



INSTITUTO
NACIONAL DE
INVESTIGACIÓN
AGROPECUARIA

URUGUAY



**PRODUCCIÓN Y
EVALUACIÓN DE
FEROMONAS SEXUALES
PARA EL CONTROL DE
TORTRÍCIDOS NATIVOS
(LEPIDOPTERA:
TORTRICIDAE) EN
FRUTALES DE PEPITA.**

DICIEMBRE 2019

SERIE
FPTA-INIA

83

PRODUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE FEROMONAS SEXUALES PARA EL CONTROL DE TORTRÍCIDOS NATIVOS (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) EN FRUTALES DE PEPITA.

FPTA - 304

Responsable del Proyecto

Viviana Huguaburu*

Equipo técnico de trabajo:

Ing. Agr. Valentina Martínez Sabaj (Facultad de Agronomía, UdelaR), Katerine Rasquin (CENUR Litoral Norte, UdelaR), Prof. Iris Scatoni (Facultad de Agronomía, UdelaR), Prof. Andrés González (Facultad de Química, UdelaR) y Prof. Viviana Huguaburu (CENUR Litoral Norte, UdelaR).

Participación:

María Valentina Mujica (INIA Las Brujas), Asociación de Fruticultores de Producción Integrada (AFRUPI), Juventud Melilla Cooperativa Agraria Limitada (JUMECAL), Pacific Biocontrol Corporation (Shin-Etsu Chemical Company).

Institución Ejecutora: Universidad de la República, Facultad de Química

* Dra. en Química, Departamento de Química del Litoral, Centro Universitario Regional Litoral Norte, Universidad de la República.

Título: PRODUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE FEROMONAS SEXUALES PARA EL CONTROL DE TORTRÍCIDOS NATIVOS (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) EN FRUTALES DE PEPITA.

Responsable del proyecto: Viviana Heguaburu*

Equipo técnico de trabajo: Ing. Agr. Valentina Martínez Sabaj (Facultad de Agronomía, UdelaR), Katherine Rasquin (CENUR Litoral Norte, UdelaR), Prof. Iris Scatoni (Facultad de Agronomía, UdelaR), Prof. Andrés González (Facultad de Química, UdelaR) y Prof. Viviana Heguaburu (CENUR Litoral Norte, UdelaR).

Con la participación de: María Valentina Mujica (INIA Las Brujas), Asociación de Fruticultores de Producción Integrada (AFRUPI), Juventud Melilla Cooperativa Agraria Limitada (JUMECAL), Pacific Biocontrol Corporation (Shin-Etsu Chemical Company).

Serie: FPTA N° 83

ISBN: 978-9974-38-439-2

© 2019, INIA

Editado por la Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología de INIA
Andes 1365, Piso 12. Montevideo, Uruguay
<http://www.inia.uy>

Quedan reservados todos los derechos de la presente edición. Este libro no se podrá reproducir total o parcialmente sin expreso consentimiento del INIA.

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

Integración de la Junta Directiva

D.M.T.V., Ph.D. José Luis Repetto - Presidente

Ing. Agr., Mag. Mariana Hill - Vicepresidenta



Ing. Agr. Rafael Secco



Ing. Agr. Alberto Bozzo

Ing. Agr. Alejandro Henry



FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA

El Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria (FPTA) fue instituido por el artículo 18° de la ley 16.065 (ley de creación del INIA), con el destino de financiar proyectos especiales de investigación tecnológica relativos al sector agropecuario del Uruguay, no previstos en los planes del Instituto.

El FPTA se integra con la afectación preceptiva del 10% de los recursos del INIA provenientes del financiamiento básico (adicional del 4o/oo del Impuesto a la Enajenación de Bienes Agropecuarios y contrapartida del Estado), con aportes voluntarios que efectúen los productores u otras instituciones, y con los fondos provenientes de financiamiento externo con tal fin.

EL FPTA es un instrumento para financiar la ejecución de proyectos de investigación en forma conjunta entre INIA y otras organizaciones nacionales o internacionales, y una herramienta para coordinar las políticas tecnológicas nacionales para el agro.

Los proyectos a ser financiados por el FPTA pueden surgir de propuestas presentadas por:

- a) los productores agropecuarios, beneficiarios finales de la investigación, o por sus instituciones.
- b) por instituciones nacionales o internacionales ejecutoras de la investigación, de acuerdo a temas definidos por sí o en acuerdo con INIA.
- c) por consultoras privadas, organizaciones no gubernamentales o cualquier otro organismo con capacidad para ejecutar la investigación propuesta.

En todos los casos, la Junta Directiva del INIA decide la aplicación de recursos del FPTA para financiar proyectos, de acuerdo a su potencial contribución al desarrollo del sector agropecuario nacional y del acervo científico y tecnológico relativo a la investigación agropecuaria.

El INIA a través de su Junta Directiva y de sus técnicos especializados en las diferentes áreas de investigación, asesora y facilita la presentación de proyectos a los potenciales interesados. Las políticas y procedimientos para la presentación de proyectos son fijados periódicamente y hechos públicos a través de una amplia gama de medios de comunicación.

El FPTA es un instrumento para profundizar las vinculaciones tecnológicas con instituciones públicas y privadas, a los efectos de llevar a cabo proyectos conjuntos.

De esta manera, se busca potenciar el uso de capacidades técnicas y de infraestructura instalada, lo que resulta en un mejor aprovechamiento de los recursos nacionales para resolver problemas tecnológicos del sector agropecuario.

El Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria contribuye de esta manera a la consolidación de un sistema integrado de investigación agropecuaria para el Uruguay.

A través del Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria (FPTA), INIA ha financiado numerosos proyectos de investigación agropecuaria a distintas instituciones nacionales e internacionales. Muchos de estos proyectos han producido resultados que se integran a las recomendaciones tecnológicas que realiza la institución por sus medios habituales.

En esta serie de publicaciones, se han seleccionado los proyectos cuyos resultados se considera contribuyen al desarrollo del sector agropecuario nacional. Su relevancia, el potencial impacto de sus conclusiones y recomendaciones, y su aporte al conocimiento científico y tecnológico nacional e internacional, hacen necesaria la amplia difusión de estos resultados, objetivo al cual se pretende contribuir con esta publicación.

RESUMEN proyecto FPTA:

Carpocapsa (*Cydia pomonella*) es la plaga de mayor importancia de manzano y peral en Uruguay. Por ello, en los últimos años se han hecho esfuerzos tendientes a su control por métodos alternativos al uso de insecticidas, como el método de confusión sexual, en el marco del Programa de Manejo Regional de Plagas en frutales de hoja caduca. Al disminuir el uso de insecticidas, se observó un aumento de las poblaciones de lagartitas en manzanos, *Argyrotaenia spheropa* (Tortricidae) y *Bonagota salubricola* (Tortricidae), con sus consecuentes daños a la fruta. Una forma posible de control de lagartitas es el uso de las feromonas sexuales de estas especies por el método de confusión sexual. Para ello se hace necesario disponer localmente de dichas feromonas y la evaluación a nivel de campo de su efectividad. Debido a la importancia económica de los daños producidos localmente en frutales, se hace necesaria la implementación de efectivas técnicas de control. Los estudios previos con carpocapsa demostraron la necesidad de controlar la incidencia de lagartitas en frutales de pepita. El objetivo de este proyecto es la realización de ensayos de campo con las feromonas sexuales de *A. spheropa* y *B. salubricola* para validar el método de control de estas plagas por confusión sexual. Esto permitirá transferir la tecnología generada al sector frutícola e incluir estas especies en el Programa de Manejo Regional de Plagas en frutales de hoja caduca.

AGRADECIMIENTOS

A las Instituciones que apoyaron y financiaron el presente trabajo, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Facultad de Agronomía, Facultad de Química, Centro Universitario Regional Litoral Norte, Dirección General de la Granja (MGAP), Asociación de Fruticultores de Producción Integrada (AFRUPI), Juventud Melilla Cooperativa Agraria Limitada (JUMECAL).

A Don Thomson y Jack Jenkins (Pacific Biocontrol Corporation)

A Naoki Ishibashi, Takeshi Kinsho, Tatuya Fujii y Toshi Nojima (Shin-Etsu Chemical Company).

A los productores que desinteresadamente permitieron la instalación de emisores y trampas y facilitaron la revisión de las mismas y el monitoreo de daños a lo largo del proyecto: Ing. Agr. Adriana Zumarán, Martín Birriel y Alejandro Calcetto, a sus Ingenieros Agrónomos asesores: Juan Carbone y Pablo Nuñez.

A María Victoria Calvo, Soledad Delgado, Gualberto Bottini, Diego Llona, Nicolás Yakimik, Angelo Turra, Diana Valle, Guillermo Rehermann y Santiago Cocco, que participaron en la instalación inicial de emisores.

Índice general

CAPITULO 1.

Introducción: el uso de confusión sexual en el manejo de plagas de frutales..... 11

CAPITULO 2.

Argyrotaenia sphaleropa y *Bonagota salubricola*: importancia, biología y comunicación química..... 18

CAPITULO 3.

Síntesis y formulación de los componentes de la feromona sexual de *A. sphaleropa*. 23

CAPITULO 4.

Evaluación de la confusión sexual en condiciones de campo..... 25

Bibliografía..... 38

Editor: Viviana Heguaburu*

Equipo de trabajo: Ing. Agr. Valentina Martínez Sabaj (Facultad de Agronomía, UdelaR), Katherine Rasquin (CENUR Litoral Norte, UdelaR), Prof. Iris Scatoni (Facultad de Agronomía, UdelaR), Prof. Andrés González (Facultad de Química, UdelaR) y Prof. Viviana Heguaburu (CENUR Litoral Norte, UdelaR).

Con la participación de: María Valentina Mujica (INIA Las Brujas), Asociación de Fruticultores de Producción Integrada (AFRUPI), Juventud Mellilla Cooperativa Agraria Limitada (JUMECAL), Pacific Biocontrol Corporation (Shin-Etsu Chemical Company).

PRODUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE FEROMONAS SEXUALES PARA EL CONTROL DE TORTRÍCIDOS NATIVOS (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) EN FRUTALES DE PEPITA.

FPTA 304

Período de Ejecución: Julio 2014 - Marzo 2018

1. Introducción: el uso de confusión sexual en el manejo de plagas de frutales

La Organización Internacional para la Lucha Biológica (OILB) define a la Producción Integrada como "Un sistema de explotación agraria que produce alimentos y otros productos de calidad mediante el uso de recursos naturales y de mecanismos reguladores, para reemplazar los insumos contaminantes y para asegurar una producción sostenible". En consecuencia, este enfoque concierne a la calidad de los productos agrícolas, especialmente en relación a su impacto ambiental, sobre la salud de los trabajadores rurales y consumidores. Dentro de esta modalidad de producción encontramos la protección integrada de los cultivos, que engloba todas las técnicas que pueden proteger un agro-ecosistema contra sus enemigos, en respuesta también a imperativos económicos, ecológicos y toxicológicos. La atención ya no se enfoca actualmente sólo en las especies dominantes, plagas o útiles, que viven en una parte de los cultivos, sino también en medidas preventivas de gestión de la fauna, manteniendo un cierto equilibrio entre organismos antagonistas y preservando la biodiversidad de los organismos. El Manejo Integrado de Plagas, es la lucha contra los organismos plaga utilizando un conjunto de métodos que satisfacen exigencias económicas, ecológicas y toxicológicas, reservando la prioridad en la utilización deliberada de elementos naturales de control, respetando umbrales de tolerancia,

privilegiando los medios ecológicos (Scatoni *et al.*, 2002; Witzgall *et al.*, 2010).

El estudio de la comunicación química en insectos que son plagas agrícolas ha permitido desarrollar estrategias de manejo alternativas al uso de insecticidas, permitiendo racionalizar su empleo y contrarrestar el avance de la contaminación en este sector. Las feromonas son señales químicas que los insectos y otros organismos emiten para comunicarse con miembros de su misma especie. Dentro de estas señales químicas se destacan las feromonas de comunicación sexual con fines reproductivos, las que son particularmente importantes en la ecología reproductiva de lepidópteros. Se producen en las glándulas abdominales de las hembras como una mezcla de componentes en proporciones definidas y específicas. Los machos perciben las feromonas sexuales de hembras co-específicas a través de sus antenas, con extrema sensibilidad, y responden volando hacia la fuente de emisión de la señal. Esta sensibilidad y especificidad posibilita el uso de feromonas sexuales de lepidópteros como estrategia de manejo de plagas, un uso que ha ido creciendo a nivel mundial (Witzgall *et al.*, 2010).

Debido a sus propiedades de atracción, las feromonas sexuales de lepidópteros pueden ser utilizadas para el monitoreo y control de especies que provocan daños en cultivos. A través de la perturbación del comportamiento reproductivo de las especies, es posible la reducción de la población en la siguiente generación.

El uso de feromonas sexuales para el control de plagas presenta numerosas ventajas con respecto al uso de insecticidas convencionales (Howse *et al.*, 1998; Witzgall *et al.*, 2010):

- Son volátiles e inoocuos, no dejando residuos tóxicos en el ambiente y en los alimentos, presentando seguridad para el trabajador rural.
- Tienen una alta especificidad, afectando únicamente a la especie objetivo. Así mismo presentan inocuidad para organismos benéficos.
- Se utilizan en pequeñas cantidades.

El monitoreo espacial y temporal de plagas permite un uso racional del control químico, ubicándolo en el momento apropiado y disminuyendo significativamente las aplicaciones de insecticidas respecto al uso preventivo de los mismos. Por otra parte, el control de plagas basado en feromonas puede eliminar o reducir en forma muy importante la necesidad de control químico, y es utilizado con éxito para aproximadamente una decena de especies, aunque su potencial es significativamente mayor (Witzgall *et al.*, 2010, González *et al.*, 2012).

