguros, para minimizar el uso de los agroquímicos con el fin de proteger el ambiente y la salud humana (IOBC, 1994).

La práctica debe ser económicamente viable y los plaguicidas sintéticos usados deberán ser de acción específica, accesibles, eficaces y degradados con rapidez. En este marco, las tácticas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) adquieren un rol fundamental en la implementación de este sistema de producción.

En Argentina la filosofía de la PFI ha sido adoptada por un sector importante de la región productora de pomáceas, aunque no certifique la producción (Magdalena, 1999).

La producción orgánica (PO) o biológica es un sistema de producción sustentable en el tiempo, está exento del uso de productos químicos sintéticos. Comprende el reciclaje de la materia orgánica y la rotación de los cultivos; tiene por objetivo principal el respeto del medio ambiente y la preservación del equilibrio del suelo y del agroecosistema (Dickler, 1999).

Los métodos de PO están regidos por los patrones de certificación. En general, estos patrones permiten el uso de métodos y productos naturales y restringen o prohíben el empleo de productos químicos. Este concepto pone en desventaja al productor orgánico frente al productor convencional, ya que las herramientas disponibles para PO son pocas, y en lo referente al control de plagas, escasas o nulas.

La fruticultura, con cultivos perennes o semiperennes, favorece el mantenimiento de inóculos de ciertas enfermedades y la persistencia de plagas ya que el ciclo biológico no es interrumpido por la supresión de la planta huésped, (DGAL, 1998); por consiguiente, la PO requiere del desarrollo de mayor número y más efectivas prácticas de control biológico (Domange, 1994) La producción frutícola integrada y la agricultura biológica son sistemas dinámicos que solo podrán ser promovidos con un desarrollo tecnológico innovativo. Además, el control convencional de la plaga, basado en el uso de productos de síntesis organofosforados, carbamatos y piretroides, provoca la presencia de residuos en fruto que superan los niveles de tolerancia y causa, junto con la presencia de larvas, el rechazo de las partidas. Esto incide negativamente en la economía del sector frutícola que experimenta pérdidas que superan los 60 millones de dólares anuales (Cichón et al, 2002).

Durante la última década se han realizado numerosos esfuerzos dirigidos a la adopción de estrategias de control sustentables de carpocapsa, basadas en la incorporación de herramientas de bajo impacto ambiental y la producción integrada de frutas (PFI).

En forma paralela, al ritmo de una creciente tendencia mundial, cada año se incrementa la superficie destinada a la producción orgánica (PO) de frutos de pepita en el país. Sólo en el Alto Valle la superficie orgánica es de aproximadamente 800 Has (SENASA, 2003).

Para la implementación de esta estrategia los productores cuentan con escasas herramientas, muchas de las cuales carecen de registro en el país, a pesar de estar consideradas dentro de las listas de las certificadoras y, por lo tanto, sin la experimentación a campo necesaria para evaluar su eficacia y establecer las recomendaciones de uso, aprobados por el SENASA.

La aplicación de feromonas (técnica de confusión sexual –TCS-) constituye la base de este manejo, pero los resultados son variables cuando se usa como única táctica de control. Esto se ha relacionado con una aparente capacidad de carpocapsa para llegar a adaptarse y/o habituarse cuando es expuesta a altas dosis de feromonas (Gut *et al.*, 2003), sumado a las propiedades físico químicas de las feromonas que pueden tener efectos sobre la persistencia y movimiento en el aire.

Además, estos sistemas deben producir frutas con calidad y sanidad, pero observando las normas que regulan el funcionamiento de las negociaciones comerciales multilaterales del mercado internacional. En este contexto, han adquirido importancia temas que reciben el nombre de “preocupaciones no comerciales” que incluyen aspectos sanitarios y ambientales. Esto ha originado normas que establecen requisitos de acceso de carácter sanitario y ambiental al mercado internacional, que abarcan aspectos vinculados al producto y aspectos relacionados con los procesos y métodos de producción –PPM- (Galperín y Pérez, 2003).

Si bien, algunos son de carácter obligatorio y otros voluntarios, existen interrelaciones entre los mismos por lo que un requisito voluntario se puede transformar en una norma obligatoria si se verifican consecuencias negativas sobre la salud o el ambiente, o aún sin que esto suceda, si aumenta la presión por parte de organizaciones ecologistas, de defensa del consumidor, de sectores productores o de los propios consumidores.

Por lo tanto, la producción argentina de peras y manzanas –frescas o procesadas- con destino a la exportación, debe cumplir con la certificación de la PO y los límites máximos de residuos (MRL) de plaguicidas, en especial los de amplio espectro, establecidos por estas normas. Con respecto a carpocapsa, su presencia genera trabas en el acceso a los mercados internacionales y, por su carácter de plaga cuarentenaria, ocasiona el rechazo de partidas a países como Brasil (principal mercado del MERCOSUR), México y mercados emergentes del sudeste asiático. A su vez, constituye un problema potencial para las exportaciones a EE.UU. y Canadá que la consideran plaga de “baja

prevalencia", por encontrarse en vías de reducir el nivel de infestación en sus respectivas zonas productoras.

La adopción de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), por ahora de adhesión voluntaria, constituye otro de los requisitos planteados por el comercio internacional. Estas tienen por objeto la producción de frutos sanos y aptos para el consumo humano, protegiendo además el medio ambiente y la salud de los trabajadores (INTA, 2002). Pero se observa una creciente presión, fundamentalmente europea, para asegurar la inocuidad de las frutas por medio de este tipo de prácticas. En este sentido, la Asociación de Minoristas de Europa de Productos de Frutas y Hortalizas creó en 1997 la EUREPGAP, con el fin de definir procedimientos y estándares para el desarrollo de las BPA. Algunos grandes minoristas exigieron que sus proveedores fueran acreditados por EUREPGAP en el 2004, sin embargo, otros no han fijado fecha de cumplimiento (EUREPGAP, 2003).

El MIP también es considerado un requisito de cumplimiento no obligatorio, pero puede derivar en trabas comerciales si se fijan criterios específicos para su cumplimiento, tales como establecer métodos de muestreo de las poblaciones de insectos, sistemas de análisis de la dinámica poblacional y tipo y forma de uso de plaguicidas. (Galperín y Pérez, 2003).

El cumplimiento de estos requisitos ha planteado en el sector frutícola nacional el desafío técnico de replantear el manejo sanitario, y por ende el ambiental, para poder insertarse en los mercados de la UE y EE.UU.

La incorporación del CpGV en los sistemas de producción para el control de carpocapsa representa una herramienta ideal para alcanzar los estándares sanitarios requeridos.

Por lo tanto, el presente trabajo se origina en la necesidad de generar conocimientos que contribuyan a establecer estrategias para la implementación y adopción de CARPOVIRUS Plus en los programas de manejo de carpocapsa en diferentes sistemas de producción, bajo el precepto de que la producción agrícola debe proteger el valor intrínseco de los recursos naturales cuando se decide respecto al control de plagas.

En consecuencia, se planificaron investigaciones de experimentación adaptativa, dirigidas a evaluar la eficacia y la persistencia del CpGV, contribuyendo al diseño de estrategias válidas para distintos sistemas de producción en áreas claves.

## **7- Desarrollo de la Tesis**

### **7.1- Hipótesis**

El insecticida biológico, CARPOVIRUS Plus es un producto fitosanitario que puede ser incorporado en los diferentes sistemas de producción de frutales de pepita en la Argentina, sea en forma exclusiva o complementaria de productos químicos, u otros biológicos para la regulación satisfactoria de poblaciones de carpocapsa.

### **7.2- Objetivos generales**

- I- Evaluar la eficacia del insecticida biológico CARPOVIRUS Plus en montes comerciales de pera, manzana y nogal
- II- Determinar la persistencia
- III- Diseñar estrategias de uso para diferentes sistemas de manejo de carpocapsa, bajo las condiciones climáticas y de presión de plaga de la Argentina.

## **8.- Evaluación de la eficacia del insecticida biológico CARPOVIRUS Plus en montes comerciales de pera, manzana y nogal**

El registro definitivo del insecticida biológico CARPOVIRUS Plus a comienzos del año 2000 brindó al sector frutícola un producto de innovación tecnológica que podía ser incorporado en los sistemas de producción para el control de carpocapsa en montes de pera, manzana y nogal.

La adopción de un producto que se caracteriza por ser especie-específico, que carece de efecto de volteo y actúa por ingestión, implicó el desafío técnico de replantear modalidades de manejo, considerando el modo de acción del virus y la necesidad de contar con monitoreos precisos para determinar los niveles poblacionales de la plaga.

Asimismo, para la incorporación adecuada del producto era necesario establecer recomendaciones de uso ajustadas a las características inherentes a al manejo de los cultivos y a las condiciones ambientales de las distintas zonas de producción de frutales de pepita.

Las prácticas de manejo de estos cultivos en dos regiones agroclimáticas diferentes, revelaron situaciones de partida distintas que requirieron cronogramas de ensayos, con aplicaciones del producto, ajustados a la situación técnica y sanitaria de cada región.

### **Objetivo**

Los ensayos en campo tuvieron como objetivo evaluar la eficacia de CARPOVIRUS Plus para el control de carpocapsa en diferentes sistemas de producción en montes comerciales de pera manzana y nogal, en las Pcias. de Río Negro, Catamarca y La Rioja.

## **8.1-Material y métodos**

Las evaluaciones fueron programadas para realizar durante las campañas comprendidas en el período 2000-2004. En la zona nogalera, los ensayos se condujeron en fincas ubicadas en los valles de Chilecito y Famatina, Pcia. de La Rioja, y en las localidades de Mutquín y Retiro de Colana (Dpto. de Pomán) y El Potrero (Dpto. Andalgalá), Pcia. de Catamarca.

Los ensayos en cultivos de pera y manzana se realizaron en chacras ubicadas en las localidades de General Roca, Maiqué e Ingeniero Huergo, en el Alto Valle del Río Negro.

Cabe aclarar que los elevados costos de los ensayos, sumado a las distancias entre las zonas de producción, requirieron de la colaboración de productores, quienes aportaron equipos y mano de obra, y de técnicos extensionistas para el monitoreo de la plaga y la evaluación de daños en frutos.

### ***A-Zona nogalera.***

En general, tanto en Catamarca como en La Rioja, con frecuencia se registra alta incidencia de carpocapsa debido a deficiencias de los controles efectuados por los productores. Estas insuficiencias tienen su origen en aspectos tales como la utilización de técnicas de control químico solamente; la falta de un sistema de alarma de la plaga; la carencia de estrategias ecocompatibles; la inapropiada oportunidad de tratamientos por desconocimiento de la biología de la plaga, la deficiencia de los equipos de pulverización –mal calibrados, pastillas inadecuadas, falta de mantenimiento de equipos pulverizadores-; conducción inadecuada de los montes –montes libres con plantas que superan los 10 metros de altura- y la falta apoyo técnico para la implementación de estrategias para el control de la plaga.

Para poder definir una nueva estrategia de control de carpocapsa en base a un insecticida viral, era necesario establecer el cronograma de aplicación del virus. Debido a que no existían antecedentes de la eficacia del CpGV en montes de nogal en Argentina y solo algunas pocas referencias de su uso en cultivos de la

región de Lyon, en Francia (Calliope, 1998), se tuvo en cuenta que las características ambientales -marcada heliofanía y altas temperaturas- junto con la elevada densidad de carpocapsa -montes con antecedentes de daño a cosecha en la campaña anterior > 10%-, correspondían a situaciones limitantes de uso del producto. Esos antecedentes indicaban que no debería emplearse como única herramienta de control, según la experiencia lograda en la etapa de desarrollo experimental en montes de manzana en Mendoza. (Quintana y Alvarado, 1998), por lo cual se combinó con técnicas de control químico.

A continuación se presenta un resumen que detalla la situación inicial y los objetivos específicos que tuvieron los ensayos en cada zona de producción evaluada.

### **A1- La Rioja:**

*Situación inicial.* Se observó que las variedades cultivadas con mayor frecuencia eran Criolla, Sorrento y/o Wilson de elevado porte (>20 m), las fincas presentaban en general inadecuado manejo de malezas y hospederos alternativos de carpocapsa como son membrillos y manzanos, que se intercalan con la producción de nogal.

En 1999, un análisis previo de la situación en la zona nogalera de los Valles de Famatina y Chilecito reveló que el 30% de los montes presentaban a fin de primer vuelo niveles elevados de daño en fruto que oscilaban entre el 16 y el 58%. En general, no habían recibido tratamientos químicos. En pocos casos, sólo una aplicación (aérea) o a lo sumo dos (una aérea y otra terrestre) con insecticidas piretroides.

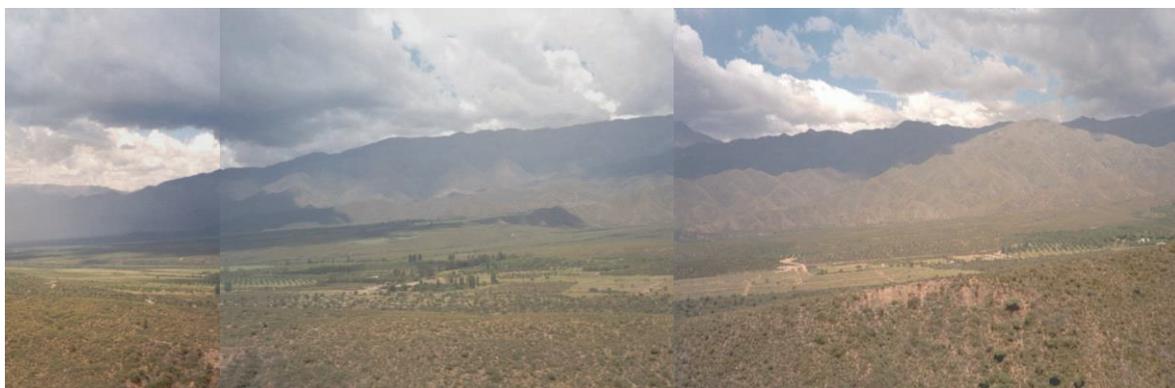
El 28% de las fincas presentaba daños variables entre el 2 y 16%, con 2 y 3 tratamientos (uno siempre aéreo) con productos químicos, con variedades de nuez Criolla y Chandler de porte mediano y manejo de malezas.

El resto de los sitios de producción se podía distribuir en los niveles, bueno y excelente, con porcentajes de daño que variaban entre el 0.5 al 2% y <0.5%,

respectivamente. Estos montes implantados con variedades adaptadas a las condiciones locales, de mejor potencial productivo, recibía adecuado manejo sanitario y cultural (Quintana y Arana, 2000).

*Objetivo específico.* Incorporar el virus como complemento de los insecticidas químicos de uso convencional con el fin de evaluar la eficacia de CARPOVIRUS Plus para controlar la 2ª generación de carpocapsa, luego de disminuir la densidad poblacional de la 1ª generación con aplicaciones de productos químicos (metilazinfos).

Para la ejecución de los ensayos se seleccionaron dos fincas de producción convencional, ubicadas una en la localidad de Sañogasta y la otra en Guanchín, en el Valle de Chilecito (Fig. 18).



**Fig. 18:** Vista panorámica de las fincas ubicadas en el Valle de Chilecito

Las fincas presentaban porcentajes de daño en fruto a cosecha que variaban entre el 2 y 16% en campañas anteriores; con montes de conducción libre, con plantas de porte mediano (entre 5 y 7 m de altura) en los cuadros implantados con variedades Chandler o Franquet y plantas de porte elevado (>10 m) en los lotes con variedad Criolla. En ambos casos se registraba elevada presión de plaga y montes vecinos abandonados.

Los tratamientos de CpGV se iniciaron a mediados de diciembre, de modo coincidente con el fin del primer vuelo de carpocapsa, y se dieron por finalizados a inicios de febrero, con un intervalo de aplicación de 7 a 12 días.

### **Ficha técnica del ensayo**

#### **A1- Montes de nogal con uso de GpGV como complemento de insecticidas químicos**

##### **Características generales:**

- Ubicación del ensayo: Valle de Chilecito, LR
  - 1- Sañogasta: Finca Pampa Huasi (Cuadros N° 8 y 10)
  - 2- Guanchín: Finca Alfredo Martínez (Cuadros N° 4 y 5) (Fig. 19)
- Superficie bajo ensayo: 2 ha /cuadro
- Especie cultivada: Chandler- altura promedio planta: 5-7 m  
Criolla altura promedio planta: 10 m
- Sistema de conducción: libre
- Maquinaria: pulverizadora- atomizadora, 2000 l; Tractor de 75 HP

##### **Monitoreo:**

- Trampas cebadas con feromonas 10X (tipo ISOMATE® 10X)
- Colocación: primera semana de setiembre
- Registro de capturas: 3 veces por semana

Observaciones: Los cambios de pisos se efectuaron de acuerdo al estado de los mismos, como máximo cada 45 días. Los emisores de feromonas se cambiaron cada 30-40 días de acuerdo con la evolución de la temperatura

##### **Tratamientos:**

- **Químico: Q** -MetilAzinfos sobre 1ª generación, 3 tratamientos, intervalo de 15 a 17 días, inicio de tratamiento el 13-10-00
- **Virus: V** -virus- CpGV sobre 2ª generación, 9 tratamientos, intervalo de 7-10 días, inicio tratamiento el 14-12-00. Dosis:  $10^{13}$  GI/ha
- **T**: testigo sin tratamiento



**Fig. 19:** Vista parcial del ensayo en la Finca Martínez en Guanchín, Chilecito.

**A2- Catamarca.** La nogalicultura catamarqueña presenta como características comunes la existencia de minifundios, bajo nivel tecnológico, plantaciones envejecidas con bajos rendimientos y en su mayoría de la variedad criolla. Más del 90% de los productores poseen predios de 2 ha. de superficie de promedio, siendo las explotaciones de tipo familiar sin infraestructura productiva. Solo cuentan con herramientas manuales y escasa dotación de maquinarias que son de uso comunitario.

El nogal es casi un monocultivo, con plantaciones antiguas con alto grado de heterogeneidad. Un 80% de las mismas están integradas por variedades tipo criolla, caracterizadas por ser de gran tamaño, bajos niveles productivos tanto cualitativos como cuantitativos (rendimientos medios de 700 Kg/ha.), alta susceptibilidad varietal a plagas y enfermedades. Tienen altos porcentajes de pérdidas de frutos (hasta un 80%) por problemas sanitarios, principalmente por la presencia de *C. pomonella*.

