

División Agrícola y Ambiental
DIMAyA

TAMIBIO 2013

Taller sobre microorganismos destinados
al biocontrol de plagas y enfermedades

LIBRO DE RESÚMENES



27 de Septiembre de 2013

Buenos Aires. Argentina

Sociedad de Medicina Veterinaria. Chile 1856. CABA

Asociación Argentina de Microbiología

Comisión Organizadora del Taller sobre Microorganismos destinados al Biocontrol de Plagas y Enfermedades

(TAMIBIO 2013)

FABRICIO CASSÁN

NOELLA GARDELLA

ROSANA MASSA

CLAUDIO PENNA

DIEGO SAUKA

SUSANA VÁZQUEZ



**asociación
argentina de
microbiología**

DIVISIÓN AGRÍCOLA Y AMBIENTAL

COMISIÓN DIRECTIVA 2013-2014

DIVISIÓN AGRÍCOLA Y AMBIENTAL (DiMAyA)

<i>Presidente</i>	Fabrizio Cassán
<i>Vicepresidente</i>	Claudio Penna
<i>Secretaria</i>	Susana Vázquez
<i>Tesorero</i>	Diego Sauka
<i>Secretaria de Actas</i>	Rosana Massa
<i>Vocal Titular 1°</i>	Diego Libkind
<i>Vocal Titular 2°</i>	Inés García de Salomone
<i>Vocal Suplente 1°</i>	Noella Gardella
<i>Vocal Suplente 2°</i>	Débora Radovancich

COMISIÓN DIRECTIVA AAM 2013-2014

<i>Presidente</i>	Manuel Gómez Carrillo
<i>Vicepresidente</i>	Gustavo Giusiano
<i>Secretaria</i>	María Cecilia Freire
<i>Secretaria de Actas</i>	María I. G. Fernández
<i>Prosecretario</i>	Juan Stupka
<i>Tesorero</i>	Paula Gagetti
<i>Protesorero</i>	Susana Vázquez
<i>Vocal Titular 1°</i>	Adriana Sucari
<i>Vocal Titular 2°</i>	María José
<i>Vocal Titular 3°</i>	Marta Rivas
<i>Vocal Titular 4°</i>	María Soledad Ramirez
<i>Vocal Suplente 1°</i>	Ángel Cataldi
<i>Vocal Suplente 2°</i>	Isabel Bogado
<i>Vocal Suplente 3°</i>	Marina Bottiglieri
<i>Vocal Suplente 4°</i>	Lucía Cavallaro

Agradecimientos

En nombre del Comité Organizador agradezco profundamente a las empresas Stoller Biociencias S.R.L., Novozymes Bioag S.A., IMPECSA S.R.L., Biagro S.A., y Rizobacter Argentina S.A. que colaboraron con un aporte financiero sin el cual no hubiera sido posible la realización del TAMIBIO 2013 de DiMAyA, AAM.

Un agradecimiento especial a las autoridades de la AAM que nos han brindado un importantísimo apoyo institucional que ha facilitado la realización de este evento académico.

Agradecemos especialmente a Ana Espada, Carolina Warpachiwicz, Luis Garín Beatriz Miceli de la AAM, que nos brindaron su apoyo y trabajo, dedicado con gran eficiencia y disponibilidad a la organización.

Quisiera también expresar un reconocimiento especial a los disertantes del taller que han respondido a las demandas del comité organizador ofreciendo su tiempo, esfuerzo y conocimiento para participar en esta actividad.

Diego Sauka

Coordinador Comité Organizador

Prólogo

La mayor parte de los problemas fitosanitarios son causados por insectos, hongos y virus, quienes colonizan diversas partes de la planta, provocando desde la disminución de la calidad del producto hasta la pérdida total de la misma. El control de plagas y enfermedades depende, en gran parte, de la aplicación de productos químicos. Sin embargo, el uso indiscriminado de estos, ha ocasionado severos problemas de contaminación ambiental y generado la selección de organismos resistentes. Son estas razones por las que se necesitan nuevas estrategias para el control de plagas y fitopatógenos. El empleo de microorganismos en el control biológico constituye una alternativa atractiva.

El TAMIBIO 2013 tiene como objetivos fundamentales: (1) Generar un marco interdisciplinario para el intercambio de información científico-tecnológica sobre el estudio de microorganismos destinados al control biológico de insectos plaga y fitopatógenos en nuestro país. (2) Promover el desarrollo de un espacio institucional sobre el estudio, uso y aplicación de los conocimientos relacionados con estos microorganismos, que permita de manera estratégica integrar la investigación básica y aplicada con la demanda tecnológica del sector industrial. (3) Compartir la experiencia de investigadores que han contribuido de manera decisiva en la comprensión del modelo básico de estudio. Debido a ello, el TAMIBIO 2013 ha sido conformado en dos tipos de sesiones temáticas que abordarán a lo largo del día diversos aspectos relacionados a los microorganismos como “herramientas” para el biocontrol de artrópodos que afectan cultivos de interés económico o son vectores de enfermedades humanas y animales, o para el biocontrol de enfermedades de plantas o que dañen sus frutos.