Detección y Monitoreo:

La aplicación más extendida de feromonas sexuales consiste en su uso para detección y monitoreo de insectos plaga, permitiendo estimar la población de una plaga en tiempo y espacio. Las feromonas sintéticas se cargan en septos de goma en cantidades que oscilan entre 0,1 y 1 miligramos, y se colocan dentro de trampas que retienen a los machos atraídos. Los datos de capturas de machos permiten determinar cuándo y dónde la plaga está presente, y además estimar su dinámica poblacional, estableciendo así los momentos precisos de aplicación de estrategias de control. En algunas especies se ha desarrollado una correlación precisa entre las capturas de machos y la población de larvas esperadas para la generación siguiente. Esto permite la utilización de umbrales de capturas que disparen medidas de control (Nuñez y Scatoni, 2013; Arn, 1990; Witzgall *et al.*, 2010).

Las feromonas de unas 2000 especies de lepidópteros se han caracterizado químicamente (El-Sayed 2018), y en la actualidad decenas de especies plaga son rutinariamente monitoreadas mediante septos de feromonas comercializados por distintas empresas regionales o internacionales,

especialmente para aquellas especies cosmopolitas o de amplia distribución mundial. Sin embargo, existen feromonas de algunas especies que si bien han sido caracterizadas, por ser nativas y sólo relevantes a nivel regional, no se encuentran disponibles comercialmente, como es el caso de la especie *Argyrotaenia spheropa* (Lepidoptera: Tortricidae).

Control:

Existen varias estrategias de control basadas en feromonas: el trapeo masivo, los atracticidas y la confusión sexual. Esta última ha sido y continúa siendo la más importante, tanto a nivel de investigación como de aplicación (Witzgall *et al.*, 2010).

El trapeo masivo y el uso de atracticidas comparten el concepto de atraer y eliminar una proporción importante de insectos en un área, de modo de mantener sus poblaciones por debajo del umbral de daño. La diferencia entre ellas radica en la forma de eliminación, mediante trampas (trapeo masivo) o insecticidas (attractivas). Si se utilizan atrayentes para ambos sexos, por ejemplo feromonas de agregación o cebos alimenticios, se reducen las poblaciones de machos y hembras, con mayor probabilidad de éxito en el control de la plaga. Ambos métodos requieren menor cantidad de feromonas que la confusión sexual, lo cual puede reducir significativamente los costos de utilización (Witzgall *et al.*, 2010).

La técnica de confusión sexual, consiste en sobrecargar el ambiente con grandes cantidades de feromona sexual, de manera de alterar el comportamiento del macho (Figura 1.1). Esta técnica causa desorientación e interrupción de la comunicación entre los sexos, y por lo tanto retrasa, reduce o previene la fertilización de las hembras. A diferencia de las técnicas descritas anteriormente, en confusión sexual no es necesario el empleo de la mezcla natural que compone la feromona sexual, ya que el efecto de confusión puede ocurrir con mezclas simplificadas o simplemente con el componente mayoritario, con importantes ventajas en cuanto al costo del método (Stelinski *et al.*, 2008). En forma general, se requiere la aplicación de 10 a 100 gramos de feromona por hectárea y por temporada para lograr la interrupción de la comunicación sexual (Witzgall *et al.*, 2010). Por lo tanto, el desarrollo de esta estrategia de control en escala comercial requiere que la feromona necesaria sea sintetizada en una

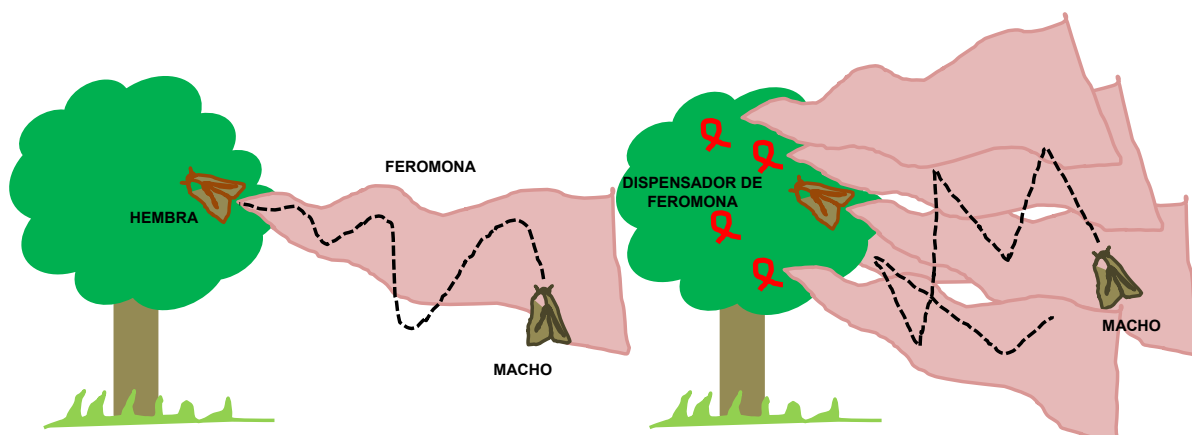


Figura 1.1. Técnica de confusión sexual.

escala del orden de kilogramos, lo cual representa una limitante importante en la aplicación masiva de esta técnica.

La permeación eficiente del aire en un cultivo es un aspecto fundamental para el éxito de la confusión sexual, por lo que la tecnología asociada al desarrollo de liberadores ha jugado un papel importante en el avance de esta técnica. Se han desarrollado una gran variedad de liberadores de feromona, incluyendo algunos asperjables como microcápsulas o fibras huecas, y otros de aplicación manual, que son los más utilizados. Entre éstos, los más comunes son los liberadores de alambre forrados en polietileno (rope dispensers), los que se pueden moldear para asegurarlos en ramas u otras estructuras. Éstos se aplican en cantidades entre 250 y 1000 por hectárea, y cada uno emite aproximadamente 1000 veces más feromona que una hembra (Witzgall *et al.*, 2008).

La confusión sexual es más efectiva en grandes áreas, debido en parte a que se reduce el impacto de hembras copuladas que migran al área tratada, además que se facilita una permeación homogénea del aire por el aumento de la relación área/borde. Por lo tanto, en cultivos y regiones donde la producción se realiza en forma fragmentada, es esencial la coordinación de productores para aplicar la técnica simultáneamente en áreas amplias. Asimismo, la eficacia de esta tecnología depende en forma importante de la población inicial de la plaga, siendo a veces necesario una aplicación inicial de insecticida.

Además de las limitaciones ya mencionadas, el uso de confusión sexual tiene otras dificultades que explican en parte lo limitado de su aplicación.

La especificidad e inocuidad de las feromonas, aspectos destacados como positivos, pueden también ser su principal problema. Los cultivos afectados por una diversidad de plagas requieren el desarrollo de estrategias de confusión en paralelo, o la combinación de confusión sexual para la plaga principal con otros métodos para el control de plagas secundarias. Asimismo, cada especie requiere liberadores específicos, y la síntesis de feromonas en la escala necesaria para confusión sexual es económicamente factible únicamente para algunas especies, dependiendo de la estructura química, la distribución de la especie plaga, y la propia demanda por métodos de control basados en feromonas. Indudablemente, muchas especies podrían ser controladas por este método, más allá de la decena para las cuales se utiliza, de existir la disponibilidad de productos comerciales para un universo mayor de especies. Finalmente, al ser un tratamiento inocuo, es totalmente inútil en situaciones en las cuales pueden ingresar hembras copuladas al predio tratado con feromonas (Witzgall *et al.*, 2008). La ecuación de costos de manejo de plagas es otro aspecto importante, y ésta depende de muchos factores. En países donde una variedad de insecticidas de amplio espectro como organofosforados y carbamatos son aún permitidos, el bajo costo de éstos generalmente limita la competitividad de la confusión sexual, la cual a su vez es altamente dependiente del alto costo de las feromonas sintéticas. Es aquí que la tecnología de liberadores «inteligentes» podría ser fundamental, ya que se lograría disminuir en forma muy importante la cantidad de feromona necesaria. Las regulaciones públicas sobre el uso de insecticidas, la aparición de resistencia a muchos principios activos, la demanda de los consumidores, así como las barreras impuestas

Tabla 1.1. Uso mundial de confusión sexual (Miller y Gut, 2015)

Plaga	Cultivo	Región	Área (Ha)
Polilla gitana (<i>Lymantria dispar</i>)	Forestal	USA	200,000
Carpocapsa (<i>Cydia pomonella</i>)	Manzana, pera, nuez	América del Norte, Unión Europea, Sudáfrica, Uruguay , Argentina, Chile, Australia, N. Zelanda, Israel	220,000
Polilla de la uva (<i>Lobesia botrana</i>)	Uva	Unión Europea	150,000
Grafolita (<i>Grapholita molesta</i>)	Durazno, manzana	USA, Australia, Unión Europea, América del Sur , Japón	60,000
Polilla de la vid (<i>Eupoecilia ambiguella</i>)	Uva	Unión Europea	60,000
Gusano rosado (<i>Pectinophora gossypiella</i>)	Algodón	USA, Israel, América del Sur, Unión Europea	19,000
Lagartitas (<i>Tortricidae</i>)	Manzana, pera, durazno, té	USA, Australia, Unión Europea, Japón, N. Zelanda	15,000
Otras especies	Frutas, vegetales, arroz	Australia, Unión Europea, Japón, México, N. Zelanda, USA	32,000
Total			756,000

por algunos mercados en base a residuos de plaguicidas, forman un conjunto de condiciones que afectan la motivación del productor por demandar y utilizar estrategias alternativas de control de plagas, aunque las mismas sean más caras o complejas en su aplicación. Esta motivación es un factor importante para explicar la sustancial diferencia a nivel regional en la aplicación de confusión sexual para especies como *Cydia pomonella*, cuya eficacia ha sido sólidamente comprobada (Witzgall 2001).

Mundialmente, ha surgido una industria de feromonas viable y en expansión. Se han desarrollado productos de confusión sexual para más de veinte especies de insectos y se utilizan en más de 750,000 hectáreas en todo el mundo (Tabla 1.1) (Miller y Gut, 2015). Esto equivale a un aumento del 75% en el área tratada comercialmente en los últimos diez años. Actualmente hay más de 120 productos de confusión sexual para 18 especies objetivo, registrados en la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de Estados Unidos. Carpacapsa [*Cydia pomonella* (L.)] (Lepidoptera: Tortricidae) y grafolita [*Grapholita molesta* (Busck)] (Lepidoptera: Tortricidae) son la plagas que han recibido mayor atención.

El mecanismo por el cual funciona la confusión sexual aun es incierto. Los mecanismos más probables corresponden a la adaptación sensorial,

la competencia entre las fuentes puntuales de emisión y las hembras, y el camuflaje de la pluma de feromona de las hembras (Cardé y Minks, 1995). La mayoría de estos mecanismos propuestos han sido descritos por Bartell (1982) y se presentan en mayor detalle a continuación:

- **Disminución de la respuesta por adaptación sensorial:** El encuentro con la feromona sintética puede aumentar el umbral de respuesta del macho o suprimir la respuesta por completo. Esto puede deberse a la adaptación de los receptores periféricos en la antena. La saturación de los receptores de antena por lo tanto genera una menor respuesta.
- **Camuflaje de la pluma de olor de la hembra:** La concentración de la feromona emitida por la hembra se vuelve imperceptible al estar en un ambiente de feromona sintética. A una cierta distancia, el macho no es capaz de distinguir la pluma natural.
- **Competencia entre el llamado de la hembra y las fuentes de feromona sintética:** Los machos responden a la pluma de olor proveniente de los dispensadores. La proporción de dispensadores con respecto a los llamados de hembra, así como su capacidad de atracción, definen la intensidad de esa competencia. El tiempo y energía que pierde el macho orientándose a estas fuentes artificiales disminuye su capacidad para orientarse hacia la pluma de la hembra.

- **Desbalance sensorial:** Por lo general las feromonas están formadas por más de un componente. La respuesta a las mezclas va a depender de un rango muy pequeño de proporciones de los componentes de una feromona. El uso de proporciones distintas a las emitidas en las glándulas abdominales de la hembra, así como el uso de mezclas parciales de componentes, puede crear un desbalance sensorial, lo cual puede poner en jaque la capacidad de respuesta para percibir la mezcla correcta.

Los dispensadores de feromona que se utilizan para la técnica de confusión sexual han sido diseñados para liberar una tasa adecuada de feromona por superficie en condiciones de campo. Existen varios tipos de emisores que se comercializan en la actualidad (Figura 1.2), y estos se han diseñado teniendo en cuenta varios criterios (Miller *et al.*, 2006). Particularmente se procura que los mismos permitan una liberación de feromona durante un tiempo prolongado. Así mismo, es necesaria la protección de los ingredientes activos sensibles a la degradación. También se buscan cualidades como su facilidad de aplicación en el cultivo.

Uno de los mayores usos mundiales de confusión sexual es para el control de carpocapsa. En la actualidad, aproximadamente 220.000 hectáreas de cultivos frutales en todo el mundo se tratan con feromonas para el manejo de *C. pomonella* (Millar y Gut, 2015). El desarrollo comercial de la confusión sexual de carpocapsa es un hito notable de la Ecología Química aplicada.