Para la ejecución de los ensayos se seleccionaron fincas de pequeños productores en cada una de las localidades: dos fincas en El Potrero, Depto. de

Andalgalá; tres fincas en Mutquín y 2 fincas en Retiro de Colana, en el Dpto. de Pomán, totalizando una superficie de 14 hectáreas bajo ensayo (Fig 20).

Los montes registraban poblaciones de carpocapsa muy elevadas en las campañas anteriores (pérdidas a cosecha >20%), que permitían anticipar una marcada presión de la plaga, en especial durante el primer vuelo. A este panorama se sumaba la falta de antecedentes del uso del CpGV en nogal y la certeza de que las condiciones climáticas eran límites para el empleo de este tipo de producto.

Por lo tanto, las estrategias planteadas se orientaron a evaluar la eficacia de CARPOVIRUS Plus como única herramienta de control con cobertura completa y como complemento de insecticidas químicos para el control de la segunda generación de carpocapsa en fincas de escasa superficie y, en su mayoría, rodeadas por lotes vecinos con escasos o nulos tratamientos para el control de carpocapsa, que representaban el riesgo de una fuente constante de migración de hembras fecundadas.

*Determinación de inicio y oportunidad de tratamiento:* El momento del inicio de los tratamientos se determinó en base a las primeras capturas consecutivas de adultos machos en trampas cebadas con feromonas colocadas a mediados de setiembre.

*Registro de daño:* En todos los ensayos se realizaron evaluaciones para determinar el porcentaje de frutos afectados por carpocapsa en dos momentos, a "fin de primer vuelo", 500 frutos con corte de 100 y "a cosecha", 1000 a 1500 frutos con corte de 500. Para la recolección los frutos en cada parcela se eliminaron las borduras y se determinaron 10 estaciones. En cada una se colocó un cajón que recibió fruta perteneciente a 3 árboles ubicados alrededor de dicha estación. Por cada árbol se recolectaron, de todas las alturas y al azar, entre 50 y 100 frutos, según el momento de la evaluación.



**Fig. 20:** Vista panorámica de los ensayos en El Potrero, Andalgalá

### **Ficha técnica del ensayo**

#### **A2.1-Montes de nogal con uso de CpGV como única herramienta de control de carpocapsa**

##### **Características generales:**

- Ubicación del ensayo:
  - 1-Depto. de Pomán
    - Mutquín: Finca El Potro
    - Retiro de Colana: Finca Nieva
  - 2- Depto. de Andalgalá:
    - El Potrero: Finca Don Pedro (Fig.20 )
- Superficie: 3 ha /cuadro/finca
- Especie-variedad: injertos adultos de Chandler-
- Sistema de conducción: libre    Altura plantas: 5 -7 m
- Maquinaria: pulverizadora de arrastre de 600 l; Tractor de 75 HP

- Colocación de trampas: primera semana de setiembre
- Registro de capturas: 3 veces por semana

Observaciones: Los cambios de pisos se efectuaron de acuerdo al estado de los mismos, como máximo cada 45 días. Los emisores de feromonas se cambiaron cada 30-40 días de acuerdo con la evolución de la temperatura

### **Tratamientos:**

- **Virus: V:** CpGV cobertura completa 2<sup>a</sup> generación; 9 tratamientos, intervalo de 7-10 días, inicio tratamiento el 9-10-01.
- Dosis: 10<sup>13</sup> GI/Ha
- **Testigo: T-** sin tratamiento



**Fig. 21:** Vista del cultivo en Finca Don Pedro, El Potrero, Andalgalá

## **A2.2- Montes de nogal con uso de GpGV como complemento de insecticidas químicos**

### **Características generales**

- Ubicación del ensayo:

1-Depto. de Pomán

Mutquín: Finca El Potro

Finca Córdoba

Finca Solohaga

Retiro de Colana: Finca Nieva

Finca La Ramonita

2- Depto. de Andalgalá:

El Potrero: Finca Don Pedro

Finca Pedro Nievas

- Superficie: 2 Ha /cuadro/finca
- Especie-variedad: injertos adultos de Chandler, Franquette y criolla
- Sistema de conducción: libre    Altura plantas: 5 -7 m.
- Intervalo de aplicación: Virus 7 a 10 días
- Maquinaria: pulverizadora de arrastre de 600 l; tractor de 75 HP

### **Monitoreo:**

- Trampas cebadas con feromonas 10x (Tipo ISOMATE® 10X)
- Colocación: primera semana de setiembre
- Registro de capturas: 3 veces por semana

Observaciones: Los cambios de pisos se efectuaron de acuerdo al estado de los mismos, como máximo cada 45 días. Los emisores de feromonas se cambiaron cada 30-40 días de acuerdo con la evolución de la temperatura

### **Tratamientos:**

- **Virus: V** - CpGV cobertura completa sobre 1ª y 2ª generación; intervalo entre tratamientos 10 -12 días, inicio pulverizaciones el 9-10-01.
- Dosis: 10<sup>13</sup> GI/ha
- **Testigo: T**- sin tratamiento

## B- Zona de pomáceas

La producción de pomáceas en el Alto Valle del Río Negro se caracteriza por ser una actividad económica sostenida con un alto nivel de tecnificación (Fig. 21).

El control de carpocapsa se basa en la implementación de programas de MIP que tienen por objetivo la obtención de frutos con calidad y sanidad adecuados, con niveles de daño a cosecha <1%.

**Fig. 22:** Vista aérea de los cultivos de pomáceas a lo largo de las márgenes del Río Negro en el Alto Valle



Con el fin de evaluar la eficacia del CpGV durante los años 2000-2004, se condujeron ensayos en fincas de producción convencional y orgánica (PO), los que cubrieron una superficie de aproximadamente 18 has por campaña.

Para la obtención de frutos diferenciados, bloques tradicionalmente tratados con aplicaciones regulares de insecticidas organofosforados –metilazinfos- y que tenían porcentajes de daño a cosecha entre el 5 y 8% en la campaña anterior, fueron tratados con virus a intervalos de 8 días desde octubre hasta los primeros días de marzo. Los mismos se compararon con lotes testigo sin aplicaciones.

En las fincas de PO seleccionadas se condujeron ensayos con tratamientos que combinaron la TCS con aplicaciones de CARPOVIRUS Plus. Lotes con 1000 emisores/Ha (tipo Isomate C) fueron pulverizados con virus a intervalos de 14 días y comparados con lotes con TCS como único tratamiento.

Las aplicaciones de virus comenzaron en octubre y finalizaron a inicios de marzo. Los emisores de feromonas (ISOMATE C®) fueron colocados a fines de setiembre y reemplazados a principio de enero, a razón de 1100 emisores/Ha

Cabe aclarar que estos lotes estaban destinados a la PO desde 1994 y la TCS era la única estrategia de control usada. En las últimas campañas se habían registrado fallas de control, con daños a cosecha que oscilaron entre el 10 y el 40% en algunos lotes.

*Determinación de inicio y oportunidad de tratamiento:* El momento de inicio de los tratamientos se determinó en base a las primeras capturas consecutivas de adultos machos en trampas cebadas con feromonas.

*Registro de daño:* En todos los ensayos se realizaron evaluaciones para determinar el porcentaje de frutos afectados por carpocapsa en dos momentos, a "fin de primer vuelo", 500 frutos con corte de 100 y "a cosecha", 1000 a 1500 frutos con corte de 500. Para la recolección los frutos en cada parcela se eliminaron las borduras y se determinaron 10 estaciones. En cada una se colocó un cajón que recibió fruta perteneciente a 3 árboles ubicados alrededor de dicha estación. Por cada árbol se recolectaron, de todas las alturas y al azar, entre 50 y 100 frutos, según el momento de la evaluación.

## **Ficha técnica de los ensayos**

### **B1-Monte producción orgánica**

#### **Características generales:**

- Ubicación del ensayo: Guerrico- RN:  
Finca La Ribereña (PO desde 1994)
- Superficie del ensayo: 11,6 Has. Lotes N° 1; 2; 3 y 4 y Testigo: Lote N°54
- *Lote 1:*  
Especie: Pera Beurré D'Anjou y Packam's Triumph (15 filas x 16 plantas x variedad). Distancia de plantación: 8 m x 7 m. Sup. neta: 2,70 has
- *Lote 2; 3; 4 y 54:*  
Especie: Pera vars. Williams y Packam's Triumph (15 filas x 15 plantas x variedad). Distancia de plantación: 8 m x 7 m. Sup. neta: 2,5 has
- Maquinaria: pulverizadora FMC 2004 (2000 L). Caudal: 3200 L/ha

- Volumen aplicado por planta: 18 litros. Total volumen aplicado: 8000 L/lote
  - Dosis:  $10^{13}$  GI/Ha (1 L/2000 L).
  - Condiciones de pulverizado: Aplicación nocturna sin viento, con buena humedad ambiente.
  - **Monitoreo:**
  - Trampas cebadas con feromonas 10x (ISOMATE 10X)
  - Colocación: primera semana de setiembre
  - Registro de capturas: 3 veces por semana
- Observaciones: Los cambios de pisos se efectuaron de acuerdo al estado de los mismos, como máximo cada 45 días. Los emisores de feromonas se cambiaron cada 30-40 días de acuerdo con la evolución de la temperatura
- Colocación de fajas de cartón corrugado: Mediados de noviembre (control: observación de 20 fajas cada quince días)

#### Tratamientos:

- **Feromonas + virus: F +V** en los lotes 1; 2, y 3  
**Feromonas: F-** 1100 emisores/ha fin de setiembre e inicios de enero  
**Virus: V-** CARPOVIRUS Plus, 1 L /2000 L (4 L /lote/tratam.), 10 aplicaciones desde inicio diciembre hasta cosecha. Intervalo entre tratamientos 14 días (Fig.22)
- **Testigo: T-** 1100 emisores /ha. Dos aplicaciones: primera semana setiembre y primera quincena de enero.



**Fig. 23:** Aplicación de CpGV en finca La Ribereña, Gral Roca

## **B2- Monte convencional**

- Ubicación del ensayo: Cervantes y Maiqué, RN
- Superficie bajo ensayo: 6 Ha
- Especie-variedad: manzanas Golden; Red delicious; Granny Smith. Distancia de plantación: 4 x 4. Sistema de conducción: espalderas. Altura promedio de las plantas: 4 m.
- Maquinaria: pulverizadora- atomizadora, 2000L; tractor de 75 HP

### **Monitoreo:**

- Trampas cebadas con feromonas 10 x (2/ha) y 1 x (1/ha)  
Colocación: primera semana de setiembre
- Registro de capturas: 2 veces por semana

Observaciones: Los cambios de pisos se efectuaron de acuerdo al estado de los mismos, como máximo cada 45 días. Los emisores de feromonas se cambiaron cada 30-40 días de acuerdo con la evolución de la temperatura

### **Tratamientos:**

- **Químico: Q**- Metil Azinfos (35 gr/Hl/ha)
- **Virus: V**- CARPOVIRUS plus 10<sup>13</sup> GI/ha 1 L /2000 L (4 L /lote/tratam.). Intervalo de aplicación: 7 a 10 días, desde fines de octubre hasta cosecha.
- **Testigo: T**- sin tratamiento.

**Aplicación de virus:** desde fines de octubre hasta los primeros días de marzo

**Análisis estadístico:** En todos los ensayos, a los efectos del análisis estadístico, las provincias y campañas fueron considerados como experimentos por separado en los cuales las fincas hicieron las veces de bloques completos aleatorizados, ya que para cada combinación de provincia, sistema de manejo y campaña, los tratamientos aplicados fueron idénticos en las distintas fincas.

La variable respuesta considerada fue el daño a cosecha (porcentaje de frutos dañados en el momento de la cosecha). Se realizaron análisis de la variancia a dos vías por rangos de Friedman y a posteriori comparaciones no paramétricas con el nivel de significación propuesto ( $p < 0.05$ ). Los procedimientos de comparación se basaron en las medias de los rangos por tratamiento y en la variancia de los rangos según lo descrito por Conover (1999).

### **8.3- Resultados y discusión:**

Como estaba previsto, el monitoreo de la población de carpocapsa con trampas cebadas con feromonas sexuales (tipo ISOMATE 10X) fue utilizado para determinar el inicio y la oportunidad de los tratamientos. Los datos obtenidos pusieron de manifiesto una elevada densidad poblacional de la plaga durante el ciclo de los cultivos que justificó la intervención (Figuras 24 a 27).

En los cuadros 1 a 5 se presentan los resultados de los ensayos detallados de acuerdo con la localidad, el cultivo y el sistema de producción para cada campaña evaluada.

Los requerimientos económicos y operacionales que implicaban la ejecución de los ensayos (ver Material y métodos) fueron determinantes para la continuidad de los mismos, y provocaron la interrupción en las fincas de La Rioja –solo se presentan los resultados de la campaña 2000/01- y la suspensión durante la campaña 2002/03 en Catamarca.

A modo de ilustración se indican los porcentajes de daño a fin de primer vuelo. Si bien este parámetro no se consideró en el análisis estadístico, es un indicador importante de la eficacia de control de la primera generación, en un momento en que aún podrían tomarse decisiones técnicas sobre el manejo sanitario (clase de producto, intervalo de aplicación, dosis, etc.) si los niveles de daño fueran detectables o elevados ( $> 2\%$ ).

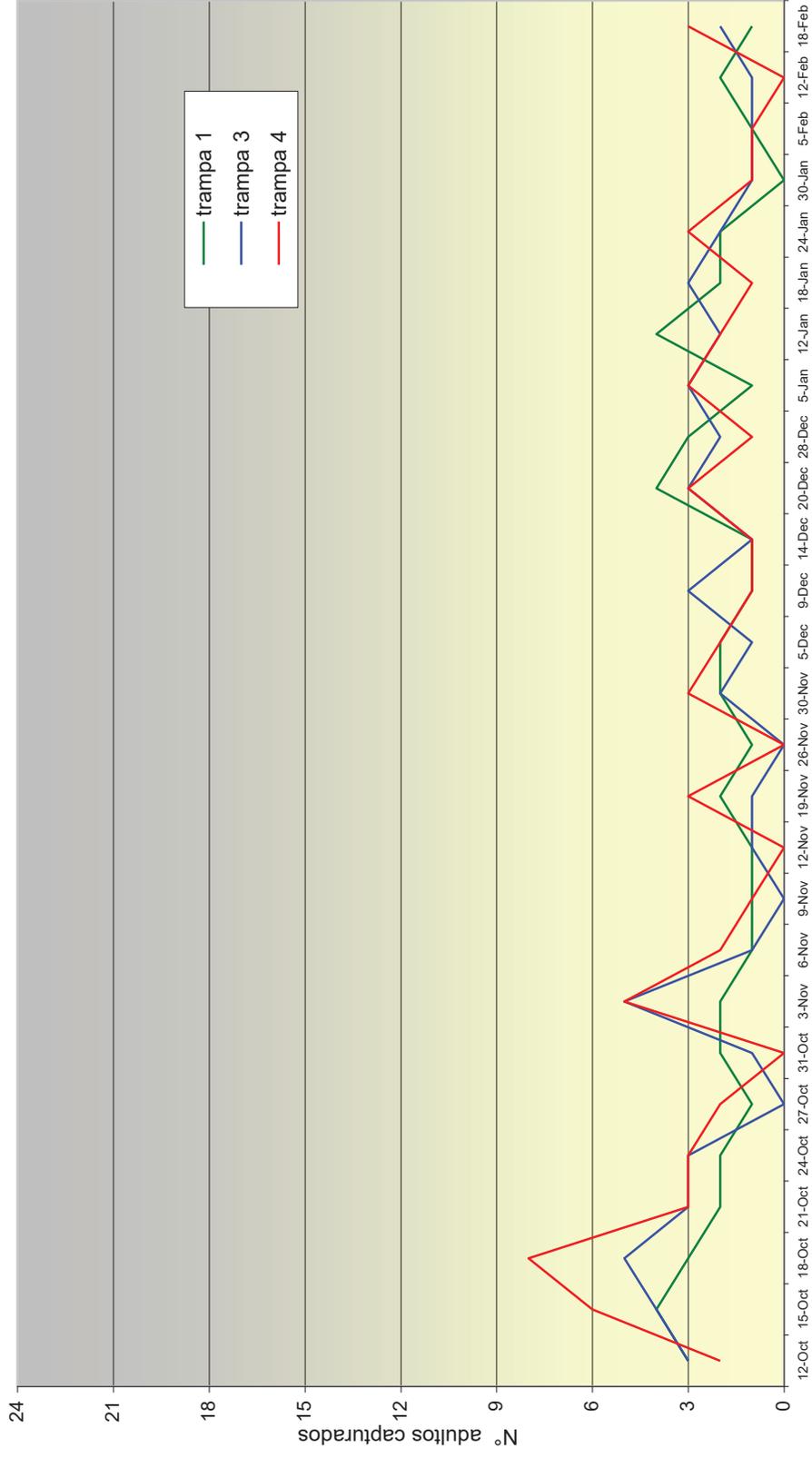
#### **A- Zona nogalera:**

Los resultados de la evaluación de la eficacia del CpGV en montes comerciales de nogal constituyeron las primeras estimaciones para el cultivo en Argentina y formaron parte de la información presentada ante el SENASA para la ampliación de uso del agente microbiológico y, por ende, del producto comercial, que hasta el año 2001 sólo estaban registrados para el control de carpocapsa en cultivos de pera y manzana.