Deseamos sinceramente que esta jornada constituya una experiencia grata para todos ustedes, que los enriquezca y le genere nuevas motivaciones en cuanto al estudio de los microorganismos destinados al control biológico de plagas y enfermedades.

Diego Sauka

Coordinador Comité Organizador

Índice

Sesión I. Microorganismos en el biocontrol de enfermedades.

- Viviana Barrera:** Control biológico con *Trichoderma*: ¿Todas sirven?..... 1
- Claudio Valverde:** *Pseudomonas* como potenciales biocontroladoras de fitopatógenos: un largo y sinuoso camino. 3

Sesión II. Microorganismos en el biocontrol de plagas.

- Graciela Benintende:** Investigación, desarrollo y transferencia de bioinsecticidas bacterianos para el control de plagas en los sectores agropecuario y de la salud pública. 6
- Julieta Posadas:** Control microbiano de garrapatas bovinas con cepas nativas de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*..... 8
- Juan Claus:** Producción de baculovirus en cultivos de células de insectos en medios de bajo costo. 9

Sesión III. Microorganismos en el biocontrol de enfermedades.

- Marcela Sangorrín:** Estrategia de selección de levaduras antagonistas para el biocontrol de patógenos de postcosecha en fruta. 11
- Laura Gasoni:** Cooperación entre países, instituciones y empresas para estudios relacionados con el biocontrol de enfermedades de plantas: pautas y experiencias... 14
- Wagner Bettiol:** Metodologías para el control de calidad de productos conteniendo agentes de biocontrol de enfermedades de plantas. 16

Sesión IV. Microorganismos en el biocontrol de plagas.

- Andrea Toledo:** Estado de avance del estudio de hongos patógenos de hemípteros plaga de la agricultura. 19
- Graciela Quintana:** Uso del virus de la granulosis (CpGV) para el control de carpocapsa (*Cydia pomonella* L.) en Argentina..... 21

Control biológico con *Trichoderma*: ¿Todas sirven?

Viviana Barrera

Insumos Fúngicos. Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). CC25 (1712). Castelar, Buenos Aires. E-mail:

vbarrera@cnia.inta.gov.ar

Entre los microorganismos aplicados en control biológico los que pertenecen al género *Trichoderma* son los más estudiados a partir de los estudios de Weindling (1932) quien publicó por primera vez acerca del comportamiento parasítico de una cepa de *T. lignorum* (actualmente *T. virens*) sobre otros hongos.

Las especies del género son comúnmente halladas en infinidad de sustratos ya que tienen hábito saprofítico, micotrófico o micoparásito. Este comportamiento en el suelo les permite ejercer fuerte competencia con otros microorganismos debido a los numerosos metabolitos secundarios que producen, las denominadas “Enzimas degradadoras de la pared celular” (CWDEs, “Cell Wall-Degrading Enzymes”). Esta capacidad es aprovechada por los investigadores para controlar la presencia de hongos fitopatógenos en el suelo.

Los últimos trabajos sobre la taxonomía del género revelan que se conocen 135 especies del género *Trichoderma*, de las cuales sólo alrededor del 10% tienen potencial para ser aplicadas en biocontrol, por lo que se debe tener en cuenta que no todas las cepas pertenecientes a dichas especies portan la capacidad óptima necesaria para dichas aplicaciones, es por ello que deben ser seleccionadas y evaluadas en base a su comportamiento. Existen en el mercado más de 20 productos en base a formulaciones sólidas de *T. harzianum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. koningii* y *T. parceramosum* (Ej. Rootshield, Trichodex, TrichoFlow, TrichoNativa, entre otros) con fórmulas provenientes de EEUU, Francia, Bélgica, Dinamarca, Israel, etc.

Hasta el momento se cuenta con las secuencias completas de los genomas de 7 especies entre las cuales se menciona a *T. atroviride*, *T. reesei* y *T. virens*. Esta información es relevante para el conocimiento de los genes involucrados en su acción antagonista. El análisis de la funcionalidad de los genes y las vías metabólicas en las cuales intervienen se aplican en la expresión de dichos genes en plantas con el fin de intensificar la tolerancia o resistencia completa a los hongos fitopatógenos.