La adopción generalizada del método ha sido impulsada por una base sólida de investigación de laboratorio y campo (Witzgall *et al.* 2008) y por la disponibilidad limitada de insecticidas debido a la resistencia y trabas regulatorias. El mejor control se registró cuando las densidades de población iniciales eran bajas (Witzgall *et al.*, 2008). Lograr el control si las densidades de carpocapsa eran excesivas (más del 1% de daño en los cultivos en la temporada anterior) requirió insecticidas suplementarios para reducir la presión de la plaga (Gut y Brunner 1998, Thomson *et al.* 2001). Cuanto mayor sea el área tratada, mejor será el control, tal vez en parte debido a la mitigación de la afluencia de hembras apareadas de áreas adyacentes no tratadas. La demostración de la efectividad de la confusión sexual en programas de manejo de áreas patrocinadas por los gobiernos desempeñó un papel especialmente importante en el éxito comercial del enfoque (Weddle *et al.* 2009, McGhee *et al.* 2011). Una gran cantidad de investigación práctica ha acompañado la adopción de esta técnica de control por parte de los productores. La confusión sexual funciona mejor cuando los dispensadores se colocan en la parte superior de la copa y la eficacia aumenta a medida que aumenta la densidad de dispensadores. La herramienta de monitoreo de elección suele ser la trampa de feromona, considerando que el no atrapar a los machos, denominado como “silenciado” de la trampa, debería corresponder a una falla de los machos para encontrar hembras reales. Desafortunadamente, el descenso de capturas en trampas no siempre es un indicador confiable de control exitoso.



Figura 1.2. Dispensadores de feromona de confusión sexual para el control de plagas de frutales.

La investigación sobre la técnica de confusión sexual en Uruguay comenzó en 1989 en el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) y la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República, para controlar grafolita y carpocapsa, basados en experiencias exitosas de fruticultores en Estados Unidos y Europa. Desde 1998 a 2003, se implementó un programa de Producción Integrado de Frutas (PFI) utilizando la confusión sexual a escala predial (Núñez y Scatoni, 2013). Muchos productores han seguido los principios de la PFI, no obstante, el pequeño tamaño de los predios generó una gran influencia de los vecinos que impidió que algunas herramientas de control tan selectivas, como la liberación de enemigos naturales o el uso de la confusión sexual, pudieran expresar todo su potencial. Esto llevó a los investigadores a comenzar a ajustar un enfoque de área amplia.

En 2010, a partir de los buenos resultados obtenidos con el programa CAMP en los EE.UU (Knight 2008, Koul *et al.*, 2008) la cooperativa de frutas JUMECAL implementó el proyecto "Manejo Regional de Plagas de Frutas" respaldado técnicamente por INIA y Facultad de Agronomía, con el apoyo financiero de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) (Figura 1.3).

Entre el comienzo y el 2012, la cobertura del programa fue de 100 a 300 ha, área en la que se aplicaron estrictamente la confusión sexual para carpocapsa y grafolita y el monitoreo de plagas (Núñez *et al.*, 2011). Este proyecto cobra fuerza a partir de la cosecha de frutas 2011/2012, en la cual se constataron altos niveles de daños causados por carpocapsa (*Cydia pomonella*) y grafolita (*Grapholita molesta*) a nivel nacional. En este contexto fueron rechazadas exportaciones a Brasil por presencia de larvas de carpocapsa y grafolita y a Europa por presencia de residuos de plaguicidas en frutas. Así mismo, la Unión Europea prohibió el uso de algunos insecticidas y los límites máximos de residuos se volvieron más rigurosos.

En 2012 se instaló el primer programa de área amplia en Uruguay, el Programa de Manejo Regional de Plagas, llevado a cabo por la Dirección General de la Granja (DIGEGR-MGAP), la Dirección General de Servicios Agrícolas (DGSSAA-MGAP), el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), y la Facultad de Agronomía (UdelaR), el cual cubre el 90% del área de frutales de hoja caduca de Uruguay (MGAP, 2018). Esto corresponde a una superficie de 4400 hectáreas, en la cual participan 430 productores.



Figura 1.3. Establecimientos frutícolas de la zona de Melilla.

El control de carpocapsa y grafolita es un caso exitoso del uso de confusión sexual en Uruguay, cubriendo cultivos comerciales de Montevideo, Canelones, San José y Colonia. En este programa se utilizan entre 250 y 1000 emisores por hectárea, según la marca comercial. Así mismo la utilización de insecticidas en estas superficies es realizada según las recomendaciones del programa. Los criterios de intervención con insecticida se basan en el número de capturas en trampas de feromona (Figuras 1.4 y 1.5), así como en la presencia del daño en brotes o fruta. A través de este programa se ha logrado una reducción de 50% en la aplicación de insecticidas, así como la disminución de los daños provocados por lepidópteros a niveles cercanos al 0% (Nuñez *et al.*, 2011, Zoppolo *et al.* 2016). Al ser carpocapsa controlada en manzanos y perales por un método específico como la confusión sexual, en conjunto con la disminución del uso de insecticidas, se constató el resurgimiento de plagas secundarias *Argyrotaenia sphaleropa* y *Bonagota salubricola* (lagartitas de los frutales) (Bentancourt *et al.*, 2006; 2010; Scatoni, 2011). Es por este motivo que también se utilizan trampas de feromona para el monitoreo de estas especies. Estudios anteriores de Nuñez y Canessa (1999) demostraron que los mejores resultados de campo para el monitoreo de *A. sphaleropa* se obtuvieron con una mezcla de proporciones 4: 4: 1 (Z11,13-14: Ac, Z11,13-14: Ald and Z11-14: Ald respectivamente). Aunque la feromona sexual de *A. sphaleropa* no se encuentra disponible comercialmente, el Programa Regional

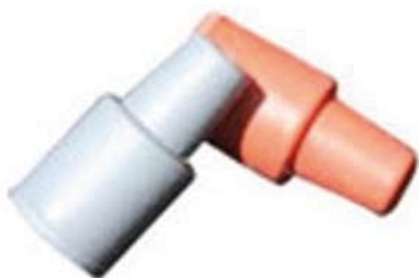


Figura 1.4. Septos de goma de caucho donde se impregna la feromona sexual para monitoreo de plagas

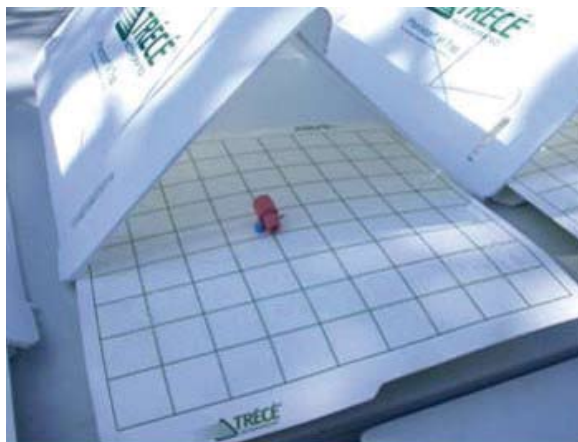


Figura 1.5. Trampas de feromona para el monitoreo de adultos.

de Manejo de Plagas en Uruguay se encuentra monitoreando esta especie con la feromona sintetizada por el Departamento de Química del Litoral.

En este contexto, hay una necesidad de desarrollar estrategias de control selectivas para estas especies nativas, con el fin de evitar el uso de insecticidas. Debido a sus características biológicas y a su rango de hospederos, tanto *A. sphaleropa* como *B. salubricola*, son aptas para ser controladas por el método de confusión sexual (Bavaresco *et al.*, 2005; Pastori *et al.* 2012; Legrand *et al.* 2004; Morandi Filho, *et al.*, 2007).

El objetivo del presente proyecto consiste en desarrollar una estrategia de control para *A. sphaleropa* y *B. salubricola* como alternativa al control químico convencional en frutales de pepita.

Para ello nos planteamos los siguientes objetivos específicos:

1. Sintetizar los componentes de la feromona sexual de *A. sphaleropa* en escala de gramos.
2. Evaluar la eficacia de la confusión sexual para el control de *A. sphaleropa* y *B. salubricola*.

2. *Argyrotaenia sphaleropa* y *Bonagota salubricola*:

Importancia, biología y comunicación química.

Los frutales de hoja caduca ocupan una superficie aproximada de 5400 ha ubicadas principalmente en los departamentos de Canelones y Montevideo, de las cuales 3444 ha están dedicadas a la plantación de frutales de pepita (2677 ha de manzanos y 767 ha de perales) (DIEA, 2018). El principal destino de los frutos es el consumo en fresco, tanto para el mercado interno como para la exportación. Por este motivo la calidad cosmética de la fruta adquiere especial relevancia y los daños o defectos no son admitidos. Una característica de la fruticultura en Uruguay es que se desarrolla en predios relativamente pequeños donde coexisten diversas especies y variedades de frutales. El 42% de la producción de manzanas y el 50% de la producción de peras se encuentra en parcelas menores a 10 ha, lo que hace más complejo el manejo de algunas plagas (DIEA, 2015).

Entre las especies plaga de mayor relevancia que afectan a los frutales de pepita, se destacan

los tortricídeos *Cydia pomonella*, *Argyrotaenia sphaleropa* y *Bonagota salubricola*, por los daños directos que causan sobre la fruta desvalorizándolas totalmente. De no adoptarse medidas de control entre el 80 y 100% de la producción puede verse afectada (Bentancourt y Scatoni, 2006). Nueve a diez aplicaciones de insecticidas son necesarias para obtener fruta de valor comercial siguiendo una estrategia convencional de control (Nuñez y Scatoni, 2001). Estos cultivos se caracterizan por un alto uso de insumos, entre ellos los plaguicidas que alcanzan cifras cercanas a los 100 kg/ha. La tercera parte de estos plaguicidas van destinados al control de los insectos que dañan la fruta. Entre ellos se destaca carpocapsa (*Cydia pomonella*), especie a la cual iban dirigidas la mayoría de las aplicaciones (Bentancourt, 2006 y 2010).

A través del Programa de Manejo Regional de Plagas de frutales se ha logrado disminuir los daños provocados por lepidópteros a niveles cercanos al 0% y además se han reducido las aplicaciones de insecticidas al 50% (Zoppolo *et al.*, 2016). La mayoría de las aplicaciones que aún son necesarias van dirigidas al control de los tortricídeos nativos. En estudios previos, se ha detectado que cuando se sustituyen los insecticidas de amplio espectro para el control de carpocapsa



Figura 2.1. Adultos de *B. salubricola* y *A. sphaleropa*



Figura 2.2. Puestas de *B. salubricola* y *A. sphaleropa*.



Figura 2.3. Larvas de *B. salubricola* y *A. sphaleropa*.

en los frutales de pepita por métodos específicos como la confusión sexual, otras especies de lepidópteros que eran controladas colateralmente y pasaban desapercibidas en el cultivo ocupan ese nicho. Entre esas especies se encuentran dos tortricidos nativos, *Argyrotaenia sphaleropa* y *Bonagota salubricola* (Lepidoptera: Tortricidae) conocidas en nuestro medio como lagartitas de los frutales (Figuras 2.1 a 2.3) (Bentancourt, 2006 y 2010; Scatoni, 2011). Estas especies dañan brotes y frutos externamente y cada larva puede alimentarse de todos los frutos de un racimo o racimos contiguos para completar su desarrollo (Figuras 2.4 y 2.5).

Las larvas de *A. sphaleropa* y *B. salubricola* se conocen como lagartitas de los racimos o de los frutales respectivamente. Son plagas erráticas, con una presencia que varía mucho entre años, e incluso entre localidades. Ambas especies son polífagas y sus larvas se alimentan de varios hospederos, además de frutales. Dentro de las plantas cultivadas se las observa atacando con frecuencia manzano, peral y viña. En manzano las larvas pequeñas se instalan en los brotes donde se alimentan de las hojas nuevas y tejen hilos de seda entre las mismas. Pero los perjuicios más importantes son en los frutos. Estos son dañados superficialmente de manera irregular próximo a la cavidad peduncular, en la zona de contacto de dos frutos o de un fruto y una hoja (Bentancourt *et al.*, 1988, 2003, 2004). A diferencia de carpocapsa la larva no penetra al fruto. Los

adultos son principalmente crepusculares y nocturnos. *A. sphaleropa* cumple generalmente cuatro generaciones anuales. El vuelo de la primera generación ocurre durante diciembre. Los huevos son depositados en masa en las hojas y estos eclosionan entre seis y diez días después. Estas larvas pertenecientes a la segunda generación, aparecen a fines de diciembre y prosiguen hasta febrero. Las mariposas de la segunda generación vuelan durante enero y parte de febrero. Las larvas de la tercera generación evolucionan principalmente durante febrero y marzo. Estas poblaciones suelen ser las más altas y responsables de los mayores daños. Durante marzo y abril ocurren los vuelos de los adultos de la tercera generación. Pueden existir una o dos generaciones más durante el invierno cuyos vuelos se dan en la primavera siguiente. En invierno las larvas permanecen en forma activa sobre plantas de hoja perenne, como ser madreSelva, jazmín y ligustro (Bentancourt y Scatoni, 2006). *B. salubricola* presenta cinco generaciones al año. Su desarrollo estacional es similar al de *A. sphaleropa*, aunque con una generación adicional en el período invernal. En manzano y vid las larvas se observan desde mediados de diciembre hasta abril y mayo. Durante el invierno permanecen activas, incluso es posible encontrar puestas y larvas de diferentes estadios en plantas de hoja perenne como jazmín, vinca y madreSelva. Los adultos vuelan durante todo el año, incluso en los meses de julio y agosto con muy bajas temperaturas (Bentancourt & Scatoni, 2006).



Figura 2.4. Daño por lagartitas en fruto.



Figura 2.5. Daño por lagartitas en hoja.

En este contexto se hace necesario desarrollar estrategias de control selectivas para estas especies a los efectos de no tener que intervenir con insecticidas para su control. Tanto *A. sphaleropa* como *B. salubricola*, por sus características biológicas y rango de hospederos, son factibles de ser controladas por el método de confusión sexual (Bavaresco et al, 2005; Nuñez, 1999; Pastori et al., 2012; Legrand et al., 2004).