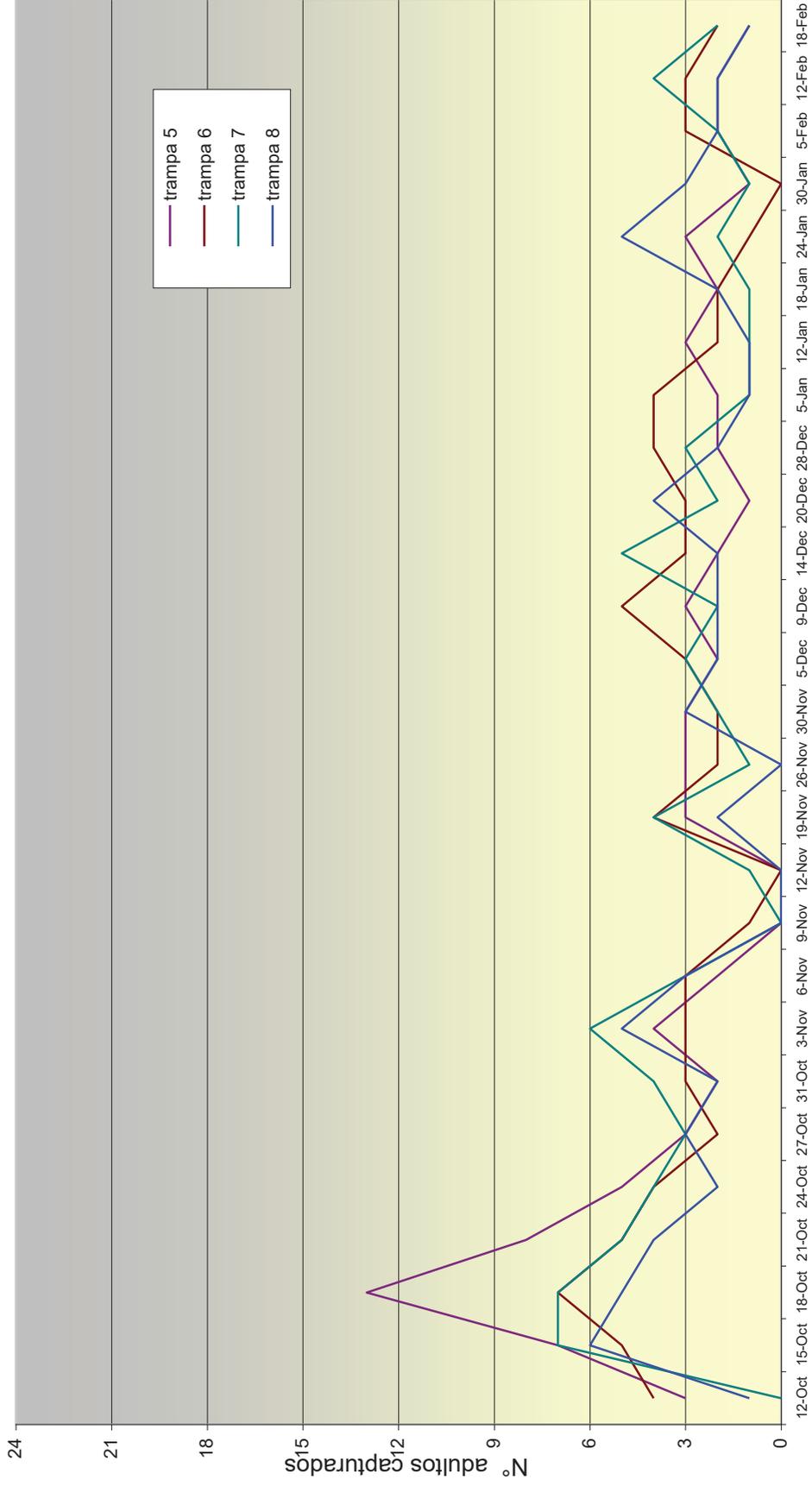
## **A1- La Rioja**

### **- Montes de nogal con uso de CpGV como complemento de insecticidas químicos**

*Monitoreo de la plaga.* El registro de las capturas de machos de carpocapsa en trampas cebadas con feromonas fue una herramienta fundamental para determinar la dinámica poblacional de la plaga y la oportunidad de tratamientos. Se registró elevada presión de la plaga durante todo el ciclo del cultivo en ambas localidades lo cual justificó la intervención con medidas de control. En las Figuras 24 y 25 se presentan las curvas de vuelo para cada una de las fincas evaluadas.



**Fig. 24:** Curva de capturas de *C.pomonella*, Finca Pampa Huasi, Sañogasta Campaña 2000/2001



**Fig. 25:** Curva de capturas de *C.pomonella*, Finca Alfredo Martínez, Guanchín. Campaña 2000/2001

En esta provincia, los resultados de los ensayos no arrojaron diferencias significativas entre los tratamientos con productos químicos de uso convencional versus las aplicaciones de productos químicos seguidos de CpGV o las aplicaciones de CpGV como única herramienta de control. Sí hubo diferencias significativas cuando se compararon con los testigos (Cuadro 1). Estos datos alentarían las expectativas de los productores para la incorporación del virus en los esquemas de control de carpocapsa.

Por otra parte, las evaluaciones de daño no constituían prácticas habituales en la región, por lo que los productores pudieron observar la importancia de las mismas para evaluar la eficacia de los tratamientos de control de carpocapsa sobre la primera generación y en la determinación de las pérdidas de frutos a cosecha.

**Cuadro 1:** Evaluación de daño a fin de primer vuelo y a cosecha en montes comerciales de nogal en Guanchín y Sañogasta, La Rioja. Campaña 2000-01.

Localidad	Finca	Tratamiento	% frutos dañados	
			Fin primer vuelo	A cosecha*
Sañogasta	Pampa Huasi	Químico+ Virus	0	0.22 <i>b</i>
		Químico	0	0.60 <i>b</i>
		Testigo	8.2	18.3 <i>a</i>
Guanchín	Alfredo Martinez	Químico+ Virus	1	0.75 <i>b</i>
		Químico	1	1.85 <i>b</i>
		Testigo	10.6	23.6 <i>a</i>

\*Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ )

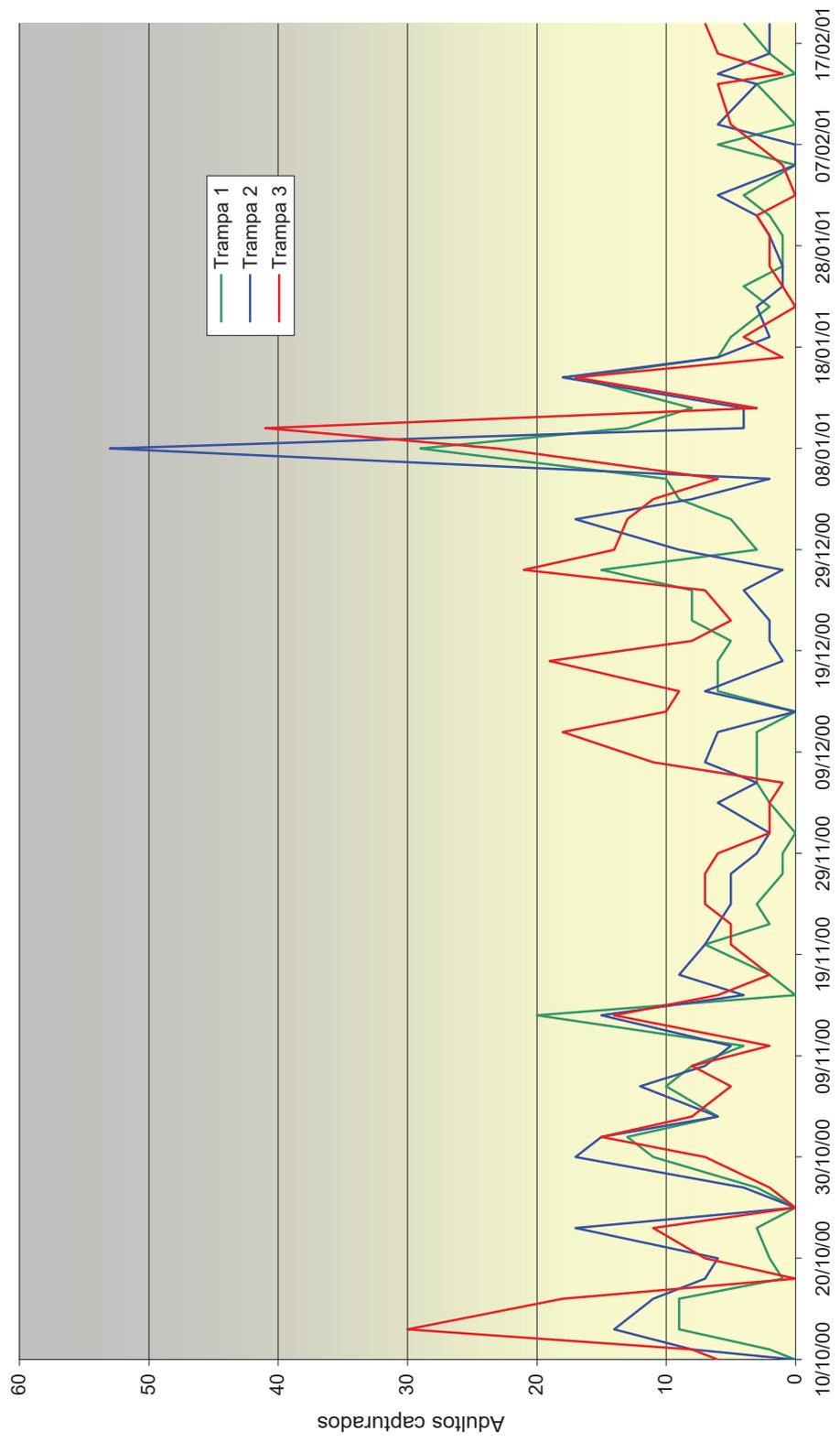
Si bien, el porcentaje de frutos dañados a cosecha arrojó valores estadísticamente diferentes entre sitios ( $p < 0.0377$ , ver anexo I), lo que se explica por la diferencia de presión de la plaga ejercida en una y otra localidad,

el CpGV, mantuvo su eficacia de control de carpocapsa, con porcentajes de daño en fruto a cosecha < 1%.

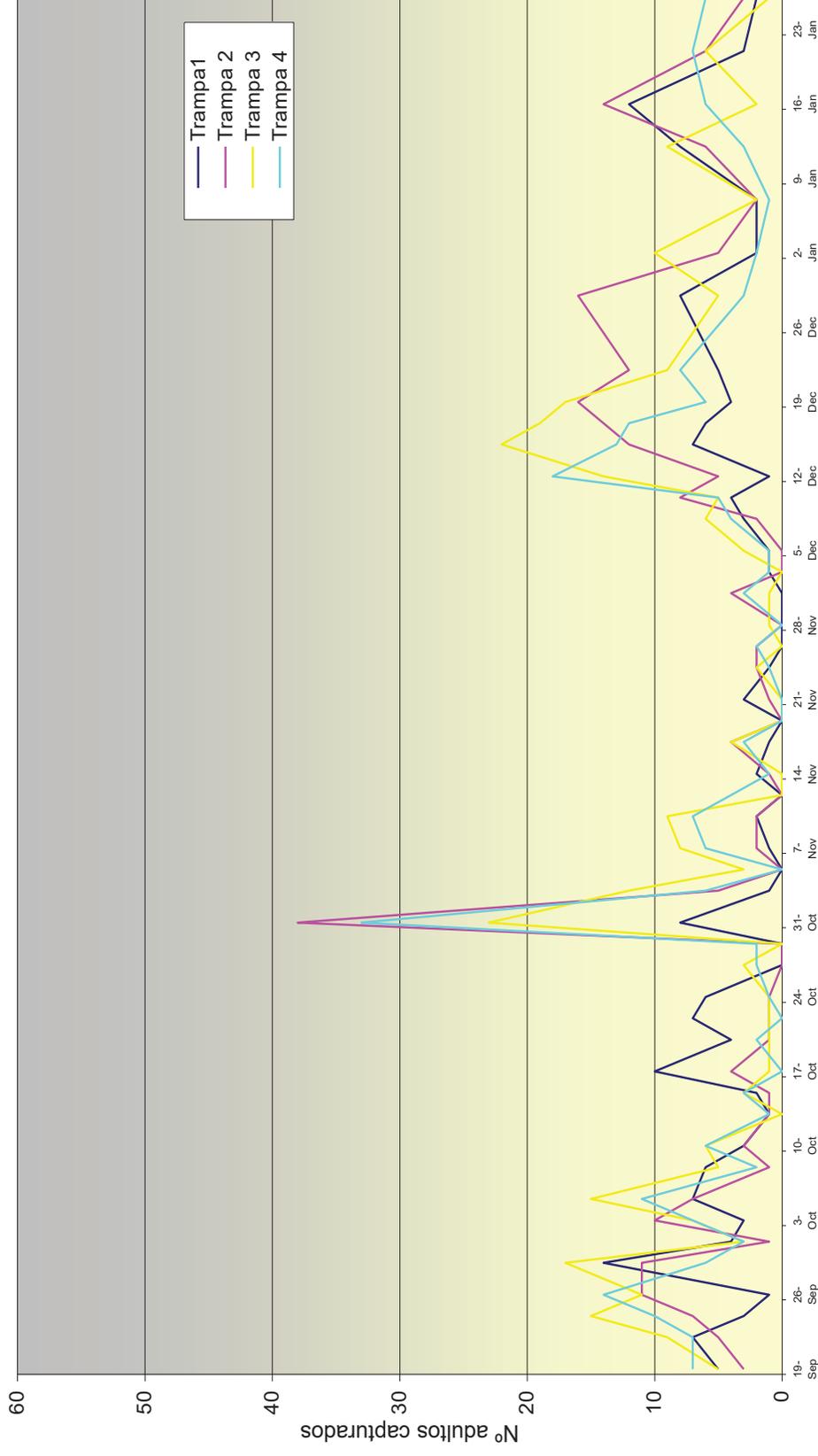
## **A2- Catamarca**

*Monitoreo de la plaga.* El monitoreo de dinámica poblacional *C. pomonella* permitió determinar el momento de inicio de las aplicaciones de los productos. Se observaron altos niveles poblacionales en la localidad de Mutquín y menores en Colana y Potrero.

El número de adultos capturados alcanzó valores superiores a los observados en las fincas de las localidades evaluadas en La Rioja, con variaciones entre 20 y 90 adultos acumulados en tres observaciones consecutivas (Figs. 26 y 27), lo que indicó la elevada presión ejercida por las poblaciones de carpocapsa en la región.



**Fig. 26:** Curvas de capturas de *C.pomonella*. Andalgalá. Campaña 2000/2001



**Fig. 27:** Curvas de capturas de *C.pomonella*, Pomán. Campaña 2003/2004

De modo similar a lo registrado en los ensayos realizados en La Rioja, el análisis de los resultados no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos con productos químicos de uso convencional versus las aplicaciones de productos químicos seguidos de CpGV o las aplicaciones de CpGV como única herramienta de control. Sí hubo diferencias significativas cuando se compararon con los testigos.

### A2.1- Montes de nogal con uso de CpGV como única herramienta

En el cuadro 2 se detallan los resultados de las evaluaciones de la eficacia del virus como única estrategia de control.

**Cuadro 2:** Evaluación de daño en frutos a fin de primer vuelo y a cosecha en montes de nogal con CpGV como única herramienta. Catamarca, campañas 2001-2002 y 2003-2004

Localidad	Finca	Tratamiento	% Frutos dañados	
			Fin de 1er vuelo	A cosecha*
<b>Campaña 2001-2002</b>				
Mutquín, Pomán	El Potro	Virus	1,71%	0,79 b
		Testigo s/t	36,50%	38,8 a
Retirode Colana Poman	Nieva	<b>Virus</b>	1.45	0,68 b
		Testigo	10.2	40.4 a
El potrero Andalgalá	Don Pedro	<b>Virus</b>	0.34	0,3 b
		Testigo	16.25	29,7 a
<b>Campaña 2003-2004</b>				
Mutquín, Pomán	El Potro	Virus	0.20	0.35 b
		Testigo s/t	35.93	48.50 a
Retirode Colana Poman	Nieva	Virus	0.35	0.70 b
		Testigo	5.90	11.00 a
El potrero Andalgalá	Don Pedro	Virus	1.38	0.10 b
		Testigo	7.00	14.50 a

\* Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos (p<0.05)

Cuando el CpGV se aplicó como única herramienta de control con intervalos entre 10 y 12 días entre tratamientos, los niveles de daño a cosecha oscilaron entre el 0.3 y el 0.7%. Estos valores fueron similares a los alcanzados a fin del primer vuelo de carpocapsa. En los lotes testigo los porcentajes no solo arrojaron diferencias con el virus, sino que evidenciaron un marcado incremento con respecto a los valores estimados a fin del primer vuelo, con variaciones entre 11 y 48.5% debido a la marcada y sostenida presión de la plaga.

### **A2.2- Montes con uso de CpGV como complemento de insecticidas químicos**

La combinación de insecticida químico para la 1ª generación más CpGV para la 2ª, mostró elevada eficacia para mantener los niveles de daño por debajo del 2% a cosecha en siete de las ocho parcelas que recibieron este tratamiento, valor altamente satisfactorio si se lo compara con los testigos, cuyos porcentajes de daño en fruto oscilaron entre el 50 y 80%. Sólo en un lote el daño para el tratamiento con virus fue >2% (3,45).

En general, las diferencias observadas dentro de los tratamientos se correspondieron con la heterogeneidad varietal en la composición de los montes frutales. A esto se sumó, la presencia de frutales de pepita (principalmente membrillo) intercalados en el cultivo o rodeando los lotes y la existencia de fincas vecinas sin tratamiento que sirvieron de canal de emigración de hembras fecundadas hacia los lotes bajo ensayo.

En el Cuadro 3 se indican los resultados obtenidos.