La taxonomía del género *Trichoderma* se basa en caracteres morfológicos como el tipo de conidióforos, forma de fiálides (células conidiógenas enteroblásticas) que generan conidios unicelulares de color verde, amarillo, raras veces hialinos de formas que varían desde globosos a elipsoidales. Es el estado

anamórfico del género *Hypocrea* Fr. (Hypocreales, Ascomycetes) que en su estado teleomórfico, comprende especies xilófilas presentes en bosques templados a subtropicales. La identificación de las especies incluye estudios macro y micromorfológicos y se complementa con análisis filogenéticos basados en secuencias de marcadores genéticos.

Los descubrimientos más recientes sobre estos hongos indican que pueden establecerse en la rizósfera de las plantas, estimular su crecimiento y producir elicitores que inducen resistencia, de este modo se los aplica como biofertilizantes. En Argentina el SENASA reporta 4 registros de productos comerciales en base a cepas de *Trichoderma* como biofertilizantes.

Algunas especies presentan la capacidad de parasitar tejidos animales. Se han reportado especies con actividad nematófaga contra los nematodos productores de quistes más relevantes en agricultura. Su acción nematicida está potenciada por las quitinasas y proteasas capaces de degradar las paredes de los huevos y estadios juveniles. Por otro lado, se han reportado infecciones con cepas de algunas especies de *Trichoderma* en pacientes inmunodeprimidos o sometidos a prácticas quirúrgicas de un grupo de especies capaces de crecer a altas temperaturas, con óptimos superiores a 35°C. No se han encontrado características filogenéticas diferentes a las de los aislamientos ambientales, por lo tanto, se debe advertir sobre la práctica común de aplicar microorganismos seleccionados con buena respuesta como agentes de control biológico de los cuales no se conoce su identidad, lo cual lleva al riesgo sanitario de los trabajadores y el medio ambiente, al liberar una gran cantidad de biomasa de microorganismos potencialmente dañinos. Existen otros casos reportados con efectos negativos sobre plantas, hongos micorrícicos, hongos comestibles y producción de micotoxinas. Todas estas características deberán ser tenidas en cuenta para la correcta selección de los aislamientos con mejor comportamiento como BCAs para ser aplicados en el ambiente.

***Pseudomonas* como potenciales biocontroladoras de fitopatógenos: un largo y sinuoso camino.**

Claudio Valverde, Betina Agaras, Mariana Marrero, Florencia Farina, Luis Wall
Laboratorio de Bioquímica, Microbiología e Interacciones Biológicas del Suelo, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes. Roque Sáenz Peña 352, Bernal, B1876BXD, Buenos Aires. E-mail: cvalver@unq.edu.ar

Está fehacientemente establecido que en las plantas, y particularmente sobre sus raíces y en sus proximidades, habitan una cantidad y diversidad muy importante de microorganismos. Entre ellos, se desarrollan bacterias con capacidad de promover el crecimiento y sanidad de las plantas, que son colectivamente conocidas como *plant growth promoting bacteria* (PGPB). Aquellas PGPB que son capaces de inhibir la proliferación de agentes fitopatógenos, o de contrarrestar sus efectos patogénicos, son consideradas PGPB de biocontrol. Los miembros del género *Pseudomonas* son habitantes de la rizósfera de numerosas especies vegetales de interés agronómico y hortícola. Se trata de bacilos Gram negativos, móviles, no esporulantes, de metabolismo oxidativo, y de gran versatilidad nutricional. Sus propiedades fisiológicas facilitan su aislamiento y caracterización en cultivo puro, y algunos aislamientos han demostrado poseer un gran potencial como agentes biocontrol de diferentes fitopatógenos, a través de una variedad de mecanismos en condiciones controladas de laboratorio o invernáculo. Sin embargo, su performance a de campo, en general no ha correlacionado con sus propiedades en condiciones controladas. Entre las posibles causas de la inconsistencia observada se han esgrimido: la complejidad del nicho ecológico (espermósfera y rizósfera) vinculado al desconocimiento de interacciones múltiples entre microorganismos, cuestiones de biogeografía, de adaptación y supervivencia en el ambiente de aplicación, cuestiones de especificidad y reconocimiento de hospedador y de patógeno, y aspectos regulatorios de la producción de metabolitos antifúngicos. Es prudente no perder de vista entonces que la actividad biocontrol es un fenómeno biológico multifactorial.

El mercado internacional de insumos para biocontrol a base de *Pseudomonas* es aún limitado y está focalizado en aplicaciones hortícolas y de post-cosecha de frutales, mientras que en Argentina su desarrollo es incipiente y su comercialización se encuentra retrasada por cuestiones regulatorias. En un marco de creciente interés por parte de organismos públicos de promover la utilización y desarrollo de agroinsumos basados en microorganismos, y en particular de agentes de biocontrol que permitan reducir el uso de agroquímicos, es necesario avanzar en el conocimiento de los factores que determinan el éxito de la aplicación de agentes de biocontrol, en conjunto desde los ámbitos

académico y productivo, con la participación de organismos públicos para definir las pautas de registro y control de calidad de productos de biocontrol formulados con *Pseudomonas*.