Las feromonas sexuales para el monitoreo de plagas cosmopolitas como carpocapsa y grafolita en Uruguay se utilizan comercialmente desde 1970. En 1990 comienzan las primeras importaciones de feromonas de confusión sexual con objetivos de investigaciones y validación de la técnica para las especies antes mencionadas en las condiciones de producción de frutales de hoja caduca de nuestro país. Luego de dos o tres años consecutivos de evaluación de

esta estrategia en los mismos establecimientos comenzó a observarse un aumento de la incidencia de *A. sphaleropa* y *B. salubricola* en montes de manzanos, con sus consecuentes daños a la fruta. A partir de ese momento el sector productivo comienza a demandar trampas para el monitoreo de estas plagas a los efectos de prever su presencia y determinar los momentos oportunos de control. Las trampas de alimentación utilizadas por el sistema de alarma en el pasado no son una alternativa práctica para el monitoreo a nivel predial y dado que son especies de distribución regional presentes en Uruguay y países limítrofes se plantearon líneas de investigación para la identificación de sus feromonas.

Las feromonas de estas dos especies están formadas por mezclas de compuestos. En el caso de *B. salubricola* la feromona contiene acetato de (E,Z)-3,5-dodecadienilo (E3,Z5-12:Ac) como

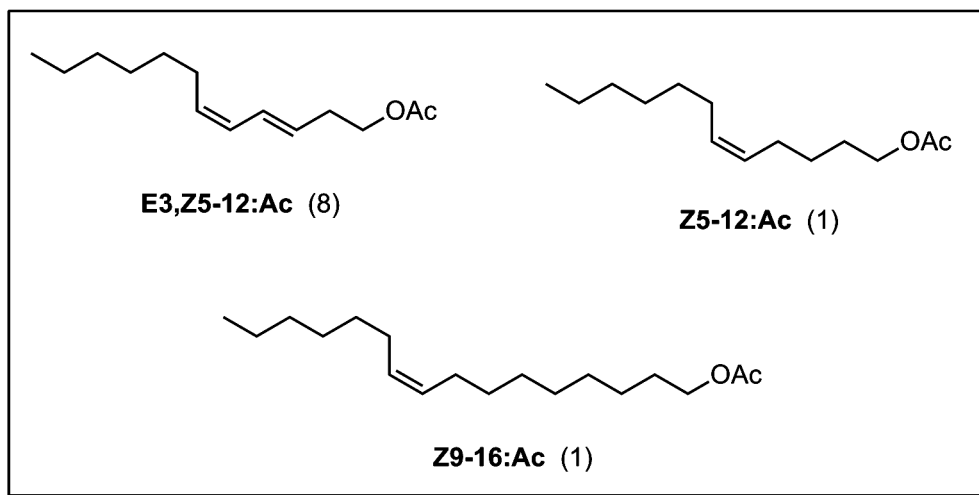


Figura 2.6.Componentes mayoritarios de la feromona sexual de *B. salubricola* (los valores entre paréntesis indican la proporción relativa de estos compuestos en las glándulas de las hembras).

componente mayoritario, y dos componentes minoritarios: acetato de (Z)-9-hexadecenilo (Z9-16:Ac) y acetato de (Z)-5-dodecenilo (Z5-12:Ac) en proporciones 8:1:1, respectivamente (Figura 2.6) (Unelius *et al.*, 1996; Eiras *et al.*, 1999). Respecto a la feromona de *B. salubricola*, la necesidad del uso de los tres componentes de la mezcla se refleja en la mayor efectividad de control lograda por la mezcla frente a la aplicación de los componentes individuales (Nuñez, 1999). Actualmente esta feromona se encuentra disponible comercialmente para monitoreo y control.

En trabajos conjuntos entre INIA y la Facultad de Agronomía con la colaboración de JICA (Agencia de Cooperación Internacional de Japón) primero y TNO (Netherlands Organization for Applied Scientific Research) después, se identificó la feromona de *A. sphaleropa*. Esta está compuesta por (Z,Z)-11,13-tetradecadienal (Z11,13-14:Ald), (Z)-11-tetradecenal (Z11-14:Ald), acetato de (Z)-11,13-tetradecadienilo (Z11,13-14:Ac) y acetato de (Z)-11-tetradecenilo (Z11-14:Ac), en una proporción relativa de 4:1:40:10 en glándulas de hembras (Figura 2.7) (Nuñez *et al.*, 2002).

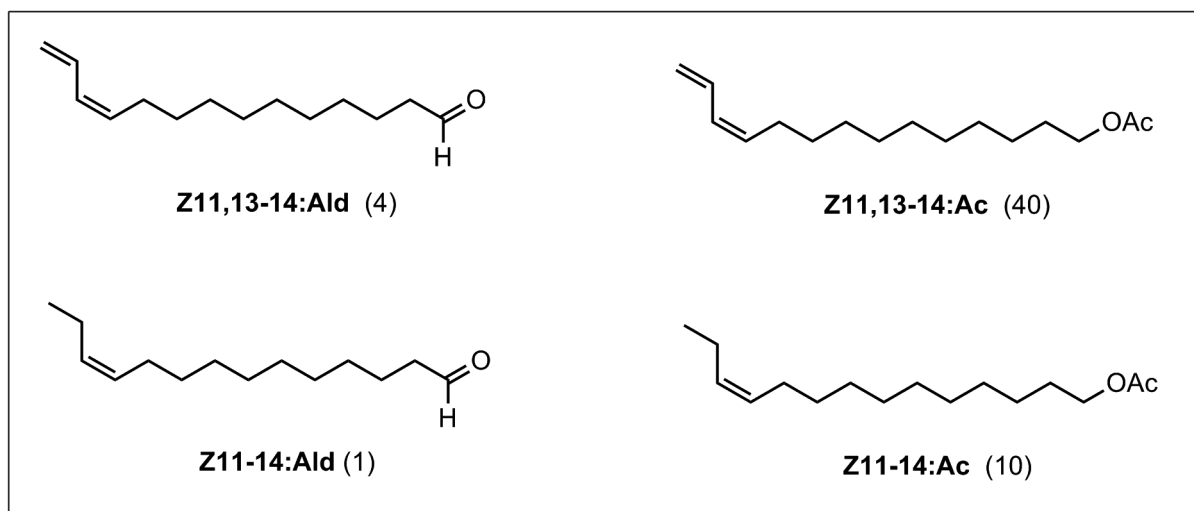


Figura 2.7.Componentes de la feromona sexual de *A. sphaleropa* (los valores entre paréntesis indican la proporción relativa de estos compuestos en las glándulas de las hembras).

En el Laboratorio de Ecología Química de la Facultad de Química de la Universidad de la República se sintetizó esta feromona en escala de 15 gramos para la realización de nuevos experimentos de campo (INIA-Las Brujas) y para brindar servicios de monitoreo a los productores inscriptos en el Programa de Producción Integrada de Frutas, que utilizaban feromona de confusión sexual para carpocapsa (González y Rossini, 2000). En este trabajo se estimó el costo por gramo de mezcla en aproximadamente USD 10. La escala de trabajo utilizada resulta insuficiente para proyectarse a la obtención de feromona en escala de kilogramo, la cual es necesaria para un uso masivo en confusión sexual (aprox. 50 g/ha). En el Departamento de Química del Litoral, del Centro Universitario Regional Litoral Norte de la Universidad de la República se trabajó en la optimización de la síntesis de los componentes de la feromona sexual de *A. sphaleropa*, así como en técnicas de escalado para obtención de feromona en escala de producción masiva.

En la actualidad, la feromona sexual de *A. sphaleropa* (sintetizada en Uruguay por parte de la Universidad de la República), así como la feromona de *B. salubricola* comercial (ISCA Technologies), son utilizadas en trampas de tipo delta para monitoreo poblacional por parte de productores en el marco del Programa de Manejo Regional de Frutales de Hoja Caduca.

Para la implementación del método de confusión sexual para estas dos especies se utilizaron partidas experimentales de dispensadores de tipo cuerda proporcionadas por Shin Etsu Chemical Company. Estos emisores permiten distribuir en el monte frutal la cantidad de feromona necesaria para que la técnica de confusión sexual funcione de manera adecuada. En forma individual, un emisor libera miles de veces más feromona que una hembra en proceso de llamado a cópula. La exposición del macho a altas concentraciones de feromona, hace que éste ya no sea capaz de detectar las pequeñas cantidades liberadas por la hembra, viéndose reducida de esta forma la posibilidad de encuentro de los sexos. En un ambiente como el mencionado, el macho sufre una adaptación de los receptores de la antena, por fatiga sensorial. Esta saturación del ambiente del cultivo con una alta cantidad de feromona sexual, impide al macho localizar a la hembra y por consiguiente evita el apareamiento y la postura de huevos fértiles, interrumpiendo el ciclo de vida

natural de la plaga. La cantidad mínima que debe emitir un emisor es de 0.5 mg por día, durante todo el período de presencia de adultos de la plaga (aprox. 170 días). Tasas de emisión inferiores a este valor podrían comprometer la sanidad de los montes frutales, aunque estos valores son muy dependientes del tipo de emisor a emplear y de su tasa de liberación, del nivel poblacional de la plaga y de las características del predio a tratar. Este tipo de dispensador corresponde a dos tubos de polietileno; en uno se encuentra la feromona y dentro del otro un alambre que permite su torsión y colocación en la planta. Los emisores se colocan en la parte superior del árbol, por encima de los frutos que se hallen más altos. A su vez no deben estar expuestos directamente al sol. La distribución en el área a tratar se realizará de manera homogénea y el número de emisores por hectárea puede variar entre 500 y 1000.

La evaluación del método de confusión sexual se basa en el control de la evolución de la plaga dentro del predio tratado con feromonas, el cual se realiza por muestreo periódico visual de frutos para determinar porcentajes de daño y oviposiciones, así como el uso de trampas de feromonas. Este monitoreo permite conocer la evolución y densidad de la plaga y determinar las acciones correctivas de control correspondiente.

La confusión sexual como técnica para el control de *A. sphaleropa* y *B. salubricola* en cultivos de manzano en la zona sur de Uruguay (Melilla), se evaluó entre los años 2016 y 2018. Se realizó la evaluación y validación de la feromona de ambos tortricidos como método de control por confusión sexual en superficies de 12 has, tratadas también con feromona de confusión sexual para carpocapsa y grafolita. La instalación de emisores se realizó con el inicio de los vuelos. La distribución de emisores en los montes se realizó de manera de aumentar la concentración en las filas de los bordes y distribuyendo uniformemente los demás en las filas restantes, ubicándolos a una altura mayor a 2 metros y teniendo en cuenta los vientos predominantes y la incidencia de luz solar. La efectividad del método en el control de insectos se evaluó desde la instalación de los emisores hasta la cosecha. Las poblaciones de insectos se evaluaron con trampas de feromona. Se realizaron conteos de machos adultos capturados en trampas y observaciones periódicas sobre brotes y frutos para estimar los porcentajes de daño.

3. Síntesis y formulación de los componentes de la feromona sexual de *A. spheropa*

La feromona sexual de *A. spheropa* fue sintetizada por modificación de la metodología desarrollada por Unelius y colaboradores (1996), a través de una estrategia divergente en escala de gramos, para suministrar servicios de monitoreo de lagartitas a los productores involucrados en el Programa de Manejo Regional, así como para la realización de ensayos de campo de confusión sexual en frutales.

La feromona de *A. spheropa*. Esta está compuesta por (Z,Z)-11,13-tetradecadienal (Z11,13-14:Ald), (Z)-11-tetradecenal (Z11-14:Ald), acetato de (Z)-11,13-tetradecadienilo (Z11,13-14:Ac) y acetato de (Z)-11-tetradecenilo (Z11-14:Ac), en una proporción relativa de 4:1:40:10 en glándulas de hembras (Nuñez *et al.*, 2002). Estudios posteriores (Bavaresco *et al.* 2005; Morandi Filho *et al.* 2007) demostraron que los mejores resultados en campo fueron obtenidos con una mezcla de proporciones 4:4:1 de los componentes (Z11,13-14:Ac, Z11,13-14:Ald y Z11-14:Ald, respectivamente).

Los componentes de la feromona sexual de *A. spheropa* fueron sintetizados en escala de 10 a 100 gramos. La escala de obtención por lote es suficiente para el monitoreo de la especie en los ensayos de campo, tanto para sostener en el tiempo este tipo de ensayos, así como el aumento de la superficie a tratar. Así mismo se contó con un stock suficiente de los componentes para continuar suministrando al Programa de Manejo Regional de Frutales para el monitoreo por parte de productores.

La ruta final de síntesis de los tres componentes se detalla en la figura 3.1. Esta comprende una estrategia divergente partiendo de 11-bromo-1-undecanol y su paso principal es una reacción de Wittig. La obtención de los componentes di-insaturados Z11,13-14:Ald y Z11,13-14:Ac, requiere del aldehído insaturado acroleína como electrófilo, mientras que la obtención del componente monoinsaturado Z11-14: Ald, utiliza propanal. Una vez obtenido el esqueleto de 14 carbonos, se funcionaliza el carbono 1 de manera de obtener los aldehídos y los acetatos de interés.

(Z)-11-tetradecenal (Z11-14:Ald) fue preparado partiendo de 11-bromo-1-undecanol (1). La sal de fosfonio precursor común, se obtiene por reflujo con trifenilfosfina en etanol absoluto con un 95% de rendimiento y se purifica por cristalización con hexanos. Una reacción de Wittig en condiciones de Boden con propanal permite la preparación de Z11-14:OH con un rendimiento de 90%. Por oxidación de Parikh-Doering se obtiene Z11-14: Ald con un rendimiento de 92%.