**Cuadro 3:** Evaluación de daño a fin de primer vuelo y a cosecha en montes comerciales de nogal de CpGV como complemento de insecticidas químicos. Catamarca, campaña 2001-2002 y campaña 2003-2004

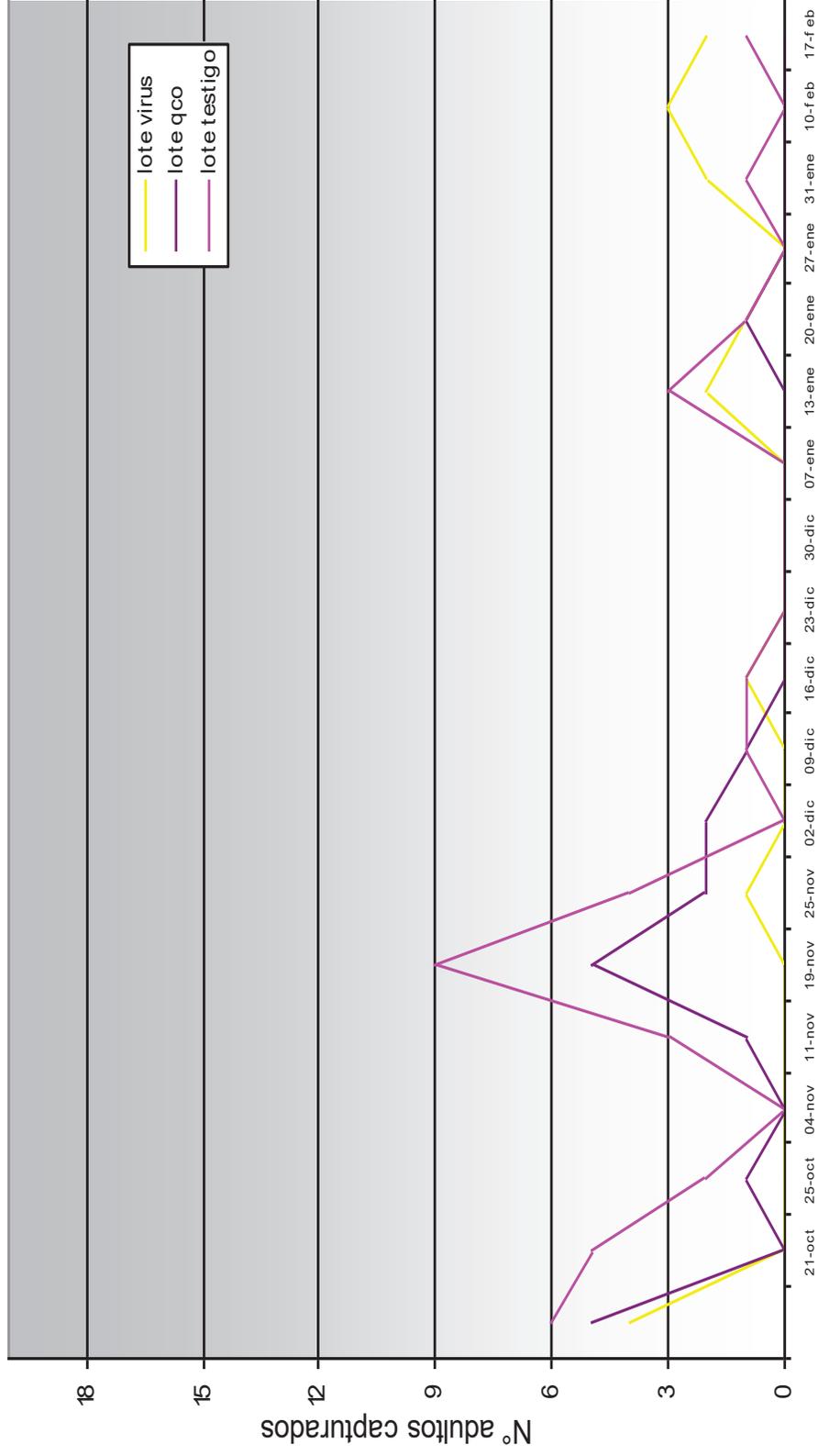
Localidad	Finca	Tratamiento	% Frutos dañados	
			Fin de 1er vuelo	A cosecha
<b>Campaña 2001-2002</b>				
	Córdoba	Qco 1ª generación + Virus 2ª.	0,11%	0,3 b
		Químico	0,60%	0,39 b
	Mutquín Pomán	testigo	28.3	40.3 a
	Solohaga	Qco 1ª generación + Virus 2ª.	0,38%	1,24 b
		Testigo (Blanco)	39,13%	51,76 a
El Potrero Andalgalá	Martinez	Qco 1ª generación + Virus 2ª.	0,10%	0,4 b
		Testigo (2)	7,33%	46 a
<b>Campaña 2003-2004</b>				
	La Ramonita	Qco 1ª generación + Virus 2ª.	0.38	0.09 b
		Qco 1ra. Generación + Virus 2ª	0.10	0.08 b
	Mutquín	Químico	0.27	1.80 b
		testigo	9.22	13.66 a
	Solohaga	Qco 1ª generación + Virus 2ª.	1.90	3.45 b
		Testigo	4.07	8.20 a
Retiro de Colana	Martinez	Qco 1ª generación + Virus 2ª.	0.80	1.60 b
		Químico (2)	5.50	10.23 ab
		testigo	11.3	20.3 a

\* Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0.05$ )

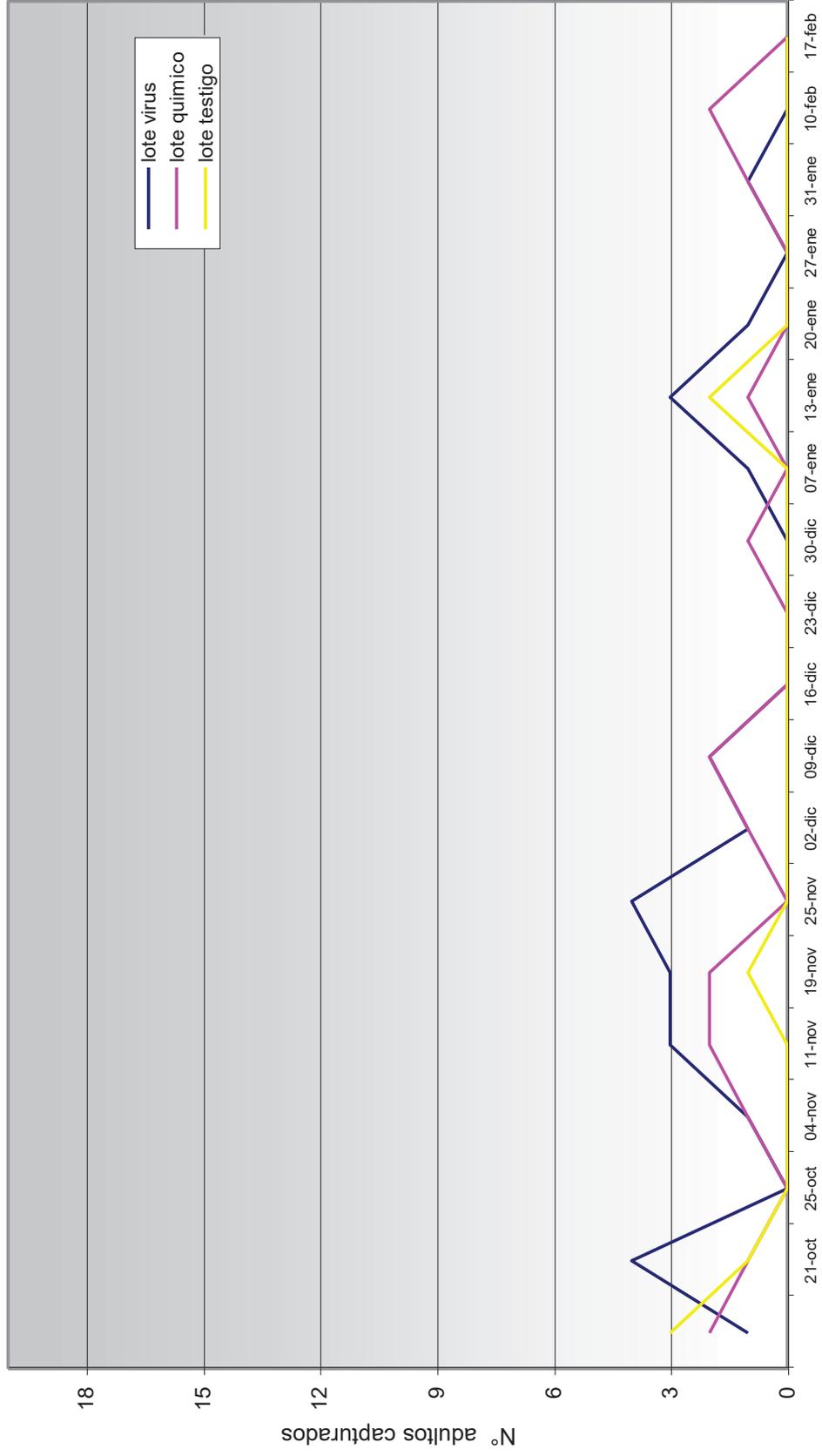
## **B- Zona de pomáceas**

*Monitoreo de la plaga:* A diferencia de la zona nogalera, los productores del Alto Valle cuentan con un sistema de alarma para carpocapsa que los mantiene informados sobre la evolución de la población. La información es suministrada por la EEA INTA Alto Valle y cumple un papel estratégico en la toma de decisiones para el control de la plaga. No obstante ello, el monitoreo con trampas con feromonas 1X (tipo Isomate) a nivel de las fincas permite ajustar el inicio y la oportunidad de los tratamientos con precisión.

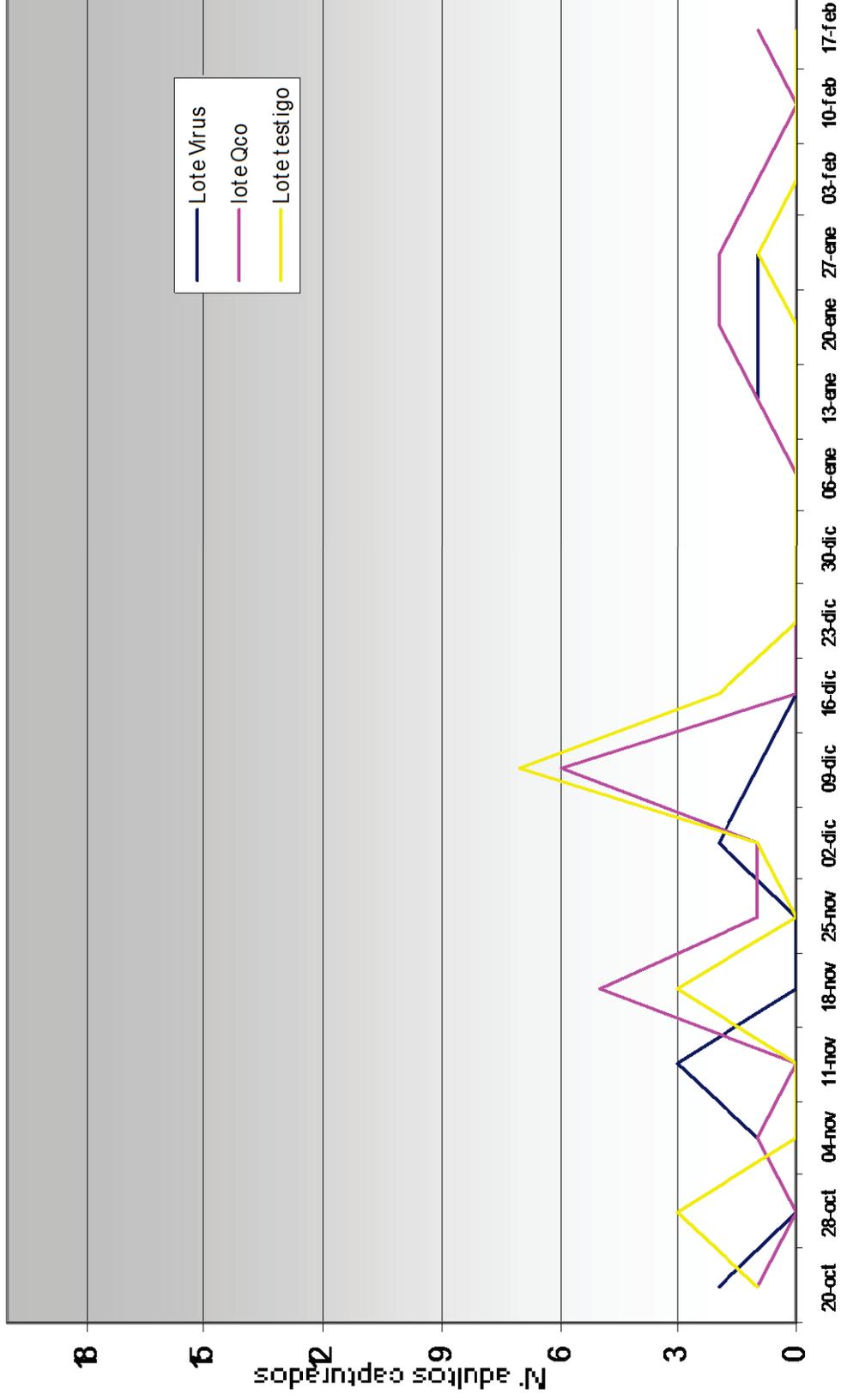
En todos los ensayos realizados el registro de las capturas de adultos en las trampas demostró la necesidad de efectuar medidas de control. Con el fin de ilustrar la evolución promedio de la población de carpocapsa en las fincas bajo ensayo se presentan alguna de las curvas de vuelo obtenidas (Figs. 28 a 31).



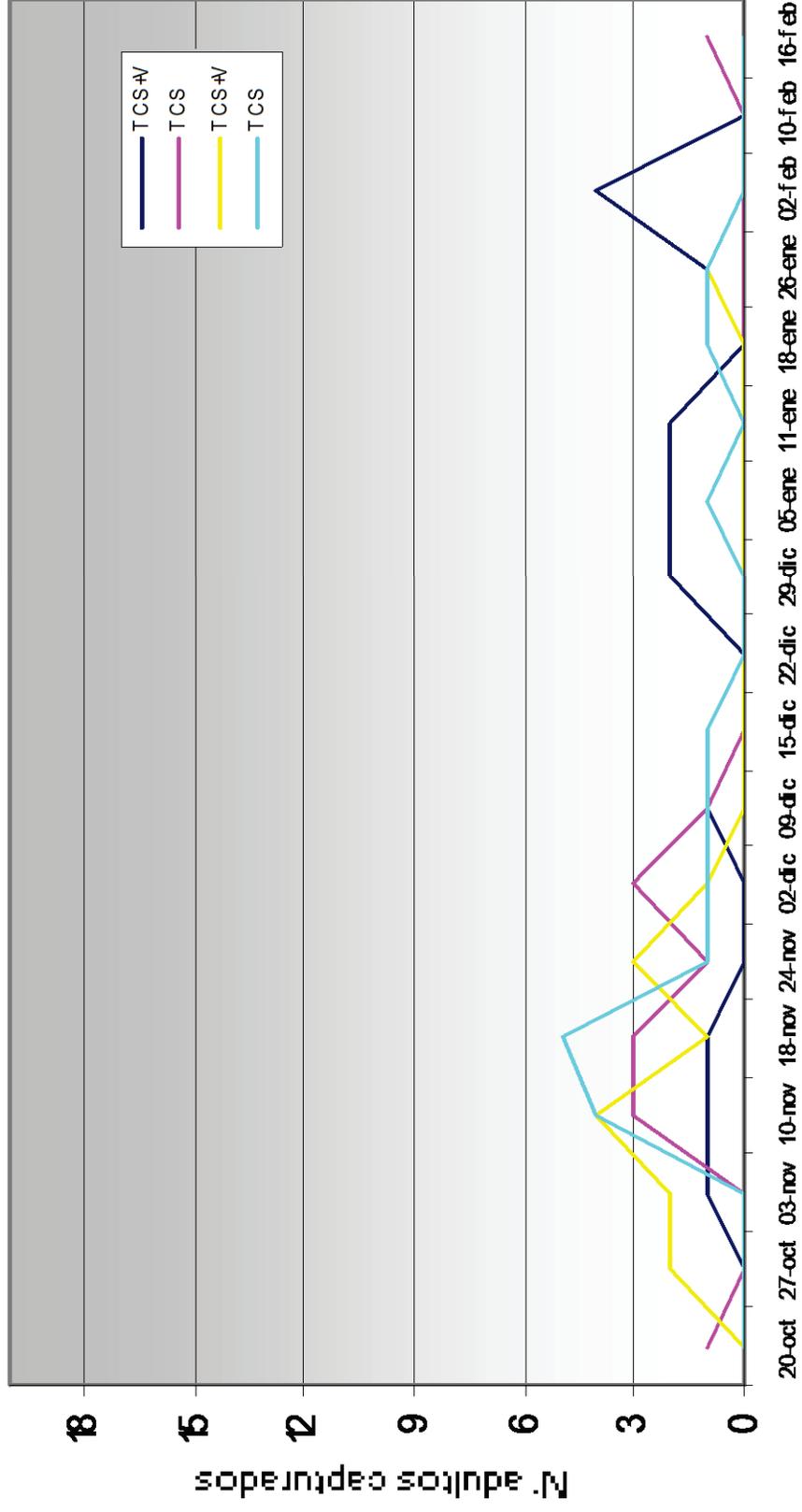
**Fig. 28:** Curvas de captura de *C. pomonella* PFI Alto Valle. Campaña 2000/2001