La síntesis de los dos componentes restantes (Z11,13-14: OAc and Z11,13-14:Ald) se realiza de manera similar, partiendo del precursor común sal de fosfonio, a través de una olefinación de Wittig con acroleína. Cabe destacar que la acroleína es un compuesto peligroso y difícil de adquirir. Por lo tanto, se utilizó acroleína dimetilacetil como material de partida, el cual por hidrólisis genera la acroleína para realizar la reacción de Wittig-Boden. Esta reacción produce Z11,13-14:OH con la geometría de doble enlace deseada (Z:E, 85:15). Luego, por acetilación u oxidación del alcohol, se obtienen Z11,13-14: OAc y Z11,13-14:Ald en buenos rendimientos.

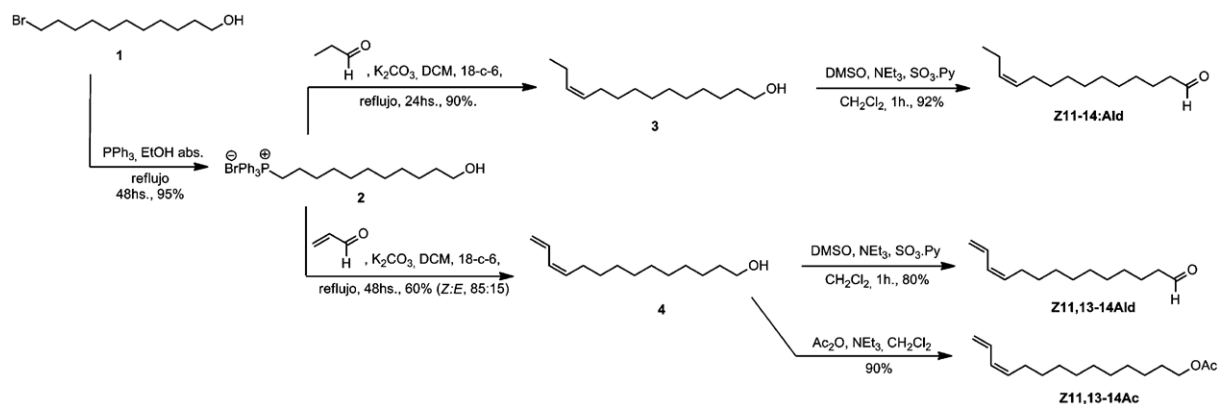


Figura 3.1. Síntesis de los componentes de la feromona sexual de *A. spheropa*.

La escala final de obtención del precursor Z11,13-14:OH (10 gramos en un lote de reacción) determina la escala actual del proceso de síntesis. Este precursor es necesario para la obtención de los componentes diinsaturados mayoritarios, los cuales sumados forman el 80% de la feromona natural. Por lo tanto a optimización de la ruta sintética fue realizada haciendo énfasis en las etapas de olefinación, las cuales son claves en el proceso de síntesis y limitante en cuanto al rendimiento de la misma.

Los ensayos de estabilidad realizados en condiciones de laboratorio para los tres

componentes activos de la feromona sexual de *A. spheropa* demostraron que uno de los componentes mayoritarios de la formulación, Z11,13-14:Ald, presenta inestabilidad al aire y a la humedad. Por lo tanto, la formulación para trampas de monitoreo se preparó como una mezcla de proporciones 4: 4: 1: 9 de los componentes y un agente estabilizante (Z11,13-14:Ac, Z11,13-14:Ald, Z11-14:Ald y butilhidroxitolueno respectivamente). Cada septo se carga con 0.5 mg de una mezcla 4:4:1 de Z11,13:14Ac, Z11,13:14Ald, Z11:14Ald y 0.5 mg de BHT. Todos los compuestos fueron cargados en solución de hexano.

4. Evaluación de la confusión sexual en condiciones de campo

El objetivo de este trabajo consistió en implementar y evaluar el método de confusión sexual para las lagartitas nativas, *Bonagota salubricola* y *Argyrotaenia spheropa* (Lepidoptera: Tortricidae). Su finalidad es el futuro uso de esta técnica para el control de estas plagas, en conjunto con el control por confusión sexual actualmente llevado a cabo para *Cydia pomonella* y *Grapholita molesta* en el marco del Programa de Manejo Regional de Lepidópteros plaga de frutales de hoja caduca (PMRP). Existe un interés creciente en promover el control por el método de confusión sexual para *B. salubricola* y *A. spheropa*, y por su uso en combinación con confusión sexual para carpocapsa y grafolita (Figura 4.1). En la actualidad, aproximadamente el 90% del área de frutales de pepita en Uruguay se encuentra bajo el programa antes mencionado, entre otros aspectos, para cumplir con las exigencias de los mercados internacionales a los que Uruguay le exporta fruta fresca. El área potencial para confusión sexual para *B. salubricola* y *A. spheropa* en Uruguay es de aproximadamente 5400 ha de frutales de hoja caduca, de las cuales cerca de 3500 ha son

pomáceas. Actualmente, las lagartitas requieren una a dos aplicaciones de insecticida por estación, con una aplicación adicional para las manzanas de cosecha tardía. Adicionalmente, Uruguay tiene 9000 ha de viñedos, los cuales también son atacados por *A. spheropa* y *B. salubricola*. Finalmente, desarrollar el método de confusión sexual para *B. salubricola* y *A. spheropa* también será relevante para el sur de Brasil y Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

La confusión sexual como técnica de control de *A. spheropa* y *B. salubricola* en montes de manzanos del sur de Uruguay fue evaluada en las temporadas 2016/2017 y 2017/2018 en predios que habían mostrado daño por *A. spheropa* y *B. salubricola* en años anteriores (Figura 4.2). La evaluación del uso de feromonas sexuales de ambas lagartitas como método de control por confusión sexual fue realizada en superficies de alrededor de 8 ha, utilizándose 4 ha para el tratamiento y otras 4 para el control, separadas entre sí a una distancia aproximada de 200 m (Figura 4.3). Las parcelas estaban ubicadas de manera tal de evitar que los vientos predominantes arrastraran feromona desde el tratamiento hacia el control. La edad de los cultivos se estimó en 10-12 años. Los montes están instalados en

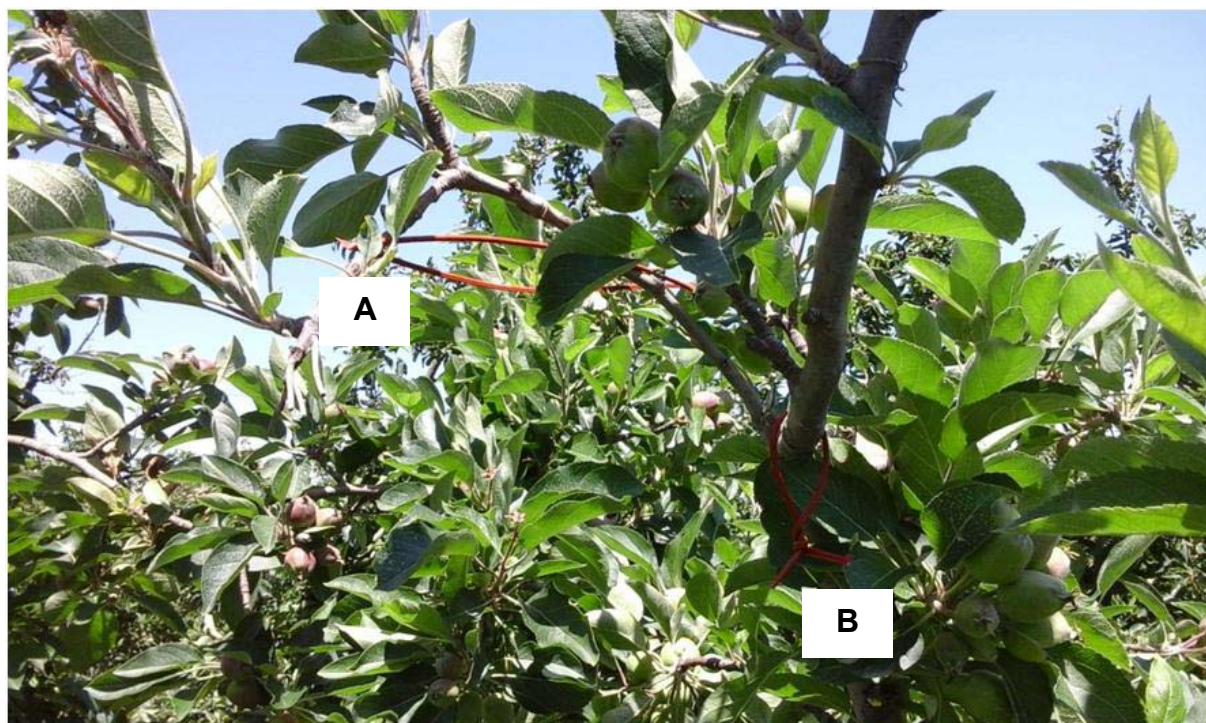


Figura 4.1. Montes de manzano bajo confusión sexual para carpocapsa, A tipo de dispensador de feromona utilizado para el control de carpocapsa y B tipo de dispensador de feromona utilizado para el control de las lagartitas.

alta densidad con un marco de plantación de 3.7 a 4 metros de distancia entre filas y 1 metro de distancia entre plantas. Las variedades de manzanos más representativas fueron Early Red One, Mondial Gala, Red Chief y Red Scarlet, las que estuvieron presentes tanto en el tratamiento como en el control (Figura 4.4).

En el tratamiento, la instalación de los dispensadores fue realizada manualmente previo a los vuelos de diciembre. La distribución de los mismos en el cultivo se realizó de manera de aumentar la concentración en los bordes y distribuir uniformemente en las filas restantes, ubicándolos a una altura en la planta mayor a 2 metros y teniendo en cuenta los vientos predominantes y la incidencia de los rayos solares (Figura 4.5). El área control fue tratada con insecticida cada vez que fue necesario, de acuerdo a las capturas registradas en trampas y si el porcentaje de daño en frutos superaba el 1-2%.

El experimento de la temporada 2016/2017 fue conducido en un solo predio, mientras que en la temporada 2017/2018 los ensayos se instalaron en tres predios de la zona de Melilla, Montevideo.

La efectividad del método para el control de estos insectos fue evaluada desde el momento de la instalación de dispensadores hasta la cosecha, tanto en el tratamiento como en el control. Las evaluaciones consistieron en el monitoreo de

machos adultos en trampas de feromona tipo delta (Figura 4.6) y el conteo de frutos para determinar porcentajes de daño. Este monitoreo permite estimar la densidad de la plaga y determinar acciones correctivas en el caso que se superen los umbrales de control.

Se realizaron también análisis gravimétricos para registrar la pérdida de peso de los dispensadores a lo largo del experimento, y químicos, para de esta manera evaluar una posible descomposición o pérdida de alguno de los componentes de la feromona que hicieran necesario el remplazo en medio de la temporada.

Las trampas cebadas con feromona de *A. sphaleropa* fueron cargadas con septos de goma (Sigma-Aldrich, blanco, 8 mm O.D.) impregnados con mezcla 9:4:4:1 (BHT: Z11,13-14Ac: Z11,13-14Ald: Z11-14Ald) de la feromona previamente sintetizada y ubicados en el centro de las trampas delta (15 × 15 × 25 cm, TRECE). Los septos cebados con feromona de *B. salubricola* fueron provistas por ISCA Technology y adquiridas a la cooperativa JUMECAL. Las trampas fueron distribuidas en el centro y borde del cultivo comercial y mantenidas durante seis meses, desde octubre a abril, 12 trampas delta fueron ubicadas en el tratamiento y otras 12 en el control para cada especie (Figura 4.7), a los efectos de evaluar la captura de machos adultos. Las trampas fueron inspeccionadas semanalmente y las capturas registradas.



Figura 4.2. Vista general de uno de los montes utilizados para el tratamiento



Figura 4.3. Vista satelital de uno de los predios de la zona de Melilla donde se realizaron los ensayos (en verde el área de tratamiento y en anaranjado el área de control).



Figura 4.4. Variedades de manzano en uno de los predios utilizados para el ensayo.



Figura 4.5. Dispensador de feromona de *A. sphaleropa* de tipo cuerda.



Figura 4.6. Trampa de feromona utilizada para el monitoreo.



Figura 4.7. Distribución de trampas de feromona (A- *A. sphaleropa*; B- *B. salubricola*) en áreas de control (azul) y áreas de tratamiento (amarillo).

De acuerdo a las capturas registradas en el mes de octubre, se instalaron dispensadores de confusión sexual a principios de noviembre. Estos dispensadores cuya composición se muestra en la Tabla 1, fueron donados por la empresa Shin-Etsu Chemical Co., Ltd. (Organic Chemicals Division Fine Chemicals Department), como partidas experimentales (ISOMATE-SATMX111 correspondiente a emisores de polietileno de tipo cuerda con feromona de *A. sphaleropa* e ISOMATE-BALRX111 correspondiente a emisores de polietileno de tipo cuerda con feromona de *B. salubricola*). Se realizó la instalación manual de 500 dispensadores de tipo cuerda por especie y por hectárea, la distribución estuvo en función del marco de plantación y la densidad de plantas por hectárea. Semanalmente, se monitorearon

400 frutos/ha para la evaluación de daño y este número se duplicó en el momento de la cosecha. Debido a que el daño de ambas lagartijas no puede distinguirse, los frutos dañados fueron llevados al laboratorio para la correcta identificación de larvas.

Dispensadores adicionales fueron distribuidos en otros montes, en condiciones similares, para estudiar la tasa de liberación de feromona. Una vez por semana se pesaron 10 dispensadores por especie para la realización del análisis gravimétrico y una vez al mes se retiraron 10 dispensadores por especie, los que fueron mantenidos a -20°C para su posterior análisis por cromatografía gaseosa, en el Centro de Investigaciones de ShinEtsu, Japón.

Tabla 4.1. Composición de la feromona formulada para cada especie

Especie	Código	Componentes	Proporciones
<i>Bonagota salubricola</i>	BALRX111	E3Z5-12Ac	47.6
		Z9-16Ac	47.6
		E3Z5-14Ac	2.4
		Z5-12Ac	2.4
<i>Argyrotaenia sphaleropa</i>	SATMX111	Z11,13-14Ald	85.0
		Z11,13-14Ac	5.0
		Z11-14Ald	5.0
		Z11-14Ac	5.0

RESULTADOS

Temporada 2016-2017

Los promedios de las capturas de machos en las 12 trampas de feromona colocadas para cada parcela se muestran en la figura 4.8 para *A. sphaleropa* y en la figura 4.9 para *B. salubricola*.

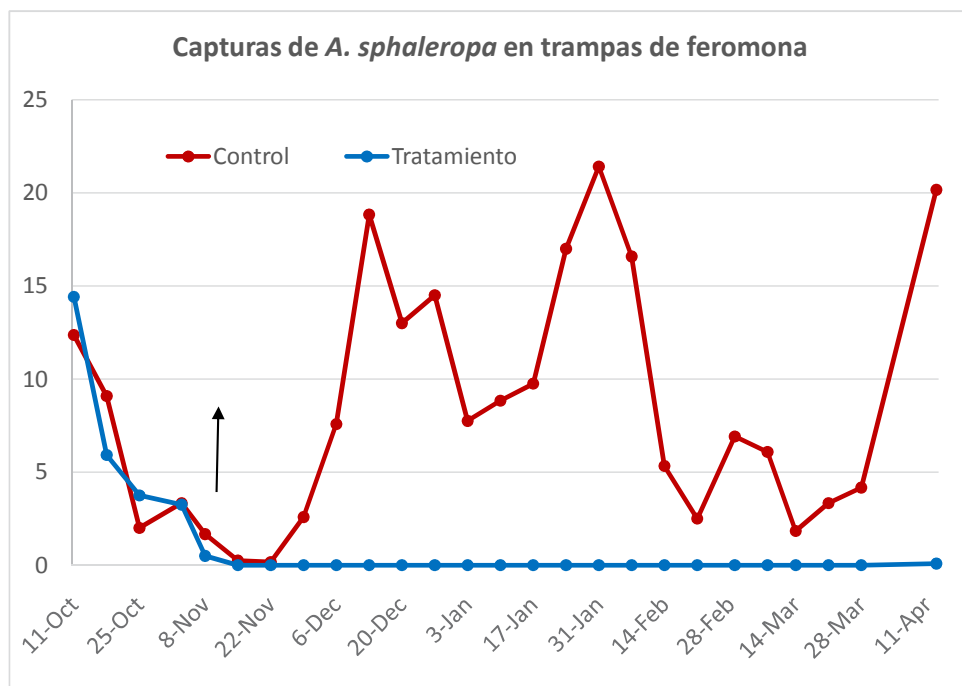


Figura 4.8. Capturas promedio de machos adultos de *A. sphaleropa* en trampas de feromona en áreas control (rojo) y tratamiento (azul). Las flechas indican la instalación de la confusión sexual en el tratamiento y la aplicación de metoxyfenocide en el control

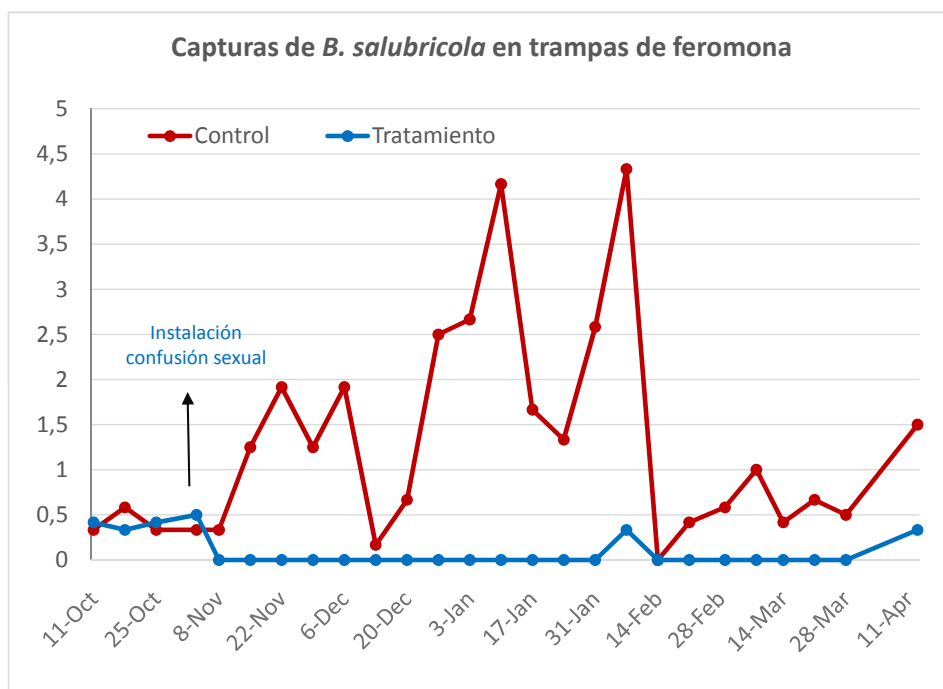


Figura 4.9. Capturas promedio de machos adultos de *B. salubricola* en trampas de feromona en áreas control (rojo) y tratamiento (azul). Las flechas indican la instalación de la confusión sexual en el tratamiento y la aplicación de metoxyfenocide en el control

A través de estos resultados se advierte la efectividad del método, al observar las capturas en trampas en las parcelas de tratamiento, las cuales tienden a cero, en comparación con las capturas para las parcelas de control, las cuales registran capturas elevadas para ambas plagas.

En la figura 4.10 se muestran las capturas sumadas para ambas lagartitas registradas en el área de control, en conjunto con el umbral de daño para las mismas.

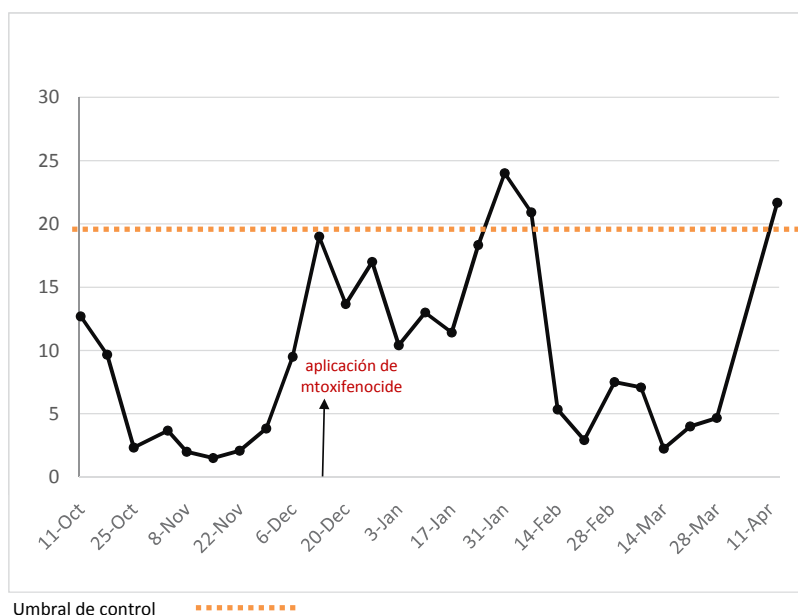


Figura 4.10. Capturas promedio de machos adultos de ambas lagartitas sumadas en el control

Simultáneamente, 400 frutos por ha fueron muestreados por semana para la evaluación del daño. Estos resultados se muestran en la figura 4.11.

La parcela control recibió una aplicación de metoxifenocida, el 15 de diciembre de 2016, momento en el cual la suma de las capturas de machos de ambas especies se aproximaba al umbral (Figura 4.10).

Los resultados obtenidos para la zafra 2016/2017 resultaron muy prometedores. Los datos de monitoreo en trampas para ambas lagartitas muestran la eficacia del método. Así mismo el daño de la fruta fue muy bajo a lo largo de toda la temporada, lo cual conllevó a no aplicar insecticidas para lagartitas en el área tratada con confusión sexual.

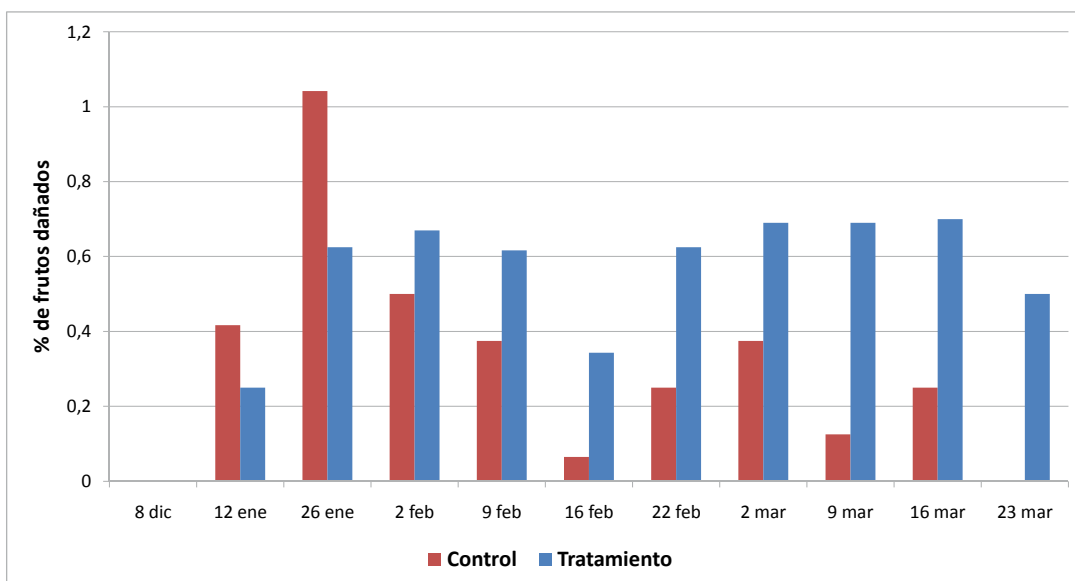


Figura 4.11. Porcentaje de daños de lagartitas en frutos, registrados semanalmente en las parcelas de tratamiento y control.

Paralelamente, se realizaron análisis gravimétricos (pérdida de peso) para estudiar la tasa de liberación de los dispensadores, para ambas especies (Figura 4.12). Estos datos nos aseguran

la correcta volatilización de las feromonas utilizadas, así como permite evaluar un posible remplazo de dispensadores en caso de agotarse la feromona.

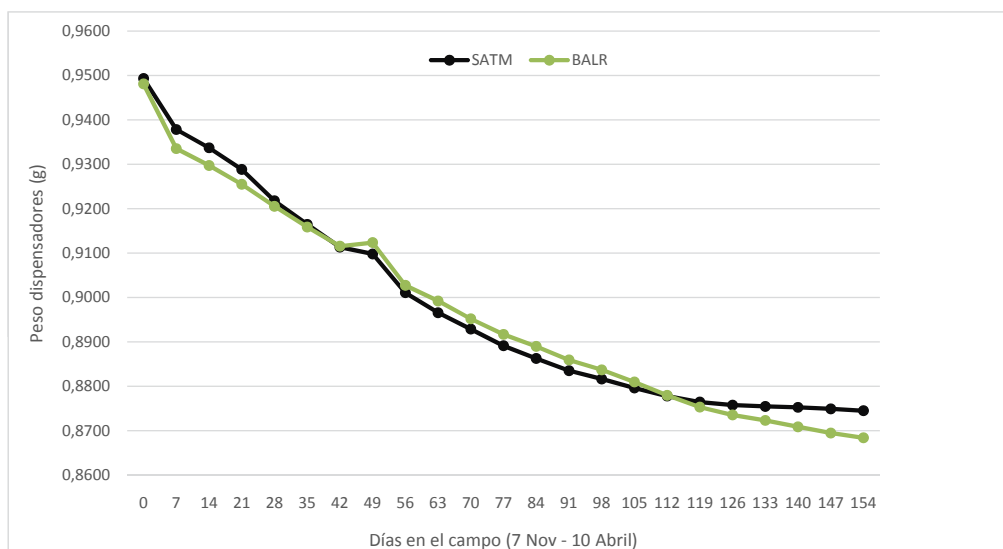


Figura 4.12. Pérdida de peso para dispensadores de *Argyrotaenia sphaleropa* (negro) y *Bonagota salubricola* (verde).

Según los datos registrados, la tasa de liberación de dispensadores, luego de una evaporación inicial, es menor a 1 mg por día, lo cual permitió cubrir la temporada sin necesidad de reemplazar los dispensadores, ya que estos contienen aproximadamente 100 mg de feromona.

extraído de los dispensadores de feromona mensualmente para cada especie fue medida por cromatografía gaseosa, con el objetivo de evaluar el desempeño de cada una de las feromonas en condiciones de campo en Uruguay. Estos análisis fueron realizados en el Centro de Investigaciones de ShinEtsu en Japón. Los resultados se muestran en la Tabla 4.2 y Figura 4.13.