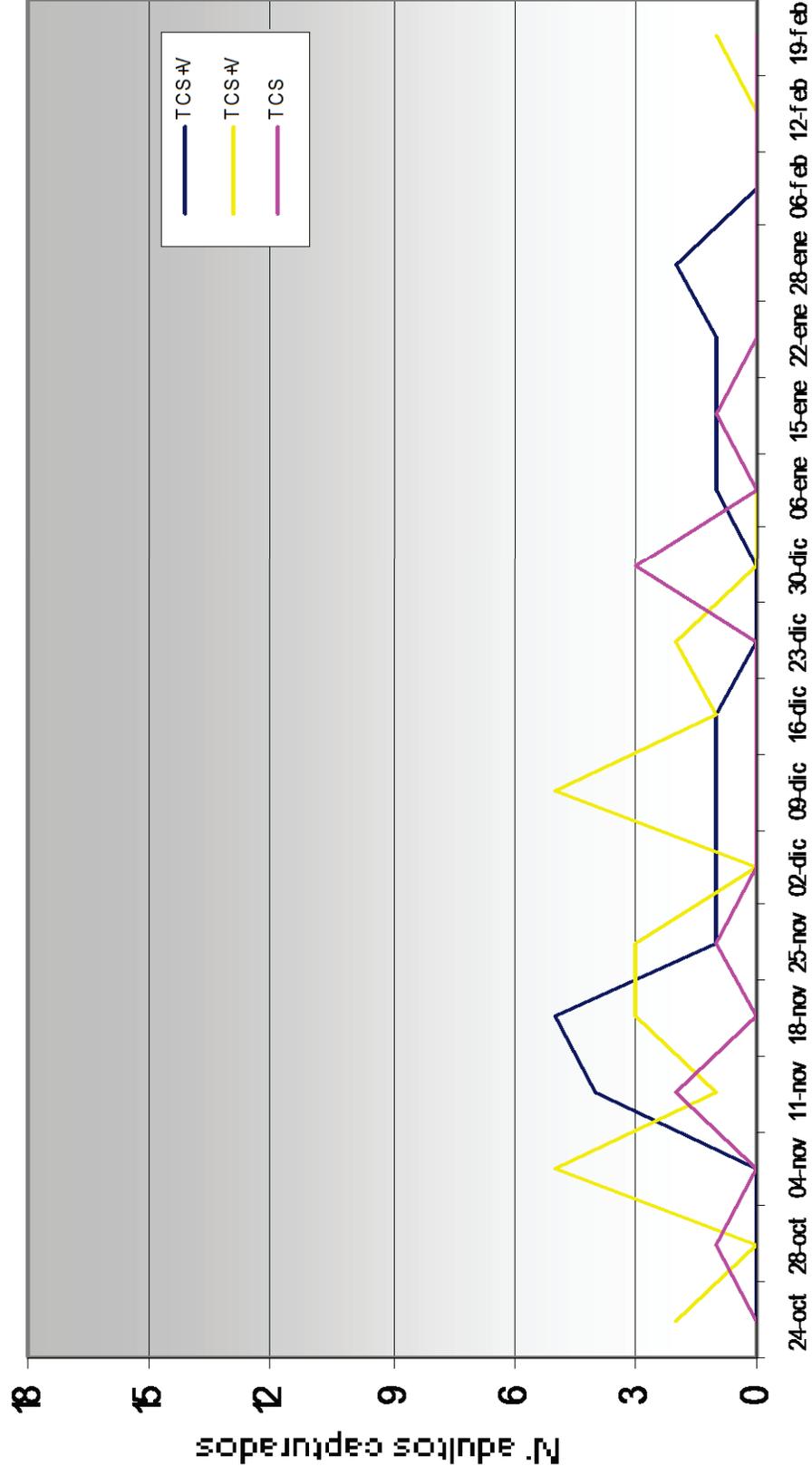
**Fig. 29:** Curvas de captura de *C. pomonella* PFI Alto Valle. Campaña 2002/2003



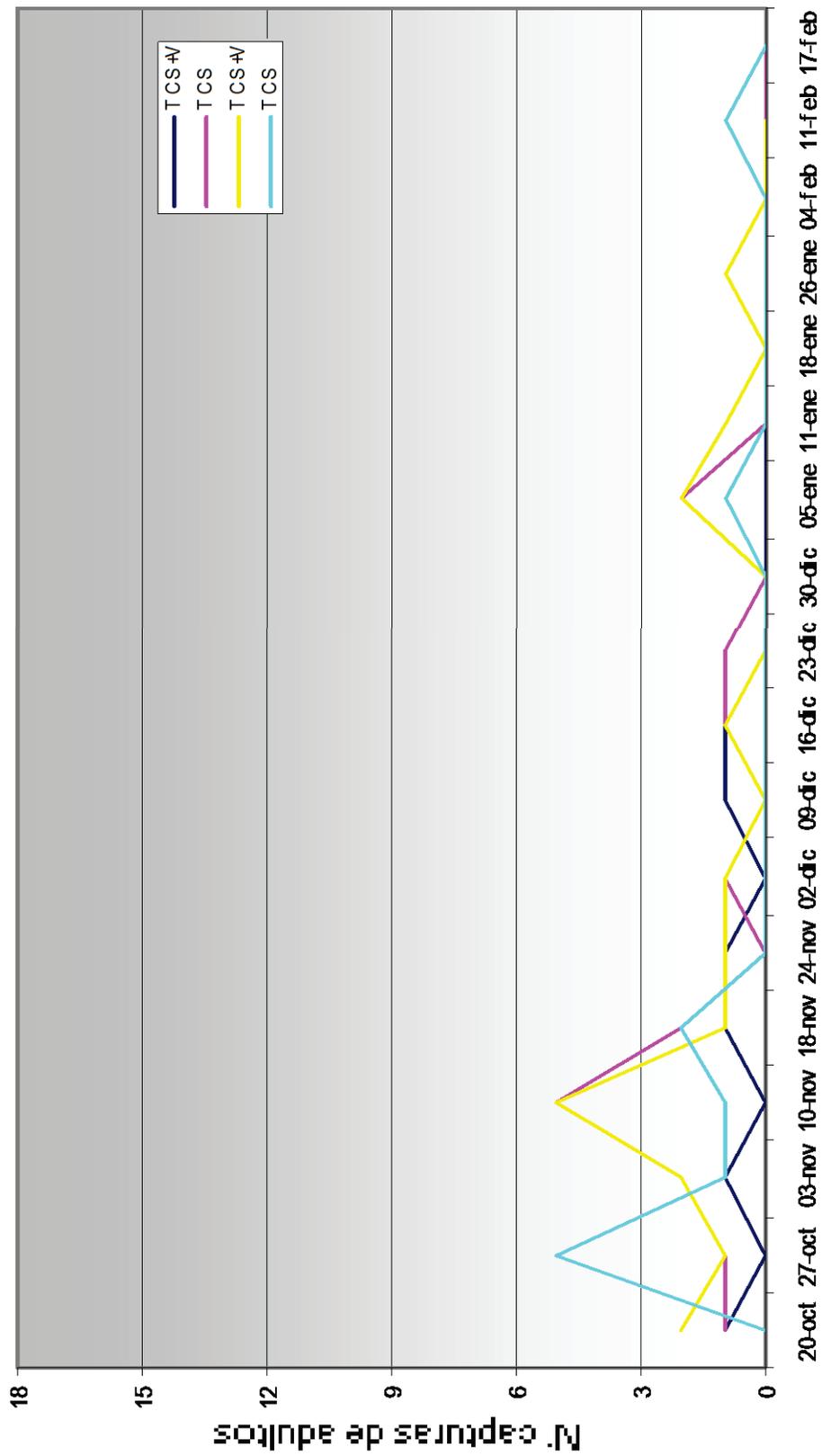
**Fig. 30:** Curvas de captura de *C. pomonella* PFI Alto Valle. Campaña 2002/2003



**Fig. 31:** Curvas de captura de *C. pomonella* PO Alto Valle. Campaña 2001-2002



**Fig. 32:** Curvas de captura de *C. pomonella* PO Alto Valle. Campaña 2002-2003



**Fig. 33:** Curvas de captura de *C. pomonella* PO Alto Valle. Campaña 2003-2004

## B1- Montes de PFI

En los lotes con PFI se observaron diferencias significativas entre el testigo sin tratamiento y el CpGV aplicado a intervalos de 8 días, con un nivel de daño a cosecha en fruto que varió entre el 7 y 18% y el 0 y 3%, respectivamente. No hubo diferencias significativas cuando se comparó el virus con el producto químico (Cuadro 4).

**Cuadro 4:** Evaluación de daño en montes comerciales de manzana en Alto Valle, campañas 2000-2001; 2001- 2002; 2002-2003 y 2003-2004.

Variedad	Tratamiento	<u>% de frutos dañados</u>	
		Fin de primer vuelo	A cosecha
<b>Campaña 2000-2001</b>			
Red Delicious	Virus / 8 días	0.8	2.5 b
	Químicos	0.9	2 b
	Testigo	3.0	8.26 a
<b>Campaña 2001-2002</b>			
Granny Smith	Virus / 8 días	1.2	3.4 b
	Químicos	0.96	2.2 b
	Testigo	3.6	7.86 a
Red Delicious	Virus/ 8 días	1.2	3.2 b
	Químicos	1.3	3.0 b
	Testigo	4.56	18.3 a
<b>Campaña 2002-2003</b>			
Granny Smith	Virus/8 días	0.0	0.0 b
	Químicos	0.3	1.24 b
	Testigo	3.7	7.22 a

\* Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos (p<0.05)

Estos tres años de ensayos indicaron que bajo el sistema de PFI los tratamientos con virus aplicados cada 8 días (7-10 aplicaciones por año)

arrojaron resultados similares a los obtenidos con los productos químicos de uso convencional para el control de carpocapsa en el Alto Valle. Esta información es coincidente con los datos aportados por Lacey *et al.* (2003), que arrojaron fuerte evidencia sobre la eficacia de las aplicaciones de virus en montes de manzana cuando se realizaron en el momento oportuno contra los picos de carpocapsa. En todos los casos, donde la 1ª generación fue el blanco, el daño en fruto fue reducido o eliminado en la 2da generación.

Por otra parte contrastan con los resultados obtenidos por Stará y Koucorek (2003) que estimaron que la eficacia del CpGV para reducir la densidad poblacional de carpocapsa osciló entre 75.5 y 96%, cuando se comparó con aplicaciones de teflubenzuron, que arrojó valores entre 90.8% y 97.5% de control. Los autores destacaron que el tratamiento fue más efectivo en la reducción de la densidad poblacional que en la reducción de daño en fruto cuando el CpGV se aplicó entre 3 y 5 veces por año. Esto permite inferir que la frecuencia de las aplicaciones fue limitante para la correcta protección de los frutos, ya que evaluaciones realizadas por Polesny (2000) demostraron que el virus fue eficaz en el control de carpocapsa cuando se aplicó a intervalos semanales, de modo contrario, no fue satisfactorio cuando las aplicaciones se hicieron cada dos semanas.

## **B2- Montes de PO**

Los ensayos conducidos en los lotes de PO demostraron que la asociación de la TCS con aplicaciones de CpGV cada catorce días fue eficaz para controlar el daño de carpocapsa, con porcentajes de daño en fruto a cosecha que oscilaron entre el 0 y 1%. Estos arrojaron diferencias significativas ( $p < 0.017$ , ver Anexo I) cuando se los comparó con la TCS como único tratamiento, en donde se registraron valores que fluctuaron entre el 7.4 y el 15.6% (Cuadro 5).

**Cuadro 5** Evaluación de daño en montes comerciales de manzana en Alto Valle, campañas 2001- 2002; 2002-2003 y 2003-2004.

Variedad	Tratamiento	% de frutos dañados	
		Fin de primer vuelo	A cosecha
<b>Campaña 2001-2002</b>			
Packham 's Triumph	TCS	5.2	12.2 a
	TCS-Virus /14 días	0.0	0.22 b
	TCS	3.6	9.06 a
	TCS-Virus /14 días	0.0	0.3 b
Red delicious	TCS	2.3	7.46 a
	TCS-Virus /14 días	0.0	0.3 b
	TCS	4.78	15.6 a
	TCS-Virus /14 días	0.0	0.0 b
Royal Gala	TCS	3.52	6.3 a
	TCS-Virus /14 días	0.0	0,00 b
<b>Campaña 2002-2003</b>			
Packam's	TCS	4.6	9.82 a
	TCS-Virus /14 días	0.12	0,36 b
	TCS	3.86	10,3 a
	TCS-Virus /14 días	0.45	1,02 b
Red Delicious	TCS	5.6	9.7 a
	TCS-Virus /14 días	0.0	0,00 b
	TCS	3.68	7.8 a
	TCS-Virus /14 días	0.16	0,61 b
	TCS	2.69	7.3 a
	TCS-Virus /14 días	0.0	0,28 b
<b>Campaña 2003-2004</b>			
Packam's	TCS	2.8	5.30 a
	TCS-Virus /14 días	0.0	0.00 b
	TCS	3.6	7.32 a
	TCS-Virus /14 días	0.0	0.00 b
Red Delicious	TCS	2.3	5.52 a
	TCS-Virus /14 días	0.0	0.00 b
	TCS	2.89	6.00 a
	TCS-Virus /14 días	0.0	0.00 b
	TCS	1.23	3.60 a
	TCS-Virus /14 días	0.0	0.00 b

\* Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos (p<0.05)

Los trabajos disponibles en cultivos comerciales de PO solo han evaluado el uso del CpGV como única herramienta de control. En este sentido, Keith *et al.* (2003) evaluaron la eficacia del virus en el marco de un proyecto de PO de 270 acres de cultivos comerciales de manzana en Washintong State, EE.UU., y observaron que el tratamiento no redujo el daño en frutos en relación al testigo sin tratamiento, pero sí disminuyó de manera significativa el número de larvas sobrevivientes que originarían la siguiente generación de carpocapsa. De modo similar, datos de ensayos en Canadá de montes de PO demostraron que las aplicaciones de virus redujeron la entrada de larvas en frutos comparados con lotes orgánicos sin virus. Por otra parte, el daño en fruto en los lotes de PO tratados con virus fue superior que en los lotes con programas de MIP. Las marcas de las entradas, como consecuencia del daño detenido luego de la entrada e inicio de un consumo mínimo, fueron más comunes en las manzanas tratadas con el virus que en las manzanas de los otros lotes. Si bien esta cicatriz bajó la calidad de los fruto, estos mantuvieron su carácter comerciable.

### **9- Evaluación en laboratorio de la persistencia de CARPOVIRUS Plus bajo las condiciones naturales del Alto Valle:**

Un aspecto fundamental en el desarrollo de un bioinsecticida es la obtención de una formulación activa y estandarizada, que permita contar con una concentración adecuada del patógeno y que permanezca viable en el ambiente el mayor tiempo posible.

La estabilidad y la persistencia de los virus entomopatógenos en el hábitat de la plaga son muy importantes ya que son patógenos obligados, por lo cual no se multiplican fuera del tejido del huésped. Ambos parámetros son afectados por factores ambientales bióticos y abióticos. (Jaques, 1985)

La exposición a la luz solar, principalmente a la porción ultravioleta, la temperatura y la humedad, son los principales factores ambientales que contribuyen a la inactivación de los depósitos virales sobre el follaje.

Numerosos estudios evaluaron la exposición a la radiación solar natural (Cantwell, 1967; Morris, 1971) a latitudes, épocas del año y condiciones

atmosféricas diferentes. La amplia variedad de condiciones experimentales originó datos de difícil comparación entre sí. Se observó que la proporción de inactivación por radiación solar varía con la estación y se pronuncia con el aumento de la distancia al Ecuador.

A nivel de la planta el impacto de la radiación solar está influenciado por la estructura y la distribución del virus sobre el cultivo. En 1984 Richards demostró que el CpGV aplicado en montes de manzana, permaneció activo durante más tiempo sobre los árboles de mayor porte, en comparación con los de menor porte, lo que se atribuyó a la mejor protección del virus por el sombreado interior en los árboles más grandes.

Diversos autores han establecido en campo la persistencia del CpGV aplicado sobre los frutos y el follaje con diferentes intervalos de aplicación (Jaques, 2000; Lacey et al, 2003; Laur et al, 2002; Keith et al, 2003).

Debido a que la mayoría de los virus de interés para el manejo de plagas actúan por ingestión de hojas contaminadas, la persistencia sobre el follaje es el parámetro de mayor significado. El objetivo de este trabajo fue establecer en laboratorio la persistencia de CARPOVIRUS Plus, insecticida viral registrado en la Argentina para el control de *C. pomonella*, pulverizado sobre follaje, luego de estar expuesto a las condiciones naturales del mes de enero en montes comerciales de manzana en el Alto Valle de Río Negro.

### **9.1- Material y métodos**

Los ensayos para evaluar la persistencia del bioinsecticida, bajo las condiciones naturales del Alto Valle de Río Negro, se realizaron durante el mes de enero de dos campañas sucesivas, 2001 y 2002, en montes comerciales de manzanas. Para la elección del momento del ensayo se consideró que enero presentaba las condiciones más extremas de heliofanía, temperatura y humedad del ciclo del cultivo, las que son consideradas limitantes para la estabilidad del CpGV. Las tareas comprendieron actividades de campo y laboratorio.

En campo se evaluó la persistencia del CpGV comparada con la de productos químicos de uso convencional, metilazinfos en el 2001 y FOSMET en el 2002, de los cuales existe acabado conocimiento sobre su persistencia en campo.

Las aplicaciones se realizaron en un monte comercial de manzanos var. Red delicious, conducido en forma libre, distancia de plantación 4 x 4 m.

**Campaña 2000/01:** Los tratamientos evaluados fueron CARPOVIRUS Plus (1L/ha=10<sup>13</sup>GI/ha), Químico de referencia (metilazinfos=35% 120g/HL) y un testigo absoluto.

Las pulverizaciones comenzaron el 10 de enero y se repitieron durante 16 días consecutivos. Se trataron 3 hileras plantas/día/tratamiento.

**Campaña 2001/02:** Los tratamientos evaluados fueron CARPOVIRUS Plus (1L/ha=10<sup>13</sup>GI/ha), Químico de referencia (Fosmet=PM 50%) y un testigo absoluto.

Las pulverizaciones comenzaron el 11 de enero y se repitieron durante 16 días consecutivos. Se trataron 3 hileras plantas/día/tratamiento.

Para la evaluación se colectaron al azar 200 hojas/día/tratamiento, se identificaron, se acondicionaron en bolsas plásticas con cierre hermético y se remitieron al laboratorio dentro de recipientes refrigerados.

En el laboratorio círculos de hojas de 3 mm de diámetro se colocaron dentro de recipientes plásticos de 35 mm de diámetro x 80 mm de alto, cerrados herméticamente. Se preparó una serie de 15 recipientes con 5 larvas neonatas cada uno por cada día y cada tratamiento. Las larvas utilizadas provenían de la colonia de cría artificial del IMYZA, INTA Castelar.

El material se colocó en cámara bajo condiciones controladas de T° (26± 1°C), HR (60 ± 10%) y fotofase (18L:6D). Al tercer día las larvas fueron observadas bajo lupa binocular y se registró la mortalidad.

Para el análisis de los resultados la variable considerada fue la proporción de larvas muertas en cada tratamiento, previa transformación angular (arco seno  $\sqrt{x/100}$ ) y análisis de la varianza a un criterio de clasificación (one way). Se efectuó un test de Tukey con p<0,05 para la comparación de medias.

## 9.2- Resultados:

En el Cuadro 6 se detallan los datos climáticos registrados durante los meses de enero del 2001 y 2002 en la región de los ensayos.

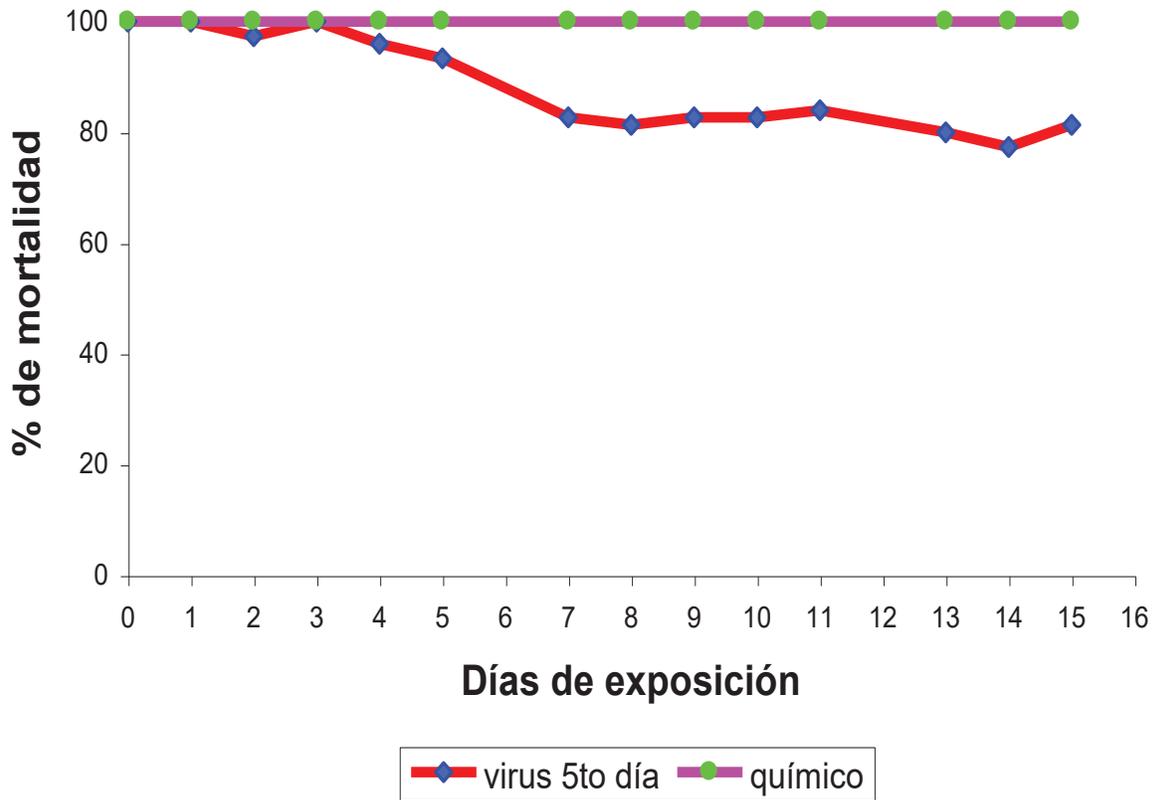
**Cuadro 6:** Registro de condiciones climáticas en Alto Valle enero 2001/2002

<b>Datos registrados</b>	<b>Enero 2001</b>	<b>Enero 2002</b>
T° MEDIA °C	21.78	22.09
T° MAX	29.39	45.1
T° MÍN	13.54	6.17
AMPLITUD * °C	15.85	20.68
H.R. %	51.97	60.05
LLUVIA mm	0.80	1.2
T° SUELO	25.42	25.62
VEL. VIENTO m/seg	1.43	1.3
T° HOJA	22.38	22.08
Carpogrados °Día	1193.04	1333.2

*Datos suministrados por la Estación Experimental Agropecuaria Valle Inferior del Río Negro- Convenio INTA- Provincia de Río Negro*

En las figuras 34 y 35 se presentan las curvas correspondientes a los datos de porcentaje de mortalidad de larvas registrados para los tratamientos virus y productos químicos en relación con la duración del ensayo (días de exposición) y para cada campaña evaluada. Asimismo, se informan los resultados del análisis de la variancia realizados para comparar la mortalidad de larvas según la exposición de las hojas a diferentes condiciones ambientales.

**Campaña 2000-2001.**



**Fig. 34:** Curva de persistencia de CARPOVIRUS Plus vs metilazinfos en montes de manzana en Alto Valle. Campaña 00/01

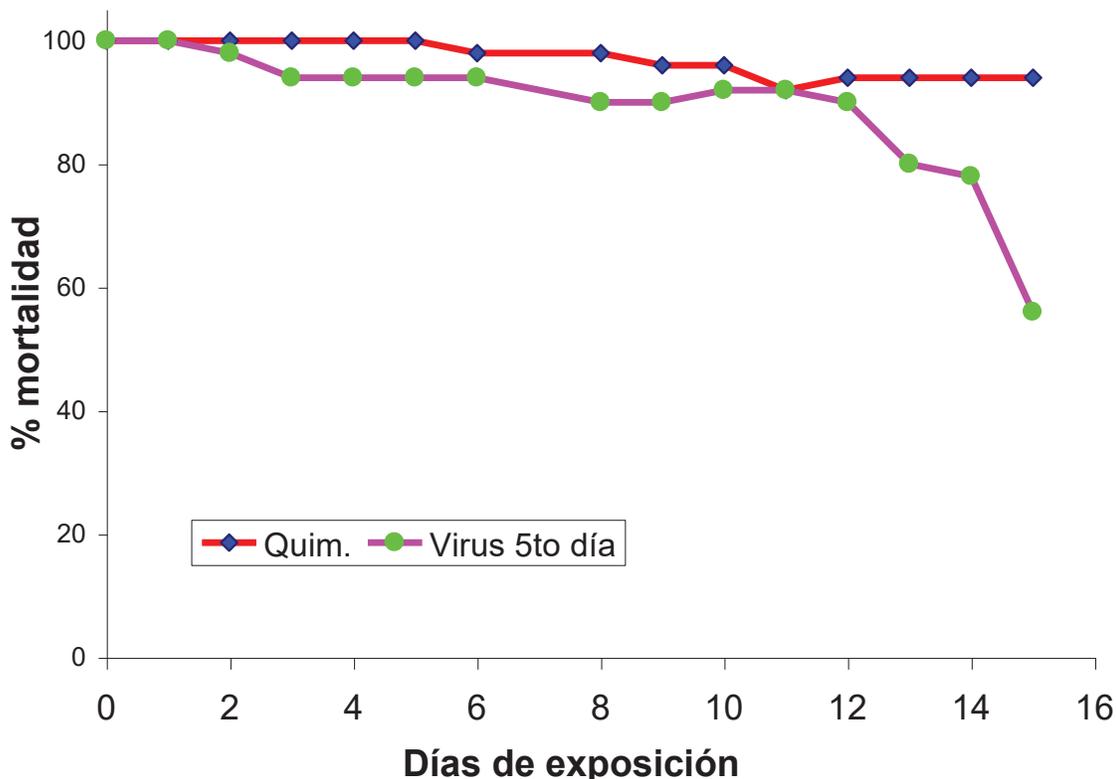
Los resultados arrojaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el testigo y los tratamientos con metilazinfos y virus. La mortalidad registrada en los bloques pulverizados con el insecticida químico fue del 100 % durante todo el ensayo, mientras que el porcentaje de larvas muertas por acción del virus varió según el día de exposición considerado.

De este modo, se observa que hasta el quinto día no hubo diferencia significativa entre el CpGV y el producto químico, con niveles de mortalidad de 98 y 100%, respectivamente.

La persistencia del CpGV declinó hacia el séptimo día, cuando arrojó un porcentaje de mortalidad del 81%, valor alrededor del cual se estabilizó hasta el final del ensayo.

La mortalidad del testigo fue del 12%.

*Campaña 2001-2002*



**Fig.35:** Curva de persistencia de CARPOVIRUS Plus vs Fosmet en montes de manzana en Alto Valle. Campaña 01/02

Los valores de mortalidad obtenidos no arrojaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos hasta el 14º día de exposición.

El fosmet mantuvo el 100% de su eficacia hasta el quinto día de exposición. Descendió al 96% al décimo día y alcanzó el 92% en el día 11º de exposición, valor que se mantuvo hasta el final del ensayo.

La viabilidad del virus fluctuó de acuerdo con el día de exposición considerado. A las 24 horas de iniciado el ensayo arrojó el 100% de mortalidad; declinó ligeramente al 98% el segundo día para alcanzar el 6º día con el 94% de

eficacia. En el 8º día registró un valor del 90%, que se mantuvo hasta el día 13º, cuando disminuyó al 80%. A partir del día 14, con el 78% de mortalidad, arrojó diferencia estadísticamente significativa con el tratamiento químico. Al final del ensayo registró el 52% de mortalidad.

La mortalidad del testigo fue del 4%.

La estabilidad en el ambiente de los productos metilazinfos y fosmet observada en los ensayos, se correspondió con la informada para este tipo de insecticidas por la industria de agroquímicos, que aseguran una protección contra la plaga que se extiende a 14-18 días. La persistencia del CpGV en campo con valores entre el 80 y 90% de efectividad el día 12 corroboran el potencial de CARPOVIRUSPlus para ser incorporado en las estrategias de control de carpocapsa en intervalos máximos de 10 a 12 días de aplicación cuando se usa como única herramienta de control. Estos resultados son similares a los informados por Laur et al (2002) que hallaron que la eficacia del CpGV disminuyó al 50% después de 12 días de exposición en campo, recomendando intervalos de aplicación de 10 días cuando la presión de la plaga es elevada. Asimismo, coinciden con los estudios reportados por Lacey et al (2003) sobre la evaluación de persistencia de tres formulaciones comerciales del CpGV, que observaron una actividad residual del virus altamente efectiva para el día 1 y moderadamente efectiva después de 72 horas (> 80% mortalidad) y una significativa mortalidad en todos los tratamientos después de 14 días. Del mismo modo, coinciden con los datos de Keith et al (2003) que concluyen que tratamientos a intervalos entre 10-14 días serían suficientes para mantener activas las partículas de virus sobre los frutos.

*Conclusión:* Si bien la persistencia del CpGV sobre el follaje en el campo difirió ligeramente en los años evaluados, fue menor en el 2001 y mayor en el 2002, la formulación ofreció una protección satisfactoria a los depósitos sobre el follaje de CpGV contra la inactivación por acción de la temperatura y la radiación solar extremas durante el mes de enero en la región.

En ambos ensayos la disminución de la eficacia al 50% se verificó después del día 14 del tratamiento.

Estos resultados permitieron ajustar el intervalo de tratamiento con CARPOVIRUSPlus a un máximo de 10 a 12 días para el control de carpocapsa bajo las condiciones climáticas del Alto Valle.

### **10- Estrategias de aplicación del CpGV en sistemas de producción de frutales de pepita en Argentina**

La estrategia de uso del CpGV más adecuada para el control satisfactorio de carpocapsa será aquella que combine el conocimiento de los factores propios del agente biológico y, por ende, del producto formulado –modo de acción, persistencia en el ambiente, compatibilidad con otros agentes de control- con los derivados del conocimiento de la situación inicial del predio en el que se empleará el virus -porcentaje de daño a cosecha anterior, dinámica poblacional de la plaga, tipo de producción, ubicación y superficie del monte, etc.-.

La posibilidad de contar con una formulación activa y estandarizada del CpGV asegura en el cultivo una concentración de gránulos adecuada y lo suficientemente viable como para provocar la enfermedad y posterior muerte del insecto durante un lapso determinado y con un mínimo impacto sobre el ambiente.

Como se ha expresado en el estudio de la persistencia del CpGV, la actividad biológica del virus declinará de manera natural, principalmente por acción de la radiación ultravioleta, en un período comprendido entre 7 y 14 días. Pero esta actividad biológica puede ser afectada durante el almacenamiento y transporte del producto si se expone la partida a temperaturas superiores a los 20°C o a los rayos solares, por lo tanto la observación de una cadena de frío durante la etapa de distribución es indispensable para asegurar la viabilidad del producto. A partir de las evaluaciones de eficacia y estabilidad realizadas se establecieron recomendaciones de uso y se definieron estrategias que aseguran un satisfactorio control de carpocapsa en montes de pera, manzana y nogal en nuestro país. A continuación se enumeran los aspectos a observar para garantizar un uso eficaz del producto.

## 10.1- Recomendaciones de uso



Consevar en frío  
(4° a 11°C)

### *Almacenamiento del producto:*

Con el fin de preservar al virus de la desnaturalización durante esta etapa el producto debe ser conservado en frío – entre 4 y 11°C- pudiendo también ser congelado. Bajo estas condiciones conserva su máxima potencia entre 15 y 18 meses.



No exponer  
el botellón al sol

### *Preparación del producto para su aplicación:*

Durante la preparación no debe exponerse el botellón al sol o a temperaturas superiores a los 30°C. Conservar la botella plástica dentro del termo provisto por el fabricante y a la sombra.

### *Métodos de aplicación:*

El producto se debe emplear en pulverizaciones sobre el follaje y frutos de los árboles a tratar. Puede ser aplicado con la maquinaria de uso convencional por los productores. Verificar el correcto funcionamiento de los agitadores para asegurar una buena suspensión del producto.

### *Instrucciones de uso:*

Usar equipo de turbina (hidroneumático) o de manguera. Volumen recomendado 2000 litros/ha. Presión entre 200 y 300 PSI. El volumen deberá ser ajustado de acuerdo con las características del monte a tratar (altura de los árboles, distancia entre filas, etc.) en montes de conducción libre (>5 m) se deberá calibrar la pulverizadora de modo de asegurar una correcta cobertura con el virus



**Fig. 33:** Aplicación de CpGV con equipo de turbina

*Condiciones ambientales, del cultivo y la población plaga para ser usado.*



Las condiciones climáticas en el momento de la aplicación constituyen uno de los factores que más inciden sobre la cobertura foliar y la estabilidad del virus. Preferentemente deberá ser aplicado a primera hora de la mañana (hasta las 9 horas), o hacia la caída del sol o noche para evitar la rápida desactivación por acción de la luz ultravioleta, siendo los días de escasa humedad relativa y poco ventosos los más apropiados.

El inicio de los tratamientos debe ser cuidadosamente determinado conforme a la evolución de las poblaciones de carpocapsa en los montes. La información suministrada por los sistemas de alarma permite definir localmente los períodos críticos. El monitoreo con trampas cebadas con feromonas sexuales (Fig. 34) asegura una evaluación más precisa de los riesgos a nivel de las parcelas. Las mismas deben ser colocadas en los lotes a los 90°D de modo coincidente con el comienzo de los vuelos de los adultos-.

La aplicación del virus debe coincidir con la eclosión de los adultos, la cual comienza a partir de los 250°D.

El producto no observa restricciones de uso ni de reingreso al área tratada. Puede ser aplicado durante el periodo de carencia.

#### *Incompatibilidad con otros productos:*

No se deben realizar mezclas en el tanque con productos fuertemente alcalinos –polisulfuro de Ca, caldo bordelés- o con *Bacillus thuringiensis*. En caso de tener que aplicar estos productos se deben suspender las aplicaciones 48-72 horas antes y después del tratamiento con el CpGV

No debe usarse en combinación con productos antialimentarios o repelentes (por ej. *Ryania speciosa*).



## **10.2- Estrategias de uso del CpGV**

El número de pulverizaciones a efectuar con el producto depende principalmente de la densidad poblacional, la duración del ciclo del cultivo y el sistema de producción.

**Densidad poblacional:** El registro del nivel de capturas y del porcentaje de daño en frutos a cosecha en la campaña anterior permiten estimar cual podría ser la presión de la plaga en la nueva temporada, y, por lo tanto, tomar decisiones técnicas acorde a ello.

En este orden, si las capturas fueron menores a 40 mariposas por trampa entre los 90 y 250 °D y el daño a cosecha menor al 2%, se asume que es un lote con baja infestación y, una vez determinado el momento oportuno para el inicio de los tratamientos, el virus puede aplicarse en cobertura completa con el máximo intervalo para el producto (10 a 12 días).

Si en el mismo lapso se registraron más de 40 capturas y el daño a cosecha osciló entre el 2 y 10% -alta infestación- los tratamientos deben realizarse en cobertura completa cada 8 días.

Sí por el contrario, no se hubiera registrado presión de plaga y el daño a cosecha fue no detectable, puede considerarse la aplicación del virus de acuerdo con el sistema de alarma pero acompañado de un exhaustivo monitoreo de la evolución de la población y búsqueda de desoves en el cultivo.

**Duración del ciclo del cultivo.** La duración del ciclo de los frutales de pepita varía según la especie considerada (pera, manzana y nogal) y dentro de estas, de acuerdo con las variedades implantadas. Por consiguiente, la extensión de este ciclo también incidirá en el número de aplicaciones a realizar.

Serán necesarias menos aplicaciones para cubrir cultivos de pera, donde la cosecha se realiza desde principios de enero (por ej. Willians, Red Barlet), que las necesarias para proteger el cultivo de manzana, que tiene variedades tempranas (por ej. Gala) que se colectan a partir de la 2ª quincena de enero, y otras cuyo ciclo se extiende hasta entrado marzo o principios de abril (por ej. Pink Lady).

En nogal, si bien la cosecha se efectúa desde fines de febrero hasta fines de marzo, de acuerdo con las variedades, las aplicaciones del virus solo se

realizan hasta la primera quincena de febrero, de modo coincidente con el uso tradicional de insecticidas químicos en el cultivo. La suspensión de los tratamientos sanitarios contra carpocapsa cuando finaliza la 2ª generación, radica en el hecho de que a esta altura del ciclo del cultivo el endocarpio del fruto se ha endurecido y, por lo tanto, disminuyen las posibilidades de daño a la semilla. Las frecuencias de aplicación se indican en relación a cada sistema de producción.

**Sistema de producción:** Por sus características y modo de acción (Véase Capítulo V) el CpGV resulta una herramienta ideal para la PO de frutas. Puede ser usado solo o en combinación con otras alternativas biológicas (técnica de confusión sexual, liberación de enemigos naturales, etc.) dentro de una estrategia de MIP.

La compatibilidad con los productos químicos permite incorporarlo dentro del sistema de producción convencional como alternativa al uso de los mismos, o complementando tratamientos. Pero, probablemente, encuentra su mayor aplicación durante el período de carencia de productos químicos, ya que puede ser utilizado hasta el momento de la cosecha sin restricciones.