Finalmente, la cantidad de ingrediente activo

Tabla 4.2. Resultados analíticos de la liberación de la formulación de la feromona para cada una de las especies. Los datos se expresan en % del residuo en cada emisor

Fecha	Días	<i>Bonagota salubricola</i>	<i>Argyrotaenia sphaleropa</i>
		ISOMATE-BALRX111	ISOMATE-SATMX111
19/11/2016	0	100.0	100.0
19/12/2016	30	69.6	36.9
19/01/2017	61	47.5	17.5
19/02/2017	92	35.9	10.4
19/03/2017	120	27.7	8.0
19/04/2017	151	19.6	6.6

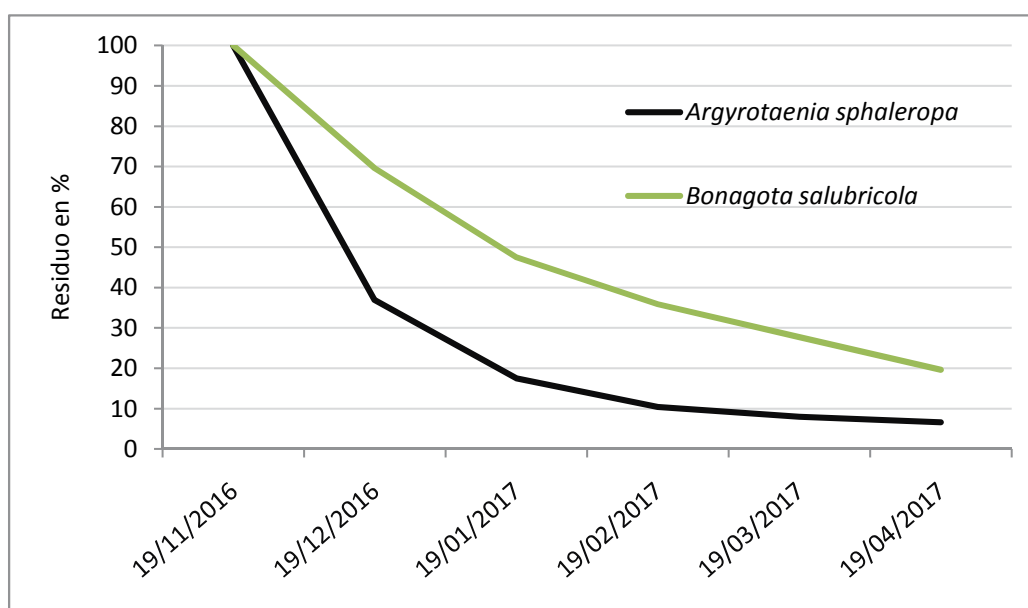


Figura 4.13. Curvas de liberación de las formulaciones de feromonas de *Argyrotaenia sphaleropa* y *Bonagota salubricola*

La tasa de liberación de la feromona formulada de *Argyrotaenia sphaleropa* fue mayor que la de *Bonagota salubricola*. Una reducción en la tasa de liberación de la primera de estas especies sería deseable, por lo que se continuará trabajando en la formulación y el dispensador para lograrlo.

Temporada 2017-2018

En la temporada 2017/2018 las evaluaciones de eficacia de la confusión sexual para *Argyrotaenia sphaleropa* y *Bonagota salubricola* se realizaron en tres predios, se mantuvo el utilizado en la temporada anterior y se agregaron otros dos con similares características en cuanto variedades,

marcos de plantación y edad de las plantas. La superficie, orientación de las parcelas y distribución de las trampas y dispensadores de feromona siguió los lineamientos expresados en materiales y métodos, y utilizados en el ensayo de la temporada 2016/2017.

De acuerdo a los datos de captura del período, los dispensadores de feromona se colocaron entre los días 30 de octubre y 1 de noviembre de 2017.

Los resultados de las capturas de machos en trampas de feromona para cada parcela se muestran en la figura 4.14 para *A. sphaleropa* y en la figura 4.15 para *B. salubricola*.

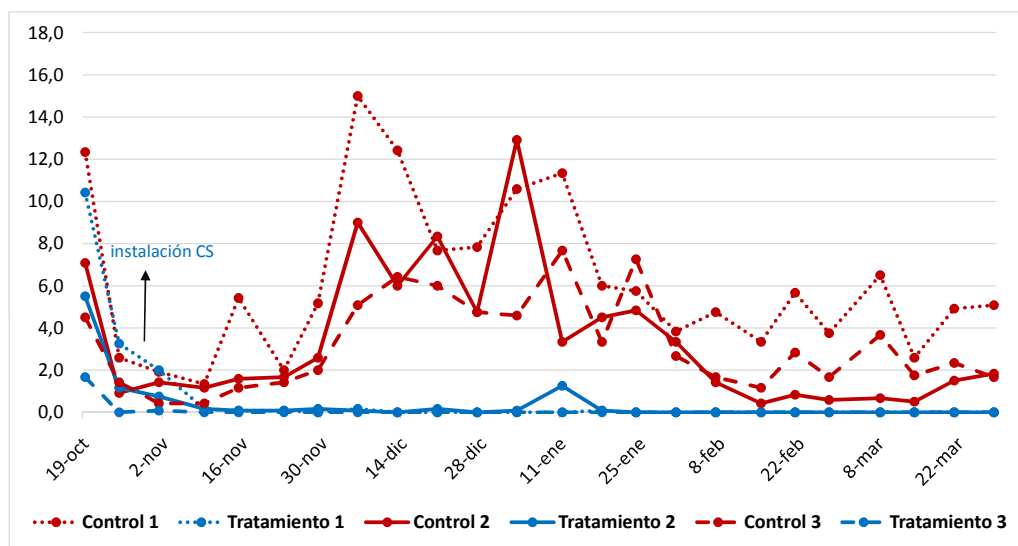


Figura 4.14. Capturas promedio de machos adultos de *A. sphaleropa* en trampas de feromona en áreas control (rojo) y tratamiento (azul) en los tres predios objeto de estudio. La flecha indica la instalación de la confusión sexual en el tratamiento.

A través de estos resultados se comprueba nuevamente la efectividad del método, al observar las capturas en trampas en las parcelas de tratamiento, las cuales tienden a cero, en comparación con las capturas para las parcelas de control, las cuales registran capturas normales para ambas plagas.

La ampliación de los ensayos a tres predios permitió constatar tres situaciones distintas en las parcelas de control, ya que el predio 3 presentó baja población de ambas plagas, el predio 1 presentó mayor población de *A. sphaleropa* y el predio 2 mayor población de *B. salubricola*, lo cual nos permitió comprobar la eficacia de la tecnología en tres situaciones distintas de población de plagas.

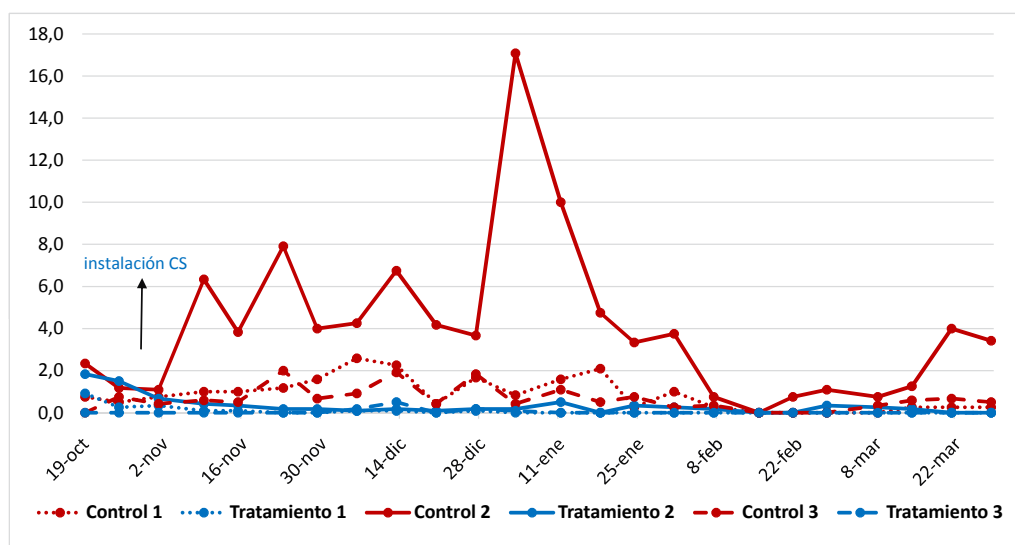


Figura 4.15. Capturas promedio de machos adultos de *B. salubricola* en trampas de feromona en áreas control (rojo) y tratamiento (azul) en los tres predios objeto de estudio. Las flechas indican la instalación de la confusión sexual en el tratamiento.

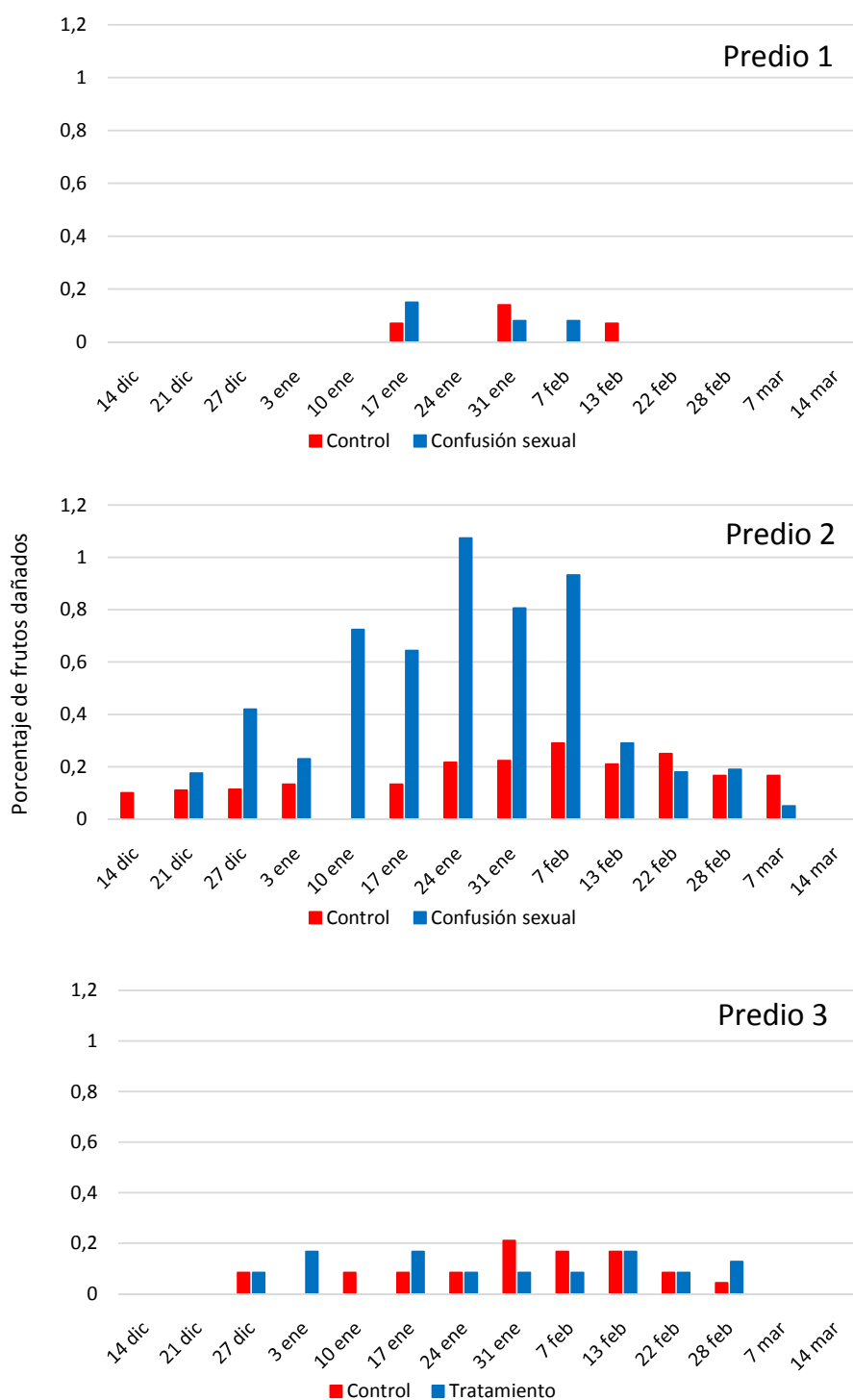


Figura 4.17. Porcentajes de daños de lagartitas en frutos registrados semanalmente en las parcelas de tratamiento y control de los tres predios utilizados para el ensayo.

También se estudió la tasa de liberación de los dispensadores de feromonas para ambas especies (Figura 4.18), para asegurar la correcta volatilización de las feromonas, comprobando

al igual que en la temporada anterior que no se necesita reemplazar los dispensadores en todo el período donde la fruta está susceptible de ser atacada por estas plagas.