A continuación se describen las estrategias de incorporación del virus establecidas para los sistemas de producción convencional, PFI y PO.

#### **a- Producción convencional:**

En las explotaciones de producción convencional el producto puede ser incorporado como única táctica de control, como complemento de la aplicación de productos químicos o durante el período de carencia. Las estrategias definidas para los diferentes cultivos son las siguientes:

##### **Montes de Pera y manzana**

1- Como única herramienta:

1.1- En cobertura completa con intervalos de 8 días entre tratamientos en montes con <1% de daño a cosecha y alta presión de plaga en la campaña anterior.

1.2-En cobertura completa con intervalos de 10-12 días entre pulverizaciones en montes con baja densidad poblacional y buena sanidad (daño no detectable ó <1%) en la cosecha anterior.

1.3- Cobertura de acuerdo con el sistema de alarma o capturas en trampa, solo para montes que registran sucesivas temporadas con daño no detectable a cosecha y muy baja población de carpocapsa –que no justificó intervención con medidas de control-.

2- Como complemento de aplicaciones de productos químicos:

2.1- Aplicaciones de virus a partir de la segunda generación de carpocapsa en montes que registran elevada presión de plaga y porcentajes de daño en frutos entre el 2 y 10% o mayores aún en la campaña anterior. La estrategia busca deprimir la presión de la plaga con el insecticida químico durante la primera generación para alcanzar niveles de daño no detectable en fruto a fin de primer vuelo y cubrir las siguientes generaciones con el virus con cobertura completa a intervalos de 8 ó 10-12 días, de acuerdo con el número de capturas de adultos en trampa.

2.2- Aplicaciones de CpGV intercaladas en la secuencia de los tratamientos con productos químicos. Esta estrategia está dirigida a eliminar individuos resistentes y deprimir la población de las larvas que entran en diapausa. Se recomienda un tratamiento a mediados de la primera generación y dos durante el segundo y tercer vuelo de carpocapsa.

2.3. Aplicaciones de CpGV durante el período de carencia en intervalos de 8 días para proteger al cultivo hasta el momento de la cosecha, en particular cuando se tienen cuadros de peras o manzanas de variedades de ciclo corto -cosecha a partir de la primera quincena de enero- que quedarían expuestas a la plaga cuando se registra una presión particularmente alta (pleno desarrollo de la 2ª generación).

### ***Montes de nogal:***

1- Cómo única herramienta de control: Aplicaciones de CpGV como única herramienta de control con intervalos de 8 ó 10-12 días entre tratamientos, de acuerdo con la densidad poblacional.

2- Como complemento de productos químicos: En montes de conducción libre, con variedades susceptibles y porcentajes de daño a cosecha  $\geq$  al 10% en campañas anteriores efectuar tratamientos con productos químicos (organosfosforados y piretroides) para controlar la primera generación de carpocapsa y cubrir la segunda con CpGV en cobertura completa a intervalos de 8 a 10-12 días.

### **b- Producción de fruta integrada**

Para la incorporación del CpGV en este sistema de producción se pueden considerar las estrategias establecidas para la producción convencional detalladas en el ítem anterior.

Por su alta especificidad y ausencia de toxicidad, el producto es ideal para incorporar en los programas de PFI junto con otras herramientas de control biológico o de síntesis, como por ejemplo parasitoides, predadores, reguladores de crecimiento, etc.

### **c- Producción orgánica**

El establecimiento de estrategias de uso del CpGV en la PO de frutales de pepita permite optimizar el control de carpocapsa asegurando los estándares de sanidad y calidad requeridos para la certificación. La disponibilidad comercial del virus representa una alternativa efectiva para el control de carpocapsa en un sistema con escasas herramientas y en el que se registran fallas de control cuando se emplea la TCS como única herramienta.

#### *Montes de pera y de manzana*

1- Aplicaciones del virus en cobertura completa en combinación con la TCS (1100 emisores por hectárea) en tratamientos a intervalos de 14 días.

2- Uso del CpGV como única herramienta de control con intervalos de aplicación de 8-10 días en lotes con excelente sanidad en campañas anteriores (daño no detectable o  $<2\%$ , bajo registro de capturas).

#### *Montes de nogal*

- Aplicaciones de CpGV en cobertura completa con intervalos de 8 ó 10-12 días de acuerdo con la presión de la plaga. (Véase *Densidad poblacional*).

## **11- Conclusiones**

Los resultados de cuatro años de ensayos con el CpGV corroboraron el potencial del virus para controlar carpocapsa en la Argentina cuando se observan los requisitos técnicos ajustados a las características de los montes y presión de la plaga en los sistemas de producción de pera, manzana y nogal.

A partir de las evaluaciones realizadas se establecieron recomendaciones de uso y se definieron estrategias que garantizan una alta eficacia de este método de protección contra carpocapsa. Algunos aspectos consideran acciones específicas mientras que otros conforman pautas generales a tener en cuenta cuando se decida la adopción de esta herramienta de control.

En particular se establecieron las siguientes conclusiones:

- Con una dosis de  $10^{13}$  GI/ha – 1 L/2000 L- las aplicaciones de CpGV fueron comparables con las aplicaciones de insecticidas químicos en su capacidad para controlar el daño de carpocapsa en montes de nogal, pera y manzana.

- El virus mantuvo una elevada eficacia de control de la plaga, similar a la obtenida con los productos químicos, durante un periodo de 7 a 14 días luego de estar expuesto a las condiciones ambientales.

- En los sistemas de producción convencional o de PFI el CpGV fue incorporado satisfactoriamente como única herramienta de control o como complemento de la aplicación de productos químicos.

En montes convencionales con alta presión de plaga, la aplicación en cobertura completa con intervalos de 8 días entre tratamientos como única herramienta brindó protección satisfactoria contra carpocapsa (< 1% de daño en fruto a

cosecha). En lotes con baja densidad poblacional y buena sanidad (daño no detectable en cosecha anterior o <2%) el intervalo se ajustó a 10-12 días entre cada pulverización con resultados igualmente satisfactorios.

- En montes de producción convencional el uso del CpGV durante el período de carencia confirió protección a los frutos hasta el momento de la cosecha, en particular a las variedades de ciclo corto, por ejemplo pera, aún bajo elevada presión de la plaga.

- En PO la combinación de la TCS con aplicaciones de CpGV a intervalos de 14 días arrojó resultados altamente satisfactorios (daño no detectable a cosecha) en lotes donde se habían registrado fallas de control de carpocapsa con el uso de las feromonas.

- En la zona nogalera el formulado viral permaneció activo y brindó un control efectivo de carpocapsa aún bajo condiciones ambientales extremas: existencia de montes con plantas gran porte dificultaron el correcto mojado de hojas y frutos, alta densidad poblacional de la plaga, presencia de fincas aledañas abandonadas o sin tratamiento, que constituían un reservorio de hembras emigrantes hacia los lotes tratados con virus.

- En estos cultivos, el uso de productos químicos (organosfosforados y piretroides) para tratar la primera generación de carpocapsa y virus para cubrir la segunda, ejerció un control eficaz en montes de conducción libre, con variedades susceptibles y porcentajes de daño a cosecha  $\geq$  al 10% en campañas anteriores.

- A pesar de estar documentado que la aplicación de CpGV sobre pequeñas superficies era menos efectiva que cuando se cubrían áreas extensas, se logró alta sanidad en nuez cuando el virus se aplicó en cuadros o lotes de 1 ó 2 hectáreas de superficie como única estrategia, en cobertura completa sobre las

dos primeras generaciones de la plaga y con intervalos entre tratamientos de 10 a 12 días.

Asimismo, se corroboraron a nivel observacional las siguientes situaciones derivadas del uso del producto:

- El CpGV ejerció una marcada acción como depresor de las poblaciones invernantes de carpocapsa. En las bandas de cartón corrugado provenientes de lotes tratados con virus se observó reducción en el número de larvas en diapausa y elevada mortalidad por infección con virus de las larvas halladas.

- El escaso o nulo impacto sobre las poblaciones de enemigos naturales permitió reducir -a veces hizo innecesarios- los tratamientos contra plagas secundarias. Durante las campañas evaluadas se observó la presencia de parásitos y predadores de carpocapsa en lotes que recibieron aplicaciones de virus.

- Se observó una mayor proporción de frutos con entradas superficiales (el CpGV mata a la larva lentamente, permitiéndole causar un daño mínimo sobre el fruto.) en los lotes tratados con virus en comparación con los provenientes de lotes tratados con insecticidas químicos. Pero, como este daño es producido por larvas del primer estadio, los frutos cicatrizan, no caen y conservan su valor comercial.

En general, se estableció que para adoptar la estrategia de uso del CpGV más adecuada para el control satisfactorio de carpocapsa resulta fundamental conocer e interpretar de modo correcto la situación inicial del predio en el que se empleará el producto (porcentaje de daño a cosecha anterior, dinámica poblacional de la plaga, tipo de producción, ubicación y superficie del monte, etc.).

El número de pulverizaciones a efectuar con el producto depende principalmente de la densidad poblacional, la duración del ciclo del cultivo y el sistema de producción

En lo referente a la densidad poblacional, la presión de plaga y el daño en frutos a cosecha registrados en la campaña anterior permiten estimar el desarrollo de la plaga y, por lo tanto, tomar decisiones técnicas.

Se puede prever que fallas del CpGV en el control de carpocapsa resultan de:

- Deficiente monitoreo de la plaga.
- Alta presión de la plaga, particularmente durante la primera generación.
- Fincas vecinas sin tratamiento con elevada densidad poblacional de plaga.
- Primera generación concentrada en montes con baja producción de frutos.
- Variedades de ciclo largo, que concentran los ejemplares de la 3ª generación, no cubiertas en forma adecuada hasta la cosecha.
- Montes de conducción libre con plantas que superan los 10 metros de altura y especies altamente susceptibles al ataque de la plaga.
- Heliofanía y temperaturas muy elevadas causantes de una pronta degradación del virus.
- Inicio tardío de los tratamientos, no protegiendo todo el período de nacimiento de las larvas, particularmente largo durante el primer vuelo.
- Ausencia de tratamientos contra la segunda generación
- Intervalos de aplicación de virus muy amplios
- Maquinaria mal calibrada, obsoleta o en mal estado

Estas características que se anticipan como limitantes para el uso del virus, pueden ser salvadas si se adoptan las estrategias de uso adecuadas a la situación inicial de los montes a tratar.

El CpGV se presenta como una herramienta adecuada para incorporar en los programas de manejo de resistencia. Las aplicaciones de CpGV en la secuencia

de los tratamientos con insecticidas convencionales disminuye el riesgo de desarrollo de resistencia a los insecticidas químicos usados para el control de carpocapsa.

Desde el punto de vista económico, cabe destacar que la incorporación del formulado viral en pequeñas fincas nogaleras permitió duplicar y hasta triplicar el volumen de frutos producidos. Los niveles de daño en fruto a cosecha por carpocapsa alcanzaron valores despreciables económicamente.

En la región Valletana, los productores están incorporando en forma paulatina el CpGV a las diferentes estrategias de producción. Durante las campañas 2001-2005 fruta tratada con CARPOVIRUS Plus, proveniente de cuadros de PFI y PO se comercializó en el exigente mercado internacional (Agro Roca, comunic. personal).

## **12- Consideraciones sobre el uso del CpGV en el futuro**

Si bien los bioinsecticidas no reemplazarán a los insecticidas convencionales en el corto plazo, están siendo ampliamente aceptados en programas de manejo integrado de plagas (MIP). Pero su implementación y adopción en mayor escala dependerá de: (1) mejor divulgación de su modo de acción; (2) mayor difusión de las estrategias de incorporación dentro de los sistemas de producción y de su compatibilidad con otros programas de manejo de plagas; (3) mejor apreciación de sus ventajas sobre el ambiente (eficacia, seguridad, selectividad, etc.) y no simplemente de su comparación con insecticidas químicos; (4) incorporación de la técnica en los protocolos de producción certificada; (5) que el Estado premie -créditos, subsidios, etc.- a los productores que adopten tecnologías de protección vegetal amigables con el ambiente; y, (6) aceptación por los productores y el público.

En el corto plazo, los investigadores deberán estudiar y desarrollar aspectos relacionados con la provisión de información a los técnicos y productores sobre el uso, beneficios y limitaciones de este tipo de productos; la evaluación de la

incidencia de la transmisión vertical y horizontal del CpGV en el ambiente; el uso de virus en combinaciones sinergistas con otras tecnologías (semioquímicos, químicos de bajo impacto ambiental, otros enemigos naturales, etc.) que incrementen la eficiencia y sostenibilidad de las estrategias de control integrado.

Un particular esfuerzo deberá ser realizado con miras a la efectiva integración del virus, como alternativa segura y eficaz, en programas de supresión de la plaga en grandes áreas.

En síntesis, este bioinsumo se presenta como una alternativa válida para el control de carpocapsa, sobre todo si se considera que en la actualidad la fruticultura mundial se desarrolla en un marco de alta competitividad, en el cual el concepto de calidad trasciende el de producción.

## Bibliografía citada

- Aguilar, P. 1964. Control de la polilla del manzano (*Carpocapsa pomonella* L) en el Valle de Mala. Rev. Peruana Entomol. 7:103-105.
- Audemard, H. 1992. Essai complementaire sur le carpocapse (*Laspeyresia pomonella* L) d' un nouvel insecticide: le diblubenzuron. Def. Veg. 31(187): 303-309.
- Audemard, H. A.; Burgerjon, O.; Baudry, D.; Bergere, D.; Breniaux, J. C.; Delay, R.; Desvaux, C.; Formantin, J. P.; Gendrier, M. and Tarbouriech, M. F. 1992. Evaluation of 100 trials of carpovirusine, a granulosis virus preparation to control codling moth *Cydia pomonella* L. in apple orchards. Acta Phytopathol. et Entomol. Hungarica 27(1-4): 45-49.
- Ballard, J. 1988. Virus in a carton for codling moth. Grower, March 24<sup>th</sup>, pp 14-15.
- Bird, F.T. 1963. On the development of granulosis viruses. J. Insect Pathol. 5: 368-376.
- Blissard, G.; Black, B.; Keddie, B.A.; Posse, R.; Rohrmann, J.; Theilmann, D. and Volkman, L.E. 2000. Baculoviridae: taxonomic structure and properties of the family. In: Seventh report of the international committee for the taxonomy of viruses. Eds. MHV van Regenmortel et al; pp 195-202
- Burgerjon, A. et Sureau, F. 1985. La 'Carpovirusine', bioinsecticide experimental a base du baculovirus de la granulose pour lutter contre le carpocapse (*Cydia pomonella* L.). Proc. 5<sup>o</sup> Colloque sur les recherches fruitieres- Bordeaux, 13-14 novembre, pp 53-66.
- Calliope, 1998. Essai Carpocapse: Comparaison de l'efficacité de la Carpovirusine par rapport à un témoin chimique et un témoin non traité du noyer. Calliope SA, 13 p.
- Cantwell, G.E. 1976. Inactivation of biological insecticides by irradiation. J. Invertebr. Pathol. 9: 138-140.
- Cavalloro, R. and Piavaux, A (Eds.). 1984. Programme on Integrated and Biological Control- Final Report 1979-1983. (EUR 8689) Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 476 p.
- Charmillot, P. J.; Pasquier, D. and Schneider, D. 1991. Efficacy and persistence of granulosis virus, phosalone and chlorpyrifos-methyl in the control of codling moth *Cydia pomonella* L. Rev. Suisse Viticult., Arboricult. Horticul., 23(2): 131-134.

- Charmillot, P 1997. Lutte par confusion contre le carpocapse *Cydia pomonella*: en Suisse en 1996 au moyen de diffuseurs Isomate C plus. Rev. Suisse Viticult., Arboricult., Horticult., 2: 91-96.
- Cichón, L. y Fernández, D. 1993. Aspectos relevantes en el control de carpocapsa en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén. EEA Alto Valle. Bol. Div. Técnica, 41. 14 pp.
- Cichón, L. 2002. Generación y desarrollo de tecnologías de producción y organización para el control de la carpocapsa. PN INTA N° 52-0605. INTA Alto Valle.
- Cichón, L.; Fernández, D. y Raffo, D. 2002. Carpocapsa, la plaga clave. Manzanos y perales del Valle. Idia XXI, Frutales de pepita, INTA: 96-99.
- Cichón, L. y Fernández, D. 2003. Curso de actualización de manejo de plagas y enfermedades en frutales. EEA INTA Alto Valle. 86 p.
- Conover, D.O. 1999. The allometry of energy reserve depletion: test of a mechanism for size-dependent winter mortality. Oecologia 119:474-483.
- Cranham, J.E.; Gruys, P.; Steiner, H. and Wildbolz, T (Eds.). 1980. Biological Control in Orchards/ Biology and Control of Codling Moth. WPRS Bull. 3(6): 88-92.
- Crook, N.E.; Spencer, R.A.; Payne, C.C. and Leisy, D.J. 1985. Variation in *Cydia pomonella* granulosis isolates and physical maps of the DNA from three variants. J. Gen. Virol., 66: 2423-2430.
- Croos, V.J.; Solomon, M.G.; Babandreier, D.; Blommers, L.; Easterbrook, M.A.; Jay, C.N.; Jeser, G.; Jolly, R.L.; Kujlmann, U.; Lilley, R.; Olivella, E.; Toepfer, S. and Vidal, S. 1999. Biocontrol of Pests of apples and Pears in Northern and Central Europe: Parasitoids. Review. Biocntrol Sci. and Technol., (9): 277 – 314.
- Direction Départementale de l' Alimentación (DGAL), 1998 – Produits bio, mode d'emploi. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, Bureau des Labels et des Certification de produits, París, 16 p.
- Dickler, E. 1999. PFI en Europa y en el Mundo. Curso Internacional de Producción Integrada y Orgánica de frutas. INTA, EEA Alto Valle. Cap. 2.1:1-7.
- Domange, A. L. 1994. Arbo bio: quel développement? Alter. Agri, (10): 4-9.
- Espul, J. 1966. Bioecología y control del gusano de la pera y la manzana *Carpocapsa pomonella* en Mendoza. RIA serie 5, 3(9).
- EUREPGAP. 2003. página web de la EUREPGAP. <http://eurep.org>

- Falcon, L.A.; Kane, W.R. and Bethell, R.S. 1968. Preliminary evaluation of a Granulosis virus of the Codling moth. J. Econ. Entomol., 61:1208-1213.
  - Falcon, L. 1971. Use of Baculoviruses. In: C.B. Huffaker ed., Biological control, New York, Plenum Press. pp 346-364.
  - Faulkner, P. 1981. Baculoviruses. In; Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases. (Davison, E.D. ed). Allanheld, Osmun, N.Y. chapter 1.
  - Federici, B.; 1997. Baculovirus pathogenesis. En: L.K. Miller. (ed.), The Baculoviruses, p.33-59. Plenum Press, N.Y
  - Federici, B.A. 1998. Naturally occurring baculoviruses for insect pest control, In: F.R. May y J.J. Menn (eds.), Biopesticides: Use and delivery. Humana Press, New Jersey, U.S.A. pp. 301-320
  - Galperín, C. y Pérez, G, 2003. La fragilidad de los complejos de manzanas y peras frene a los requisitos sanitarios y ambientales. Centro de Economía Internacional y Departamento de Investigación – Universidad de Belgrano. 22 p.
  - Garcia Salazar, C.1988. Effects of temperature on diapause induction in the codling moth *Cydia pomonella* (L). Env. Entomol. 17(4): 626-628.
  - Goldberg, A.; Romanowski, V.; Federici, B. and Sciocco-Cap, A. 2002. Effects of the EpapGV granulovirus on its host, *Epinotia aporema*. J. Invertebr. Pathol. 80 (3): 10-21
  - Granados, R.R. 1978. Early events in the infection of *Heliothis zea* midgut cells by a baculovirus. Virol. 90: 170-174.
  - Granados, R.R. 1980. Infectivity and mode of action of Baculoviruses. Biotech. Bioeng. 22:13-77.
  - Granados, R.R and Lawler, K.A. 1981 *In vivo* pathway of *Autographa californica* baculovirus invasion and infection. Virol. 180: 297-308.
  - Gut, L. J. and Bruner, J.F.2003. Pheromone based management of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). In: Wahsington apple orchards, J. Agric. Entomol. 19: 387-406
  - Harvey, J. P. and Volkman, L. E. 1983. Biochemical and biological variation - Harrap, K.A. and Payne, C.C. 1979. The structural properties and identification of insects viruses. In: Advances virus research. Maramorosh, K. and Smith, K.M. eds. New York, Academic Press. Vol I, pp 230-258.
- of *Cydia pomonella* (codling moth) granulosis virus. Virology 124: 21-34.