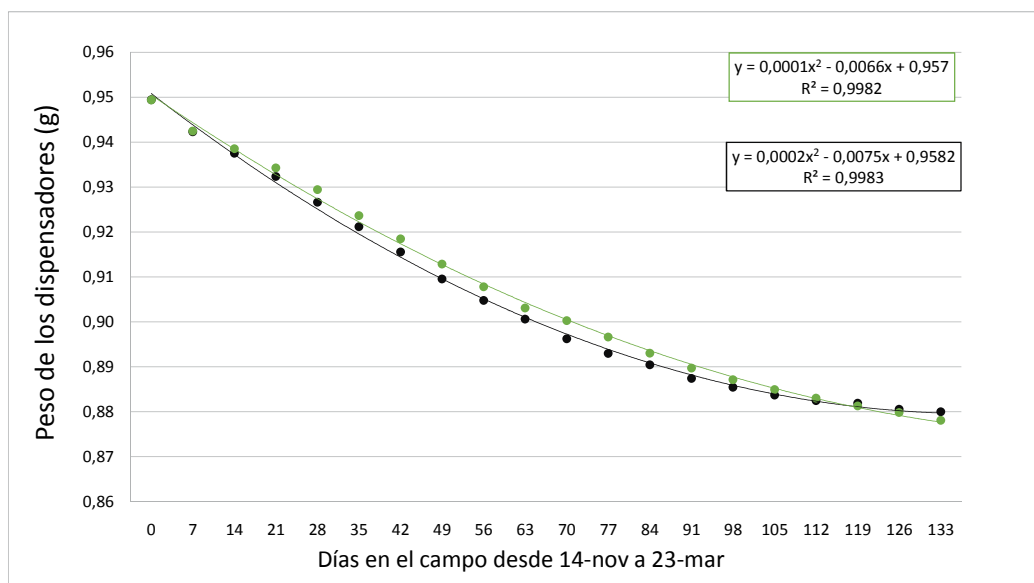


Figura 4.18. Pérdida de peso para dispensadores de *Argyrotaenia sphaleropa* (negro) y *Bonagota salubricola* (verde).

En conclusión, se realizaron dos ensayos de campo de confusión sexual con dispensadores de feromona de *A. sphaleropa* y *B. salubricola* donados por la empresa Shin Etsu Chemical Co., en superficies de 8 y 24 hectáreas respectivamente, correspondientes a 1 y 3 establecimientos comerciales de producción de manzanos, con el fin de validar la tecnología generada. Con la feromona sexual de *A. sphaleropa* previamente sintetizada en el marco de este proyecto en escala de gramos, se impregnaron septos, tanto para el Programa de Manejo Regional, como para el monitoreo de esta plaga en los ensayos de confusión sexual. Esto se complementó con la adquisición de trampas delta y septos con feromona de *B. salubricola* (ISCA Technology).

Los datos de monitoreo en trampas fueron un buen indicador de la población presente para ambas lagartijas en los dos ensayos realizados.

Los resultados obtenidos en el primer ensayo realizado resultaron muy prometedores, observándose capturas nulas en el área de tratamiento y observando daños por debajo del umbral económico. En la segunda zafra, se triplicó el área de ensayo y los resultados presentaron una tendencia similar, observándose una disminución de capturas en las áreas de tratamiento.

El período de liberación de la feromona formulada para ambas especies se estimó en aproximadamente 120 días, lo que permite cubrir todo el período en el cual la fruta está susceptible de ser atacada por estas plagas.

Como perspectiva y para la conclusión de este trabajo, nos planteamos realizar un tercer ensayo de campo en la temporada 2018/2019 en los mismos predios, para confirmar los resultados obtenidos y detectar si hay un efecto acumulativo beneficioso cuando la confusión sexual se utiliza en años sucesivos.

Bibliografía

- Arn, H.** 1990. Pheromones: Prophecies, economics, and the ground swell, pp. 717-722, en Ridgway, R. L., Silverstein, R. M., & Inscoc, M. N. (eds.), Behavior-Modifying Chemicals for Insect Management: Applications of Pheromones and other Attractants. Marcel Dekker, New York.
- Bartell, R. J.** 1982. Mechanisms of communication disruption by pheromone in the control of Lepidoptera: a review. *Physiol. Entomol.* 7: 353-64
- Bavaresco, A.; Nuñez, S.; García, M.; Botton, M.; Sant'Ana, J.** 2005 Atracção de machos da lagartada-fruteiras *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) aos componentes do feromônio sexual sintético na cultura do caqui. *Neotropical Entomology*, 34 (4): 619-625.
- Bentancourt C. M.; Scatoni, I. B.; Nuñez, S.** 1988. Observaciones sobre la biología de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick, 1909) (Lepidoptera, Tortricidae) en la zona sur del Uruguay. Montevideo, Fac. Agron. Boletín de Investigaciones 13, 12 p.
- Bentancourt, C. M.; Scatoni, I. B.; González, A.; Franco, J.** 2003. Effects of larval diet on the development and reproduction of *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) *Neotropical Entomology* 32: 551-557.
- Bentancourt, C. M.; Scatoni, I. B.; González, A.; Franco, J.** 2004. Biology of *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) on seven natural foods. *Neotropical Entomology* 33: 299-306.
- Bentancourt, C. M.; Scatoni, I.** 2006. Lepidopteros de importancia económica. Reconocimiento, biología y daños de las plagas agrícolas y forestales. 2ed. Hemisferio Sur- Facultad de Agronomía: Montevideo.
- Bentancourt, C. M.; Scatoni, I.** 2010. Guía de insectos y ácaros de importancia agrícola y forestal en el Uruguay. Ed. Agropecuaria Hemisferio Sur: Montevideo.
- Cardé, R. T., Minks, A. K.** 1995. Control of moth pests by mating disruption: Successes and constraints. *Annu. Rev. Entomol.* 40: 559-585.
- DIEA, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca.** 2015. Anuario Estadístico Agropecuario.
- DIEA, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca.** 2018. Anuario Estadístico Agropecuario.
- Eiras, A. E.; Kovaleski, A.; Vilele, E. F.; Chambon, J. P.; Unelius, C. R.; Borg-Karlson, A. K.; Liblikas, I.; Mozuraitis, R.; Bengtsson, M.; Witzgall, P.** 1999. Sex pheromone of the Brazilian apple leafroller, *Bonagota cranaodes* Meyrick (Lepidoptera: Tortricidae). *Zeitschrift fur Naturforschung C- A Journal of Biosciences.* 54 (7-8): 595-601.
- El-Sayed, A. M.** 2018. The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals. <http://www.pherobase.com>
- González, A.; Rossini, C.** 2000. Síntesis de feromonas de plagas frutales y tomate de incidencia económica en el sector hortícola frutícola (*Argyrotaenia sphaleropa*, *Bonagota cranaodes* y *Scrobipalpuloides absoluta*). Proyecto INIA-LIA-004.
- González, A.; Altesor, P.; Sellanes, C.; Rossini, C.** 2012. Aplicación de feromonas sexuales en el manejo de lepidópteros plaga de cultivos agrícolas, 343-360. En: J. C. Rojas y E. A. Malo (eds.). Temas Selectos en Ecología Química de Insectos. El Colegio de la Frontera Sur. México. 446 p.
- Gut, J. L.; Brunner, J. F.** 1998. Pheromone-based management of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in Washington apple orchards. *J. Agric. Entomol.* 15(4): 387-406.
- Howse, P., Stevens, I., Jones, O.** 1998. Insect Pheromones and their Use in Pest Management. Chapman and Hall, London.
- Knight, A.** 2008. Codling moth areawide integrated pest management. In Koul, O., G. Cuperus & N. Elliot (eds). 2008. Areawide pest management. CAB International, p 159-190.
- Koul, O.; Cuperus, G.; Elliot, N. (eds).** 2008. Areawide pest management: theory and implementation. CAB International. 572 p.
- Legrand, S.; Botton, M.; Coracini, M.; Witzgall, P.; Unelius, C. R.** 2004. *Zeitschrift fur Naturforschung C- A Journal of Biosciences*, 59 (9-10): 708-712.

- McGhee, P. S.; Epstein, D. L.; Gut, L. J.** 2011. Quantifying the benefits of mating disruption programs targeting codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Amer. Entomol.* 57: 94–100
- Miller, J. R., Gut, L. J.; de Lamé, F. M.; Stelinski, L. L.** 2006. Differentiation of competitive vs. non-competitive mechanisms mediating disruption of moth sexual communication by point sources of sex pheromone: (Part 1) Theory. *J. Chem. Ecol.* 32: 2089–2114.
- Miller, J. R., Gut, L. J.** 2015. Mating Disruption for the 21st Century: Matching Technology With Mechanism, *Environ. Entomol.* 44: 427–443.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, República Oriental del Uruguay.** 2018. Manejo Regional de Plagas. (<http://www.mgap.gub.uy/unidad-ejecutora/direccion-general-de-la-granja/manejo-regional-de-plagas>).
- Morandi Filho, W. J.; Botton, M.; Grützmacher, A. D.; Nuñez, S.** 2007. Flutuação populacional de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick, 1909) (Lep: Tortricidae) com emprego de feromônio sexual sintético na cultura da videira. *Rev. Bras. Frutic.* 29 (2): 213–216.
- Nuñez, S.; Canessa, S.** 1999. Evaluación de distintas combinaciones de feromonas para la monitorización de *Bonagota cranaodes*. INIA, Actividades de difusión no 204, Reunión técnica sobre resultados experimentales en protección vegetal en frutales y vid.
- Nuñez, S.** 1999. Evaluación del método de confusión sexual y aplicación reducida de insecticidas para el control de carpocasca y lagartitas de manzano INIA, Actividades de difusión no 204, Reunión técnica sobre resultados experimentales en protección vegetal en frutales y vid.
- Nuñez, S.; Scatoni, I.** 2001. Current pest management status in IFP in Uruguay. Proceeding of the 5th International Conference on Integrated Fruit Production. Lleida, Octubre 22–26, 2000. Bulletin OILB/SROP 24(5): 259–263.
- Nuñez, S.; de Vlieger, J. J.; Rodríguez, C. J.; Persoons, J.; Scatoni, I. B.** 2002. Sex pheromone of South American tortricid moth *Argyrotaenia sphaleropa*. *J. Chem. Ecol.* 28 (2): 425–432.
- Nuñez, S.; Duarte, F.; Scatoni, I.; Croce, C.; Carbone, F.** 2011. Hacia un manejo regional de plagas en frutales, *Revista INIA Uruguay*, 26: 61–64.
- Nuñez, S., Scatoni, I.** 2013. Tecnología disponible para el manejo de plagas en frutales de hoja caduca. Montevideo, INIA 150p ISSN/ISBN: 16889266 (disponible en www.inia.org.uy)
- Pastori, P. L.; Arioli, C. J.; Botton, M.; Bittencourt Monteiro, L.; Stoltman, L.; Mafra-Neto, L.** 2012. Integrated control of two tortricid (Lepidoptera) pests in apple orchards with sex pheromones and insecticides. *Revista Colombiana de Entomología* 38 (2): 224–230.
- Scatoni, I.; Nuñez, S.; Bentancourt, C.** 2002. Las feromonas sexuales: una estrategia para el control de plagas respetuosa del medio ambiente. Aber, A. Insectos y Medio Ambiente, Montevideo, DINAMA, pp. 11–28.
- Scatoni, I. B.** 2011. Caracterización espacial de los lepidópteros plaga de los frutales de pepita en la zona sur de Uruguay. Serie FPTA-INIA N°31.
- Stelinski, L. L.; McGhee, P.; Grieshop, M.; Brunner, J.; Gut, L. J.** 2008. Efficacy and mode of action of female equivalent dispensers of pheromone for mating disruption of codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Agric. For. Entomol.* 10: 389–397.
- Thomson, D.; Brunner, J.; Gut, L.; Judd, G.; Knight, A.** 2001. Ten years implementing codling moth mating disruption in the orchards of Washington and British Columbia: starting right and managing for success. *IOBC/WPRS Bull.* 24: 23–30
- Unelius, C. R.; Eiras, A.; Witzgall, P.; Marie Bengtsson, M. Kpvaleski, A.; Viliela, E.F.; Borg Karlson, A. K.** 1996. Identification and synthesis of the sex pheromone of *Phtheochroa cranaodes* Meyrick (Lepidoptera: Tortricidae), *Tetrahedron Letters*, 37 (9): 1505–1508.
- Weddle, P. W.; Welter, S. C.; Thomson, D.** 2009. History of IPM in California pears–50 years of pesticide use and the transition to biologically intensive IPM. *Pest Manag. Sci.* 65: 1287–1292

Witzgall, P. 2001. Pheromones - future techniques for insect control?, pp. 114-122, en Witzgall, P. (ed.), Pheromones for Insect Control in Orchards and Vineyards. IOBC wprs Bulletin.

Witzgall, P., Stelinski, L., Gut, L., Thomson, D. 2008. Codling moth management and chemical ecology. *Annu. Rev. Entomol.* 53: 503-522.

Witzgall, P., Kirsch, P., Cork, A. 2010. Sex pheromone and their impact on pest management. *J. Chem. Ecol.* 36: 80-100.

Zoppolo, R., Scatoni, I., Duarte, F., Mujica, M. V., Gabard, Z. 2016. Area-wide pest management in deciduous fruits of southern Uruguay. *Acta Horticulturae*, 1137: 153 – 160.

INIA Dirección Nacional
Andes 1365 P. 12
Montevideo
Tel.: ++598 2902 0550
Fax: ++598 2902 3633
iniadn@inia.org.uy

INIA La Estanzuela
Ruta 50 Km. 11
Colonia
Tel.: ++598 4574 8000
Fax: ++598 4574 8012
iniale@le.inia.org.uy

INIA Las Brujas
Ruta 48 Km. 10
Canelones
Tel.: ++598 2367 7641
Fax: ++598 2367 7609
inia_lb@lb.inia.org.uy

INIA Salto Grande
Camino al Terrible
Salto
Tel.: ++598 4733 5156
Fax: ++598 4732 9624
inia_sg@sg.inia.org.uy

INIA Tacuarembó
Ruta 5 Km. 386
Tacuarembó
Tel.: ++598 4632 2407
Fax: ++598 4632 3969
iniatbo@tb.inia.org.uy

INIA Treinta y Tres
Ruta 8 Km. 281
Treinta y Tres
Tel.: ++598 4452 2023
Fax: ++598 4452 5701
iniatt@tyt.inia.org.uy