- Huber, J. 1982. The baculoviruses of *Cydia pomonella* and other tortricids. Proc. 3er. Intern. Collq. Invertebr. Pathol. Brighon, UK, pp 119-124.
- Huber, J. and Dickler, E. 1977. Codling moth granulosis virus: Its efficacy in the field in comparison with organophosphorous insecticides. J. Econ. Entomol, 70: 557-561.
- Huber, J.1990. History of the CpGV as a biological control agent- Its long way to a commercial viral pesticide. Biol. Bundesanstalt fur Land- und Forstwirtschaft, 26: 424-428.
- Huger, A. 1963. Granulosis of insects. In: .(Steinhaus, E. A. Ed) Insect pathology, an advance treatise New York. Academic Press. Vol I, pp 239-258.
- INTA. 2002. Buenas prácticas agrícolas. [www.inta.gov.ar/activ/ugcal/bpa.htm](http://www.inta.gov.ar/activ/ugcal/bpa.htm)
- IOBC/WPRS. 1994. Cross, J.V. and Dickler, E. (Eds.): Guidelines for Integrated Production of Pome Fuits in Europe. Technical guideline III. Bull. IOBC/WPRS. 17(9). 40 pp.
- Jaques, R.P.; Laing, J.E.; Mac Lellan, C.R.; Provers, M.D.; Sanford, K.H. and Trottier, R. 1981. Apple orchard test on the efficacy of the granulosis virus of the codling moth, *Laspeyresia pomonella* (Lep: Olethreutidae). Entomophaga, 26: 111-118.
- Jaques, R.P. 1985. Stability of insect viruses in the environment. In: (Eds. Karl Maramorosch and K.E. Sherman) Viral insecticides for Biological Control., Academic Press, New York. pp 285-360.
- Jaques, R.P.; Laing, J.E.; Laing, D.R. and Yu, D.S.K. 1987. Effectiveness and persistence of the granulosis virus of the codling moth *Cydia pomonella* (L) (Lep: Olethreutidae) on apple. Can. Entomol., 119: 1063-1067.
- Jaques, R. 2003. Effectiveness and Environmental Impact of the Granulosis Virus in Management of the Codling Moth in Apple Orchards. Pest Management Research Program - Research Projects Summary. Agriculture Canada, Harrow. Site , Ministry of Agriculture and Food. <http://stagea.cts.gov.on.ca/MBS/english/index.html>
- Keith R.; Granger; J.; Brunner, J.F. and Michael D. Doerr . 2004. Codling Moth Control in Organic Apple Orchards. In: Miles, C, D. Granatstein, A. Stone, and P. Miler (eds). Ecological and Organic Farm Management Workshop Proceedings. Washington State University, Center for Sustaining Agriculture and Natural Resources.
- Keller, S. 1973. Mikrobiologische Bekämpfung des Apfelwicklers (*Laspeyresia pomonella* (L) = *Carpocapsa pomonella*) mit spezifischem Granuloisvirus. Z. Angew. Entomol. 73: 137-181.

- Kienzle, J.; Schulz, C.; Zebitz, C. P. and Huber, J. 2003. Persistence of the biological effect of the Codling Moth Granulovirus in the orchard: a preliminary field trial. In: Papierok, B. & J. Huber (eds.). Proc. 8th European meeting IOBC-WPRS Working group 'Insect pathogens and insect parasitic nematodes', Athens, Greece, 29 May - 2 June, 2001. Bulletin OILB 26(1): 245-248.
- Lacey, L.A. and Merrit, R.W. 2003. The potential role for microbial control of orchard insect pests in sustainable agriculture. J. Food Agric. Environ. 1: 326-331.
- Lacey, L.; Lawrence A.; Steven, H.; Heath Fritts, R. and Thomson, D. 2004. Field Evaluation of Commercial Formulations of the Codling Moth Granulovirus. Western Orchard Pest and Disease Management proceedings.
- Magdalena, C. 1999. Programa "Producción Integrada de Frutas – Patagonia". Curso Internacional de Producción Integrada y Orgánica de frutas. INTA, EEA Alto Valle. 8 p.
- Mantinger, H.; Boscheri, S. and Paoli, N. 1992. Control of the codling moth with granulosis virus. Obstbau Weinbau 29(9): 253-355.
- Morris, O.N. 1971. The effect of sunlight, ultra violet and gamma irradiations and temperature on the infectivity of nuclear polyhedrosis. J. Invertebr. Pathol. 18: 292-294.
- Morris, D.S. 1972. A Cooperative programme of research into the management of pomme fruit pests in southeastern Australia. III Evaluation of a nuclear granulosis virus for control of Codling moth. Abstr. 14th Int. Congr. Entomol, Camberra, p. 238.
- Olkoswki, W; Daar, S. and Olkowski, H. 1985. Codling moth: big changes ahead. IPM Practitioner, 7(5): 1-5.
- Payne, C.C. and Kelly, D.C. 1981. Identification of insect and mite viruses. In:(Burges. D. ed.) Microbial diseases and control of insect and mites. New York. Academic Press. pp 109-127.
- Payne, C.C. 1982. Insect viruses as control agent. Parasitology, 84: 35.
- Polesny, F. 2000. Integrated Control of Codling Moth (*Cydia pomonella*) in Austria. Acta Hort. (ISHS) 525:285-290.
- Quénin, H. and Laur, P. 2003. Carpovirusine granulosis virus formulation: control of resistant strain of codling moth and study of the vertical transmission of the virus. Proceedings of 78<sup>th</sup> Annual Meeting of the Western Orchard Pest and disease Management. January 2004, Portland, EEUU. p 30.

- Quintana, G.M.; Ríos, M.L.; Lanati, S and Cap, A.S. 1995. Experimental production and use of *Cydia pomonella* granulosis virus (CpGV) in Argentina. Program and Abstracts SIP 28<sup>th</sup> annual Meeting. Cornell University, Ithaca, New York. 16-21 July 1995.
- Quintana, G.M.; Rizzo, H:F. y MC Kay, F. 1997. Morfología y biología de los estados de desarrollo de *Cydia pomonella* (L) en crías de laboratorio. RIA, INTA.28(2): 49 – 63, Argentina.
- Quintana, G.M. y Alvarado, L. 1998. VGCp-INTA503: Insecticida biológico experimental para el control de *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). Libro de Resúmenes del IV Congreso Argentino de Entomología. 8 al 12 de marzo de 1998, Mar del Plata, Argentina.
- Quintana, G. y Sciocco, A. 2000. Informe Identificación y caracterización de cepa de CpGV. Registro de CARPOVIRUS Plus (Nº 33.591). SENASA, 5 p.
- Quintana, G y Alvarado, L. 2004. Carpovirus Plus: Primer Insecticida biológico para el control de *Cydia pomonella* en montes comerciales de pera, manzana y nogal. AgroInnova. Soluciones para las Pymes Argentinas. pp 15-17.
- Reild, H. and Zelger, R. 1994. Erste Ergebnisse der Untersuchungen zur Resistenz des Apfelwicklers gegenüber Diflubenzuron. Obstbau Weinbau 31, 107-109.
- Sauphanor, B.; Bouvier, J. and Brosse, V. 1998. J. Spectrum of insecticide resistance in *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) in Southeastern France. J. Econ. Entomol. 91(6): 1225-1231.
- Sciocco-Cap, A. 2001. Biología y patogénesis de los baculovirus. En: (Caballero, P., López-Ferber, M. & Williams, T. eds.), Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Universidad Pública de Navarra - Phytoma S.A., Valencia, España. pp. 47-72.
- SENASA. 2003. Boletín informativo del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria - Año II - Nº 28- 26 de junio de 2003.
- SENASA. 2004. Situación de la Producción Orgánica en la Argentina durante el año 2003. Documento de la Dirección Nacional de Fiscalización Agroalimentaria, Coordinación de Productos Ecológicos. Bs As. Mayo 2004.
- Sheppard, R.F. and Stairs, G.R. 1976. Effects of dissemination of low dosage levels of a granulosis virus in populations of the codling moth. J. Econ. Entomol. 69: 583-586.
- Smirnoff, W.A. 1965. Observations on the effect of virus infection on insect behavior. J. Invertebr. Pathol., 7: 141-143.

- Stara, J. and Kocourek, J. 2003. Evaluation of Efficacy of *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) to Control the Codling Moth (*Cydia pomonella* L., Lep.: Tortricidae) in Field Trials. Division of Plant Medicine, Research Institute of Crop Production, Prague-Ruzyně, Czech Republic. Plant Protect. Sci. 39(4): 117-125.
- Summers, M.D. 1977. In: K. Maramorosch (Ed), Baculoviruses. Atlas of insect and plant viruses, Academic Press. New York and London. pp 3-27.
- Summers, M.D. and Smith, G.E. 1978. Baculovirus structural polypeptides. Virology, 84: 390-402.
- Tanada, J. 1964. A granulosis virus of the Coddling moth, *Carpocapsa pomonella* (Linneus) (Oleuthretidae, Lepidoptera). J. Insect Pathol., 6: 378-380.
- Vermeulen. J.; Castro, H.; Bergna, D. y Rossini, M. 1990. Plagas, enfermedades y malezas en manzanas y perales. Encicl. De Prot. Veg. Acintacnia, Fasc. 3. INTA, 53 p.
- Volkman, L.E.; Blissard, G.W.; Friesen, P.; Keddie, B.A.; Posse, R. and Theilmann, D.A. 1995. Baculoviridae: Taxonomic structure and properties of family. In: (Eds. F.A. Murphy, C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop), Sixth report of international committee on taxonomy of viruses. Supl. 10: 104-113.
- Waldner, W. 1997. Three years of large-scale control of codling moth by mating disruption in the South Tyrol, Italy. In: (Eds. Witzgall P, Arn, H.), Technology Transfer in Mating disruption IOBC Wprs Bulletin, Vol. 20 (1): 35-44.
- Walker, S.; Kawanishi, C. and Hamm, J.J. 1982. Cellular pathology of a granulosis virus infection. J. Ultrastuct. Res., 80: 163.
- Watanabe, H. 1964. Temperature effects on the manifestation of suseptibility to peroral infection with cytoplasmic polyhedrosis in the silkworm, *Bombyx mori*, L. J.Sericult. Sci. Jpn., 33: 286.
- Watanabe, H. 1971. Resistance of the silkworm to cytoplasmic polyhedrosis virus. J. Sericult. Sci. Jpn., 37: 385.
- Watanabe, H. and Takimiya, K. 1976. Susceptibility of the silkworm larvae, *Bombyx mori*, reared under different ligths conditions to polyhedrosis viruses. J. Sericult. Sci. Jpn., 43: 403.
- Whitten, M.J. and MC Kenzie, J.A. 1982. The genetics basis for pesticide resistance. In: (Lee, K.E., Ed.), Proc. 3rd. Australasian Conf. Grass. Invertebr. Ecol., South Australia Goverment Printer, Adelaide.

## ANEXO I

**ANOVAS:** Niveles de significancia y grados de libertad de los modelos aplicados en las distintas cultivos y provincias

**A- Zona nogalera**

**A1- La Rioja CpGV como complemento insecticidas químicos**

FV	gl	P value	Año 2000-2001	
Sitio	1	0.0377	0.0377	
tratamiento	2	0.025	0.0351	
<i>Testigo</i>		a		
<i>Químico</i>		b		
<i>Químico +Virus</i>		b		

**A2- Catamarca: CpGV como complemento de insecticidas químicos**

FV	gl	P value	Año 2000-2002		Año 2003 2004	
Sitio	2	0,1171	0,0500		0,3830	
tratamiento	2	0,002	0,0189		0,0535	
<i>Testigo distinto de qco+vir</i>			test	a	test	a
<i>El químico solo no se diferencia ni del testigo ni del qco+vir .</i>			qco	b	qco	ab
			qco+vi	b n=7	qco+vi	b n=9

**Catamarca: CpGV como única herramienta**

FV	gl	P value	2001 2002		2003 2004	
Sitio	2	0,1001	0,2500		0,7500	
Tratamiento	2	0,0001	0,0351		0,0955	
<i>Testigo distinto de virus.</i>			test	a	test	a
			virus	b n=6	virus	b n=6

## B- Zona de pomáceas

### B1- Alto Valle PFI

FV	gl	P value	Año 2001-2002	Año 2002-2003
Variedad	2	0,0632	0,1890	0,6670
Tratamiento	2	0,0018	0,0169	0,7690
<b>Testigo</b>			<b>a</b>	<b>a</b>
<b>Virus 8 días</b>			<b>b</b>	<b>b</b>
<b>qco</b>			<b>b</b>	<b>b</b>
			n= 6	n= 3

### B2- Alto Valle PO

FV	gl	P value	Año 2000-2001	Año 2001-2002	Año 2002-2003
Variedad	2	0.0116	0.02944	0.0282	0.5983
Tratamiento	1	0.0001	0.0170	0.0003	0.0003
<b>TCS</b>			<b>a</b>	<b>a</b>	<b>a</b>
<b>TCS+virus</b>			<b>b</b>	<b>b</b>	<b>b</b>
			n= 10	n=10	n=10

## ANEXO II

## **Trabajos presentados en Congresos y publicaciones relacionados con la preparación de la tesis**

- Quintana, G.; Scholz, E.; Scholz, C. y La Rossa, R. 2001. Persistence of CARPOVIRUS, granulosis virus of codling moth *Cydia pomonella* (L) in apple orchards, Río Negro, Argentina. VII Simposio de Controle Biológico, Pozos de Caldas (MG), Brasil, 03-07/06/01.
  
- Quintana, G.; Cólica, J.J.; Fernández Górgolas, M. del C.; Rivero, C del V; Pérez, O. y Luna Mercado, L. 2002. Evaluación preliminar de la eficacia de CARPOVIRUS, insecticida viral, para el control de *Cydia pomonella* (L) en un monte de nogal en Andalgalá, Pcia. de Catamarca. Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Córdoba, agosto 2002.
  
- Cólica, J.J.; Quintana, G.; Rivero, C. del V.; Fernández Górgolas, M. del C.; Pérez, O. y Luna Mercado, L. 2002. Estrategias de manejo integrado de *Cydia pomonella* (L) Para pequeños productores nogaleros de las localidades de Mutquín, Colana (Dpto. de Pomán) y El Potrero (Dpto. Andalgalá). Pcia. de Catamarca. Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Córdoba, agosto 2002.
  
- Quintana, G.; Scholz, E.; Scholz, M.C.; Alvarado, L. 2004. Control of Codling Moth (*Cydia pomonella* L.) whit CARPVIRUSPlus, Granulosis Virus Product, in Pomme Orchards in Argentina. 78<sup>th</sup> Annual Meeting of the Western Orchard Pest and disease Management., Pórtland, EEUU
  
- Quintana, G. y Alvarado, L. 2004. Carpovirus Plus: Primer Insecticida biológico para el control de *Cydia pomonella* en montes comerciales de pera, manzana y nogal. AgroInnova. Soluciones para las Pymes Argentinas. pp 15-17.
  
- Sciocco, A. y Quintana, G. 2004. Virus entomopatógenos. En: Ed. Roberto Lecuona, Guía de Bioinsumos IMYZA. INTA, Capítulo 6.

- Quintana, G. y Sciocco, A. 2004. Control biológico de *Cydia pomonella*: Uso de bioinsecticida en base al Virus de la granulosis de *C. pomonella* (CpGV). FAUBA. En prensa

- Quintana, G.; Cólica, J.J.; Fernández Górgola, M. del C.; Rivero, C.; Pérez, O. y Luna Mercado, L. 2005. Controle de *Cydia pomonella* (L.) con CARPOVIRUSPlus, granulovirus inseticida, nos cultivos de Noz em Catamarca, Argentina. 8vo. Simposio de Contole Biológico, Recife, Brasil.