En nuestro laboratorio estudiamos aspectos básicos de las *Pseudomonas* como PGPB con rasgos de actividad de biocontrol, como el papel de la comunicación celular en la regulación de la expresión de genes para la biosíntesis de metabolitos antifúngicos, y en la capacidad de resistir la predación por parte de protozoos y nematodos bacterívoros. Más recientemente, comenzamos a analizar factores que afectan las comunidades de pseudomonas del suelo en sistema agrícolas bajo siembra directa. La abundancia de pseudomonas cultivables en suelo libre en estos lotes oscila en 10^3 - 10^5 UFC/g, con mayores recuentos en invierno respecto a verano y en lotes con mayor rotación de cultivos. En la rizósfera de los cultivos presentes en los mismos lotes, la abundancia de pseudomonas fue 10^3 veces superior, y también se observaron recuentos mayores para un mismo cultivo en lotes con mayor rotación. En cuanto a la estructura de la comunidad de pseudomonas cultivables en suelos estimada a través de perfiles génicos específicos de género, detectamos una mayor influencia de la estación de muestreo y de la localidad en la composición de la comunidad, que de la práctica de cultivo. En la rizósfera observamos el mismo efecto estacional, pero también un efecto preponderante del tipo de cultivo. En un ensayo agrícola particular, fue posible evidenciar el efecto de la práctica de cultivo sobre la composición genética de la comunidad de pseudomonas en el suelo al cabo de 2.5 años de monocultivo de soja en comparación a una rotación maíz/soja-trigo. También hemos encontrado que las rizósferas de soja, maíz o trigo, adquieren distintas estructuras de comunidades de pseudomonas y se enriquecen diferencialmente en ribotipos que provienen del mismo pool de pseudomonas cultivables presentes, por ejemplo, en un suelo sin historia de manejo agrícola. De esta forma, distintas evidencias muestran el papel relevante del cultivo sobre la estructura de la comunidad de pseudomonas del suelo.

En una línea complementaria de trabajo, comenzamos a caracterizar una colección de aislamientos con rasgos biocontrol. El criterio primario de selección de los aislamientos fue su capacidad de antagonizar el crecimiento de hongos fitopatógenos aislados de residuos vegetales o plantas enfermas de los mismos sitios de muestreo para el aislamiento de pseudomonas. La colección comprende un conjunto de cepas diverso a nivel genético, de origen rizosférico o de suelo, con espectro diferencial de inhibición de 12 hongos fitopatógenos y con determinantes diferenciales de actividad de biocontrol. La colección se ha caracterizado en cuanto a otras propiedades probióticas vegetales y la compatibilidad con rizobios noduladores de soja. En colaboración con otros grupos de investigación, analizamos la resistencia a predación por protozoos, la

capacidad de inducir resistencia sistémica, y comenzamos a evaluar la performance de algunos aislamientos como biocontroladores en invernáculo y a campo. Dada la complejidad y el carácter multifactorial del biocontrol, este tipo de estudios básicos de las pseudomonas como potenciales agentes biocontrol, se enriquecen y complementan a través de la interacción multidisciplinaria con productores, fitopatólogos, y empresas de desarrollo para identificar aspectos agronómicos y técnicos que pueden condicionar la selección de cepas y su aplicación.

Investigación, desarrollo y transferencia de bioinsecticidas bacterianos para el control de plagas en los sectores agropecuario y de la salud pública.

Graciela Benintende

Bioinsumos Bacterianos. Procesos y Formulaciones, Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). CC 25 (1712)
Castelar, Buenos Aires. E-mail: gbenintende@cnia.inta.gov.ar

Sólo unas pocas especies de bacterias entomopatógenas son efectivamente utilizadas en el control microbiano de plagas. *Bacillus thuringiensis* es la más ampliamente estudiada y desarrollada a nivel mundial. Su utilización como base de productos altamente selectivos destinados al control de plagas de interés en el sector Agropecuario, así como de insectos vectores de enfermedades de gran impacto en el sector de la Salud, ha demostrado numerosos y notables éxitos. A pesar de ello estos bioinsumos tienen aún, muy bajo impacto en el mercado global de insecticidas. En nuestra región el costo de los bioinsecticidas, mayoritariamente provenientes de la importación, sería determinante de una utilización mínima y limitada sólo a ciertas situaciones de manejo de plagas, como lo son los sistemas de producción orgánica. El desarrollo de bioinsecticidas competitivos en calidad y eficiencia, debería derivar no sólo en la reducción de sus costos, sino impulsar fuertemente a las industrias locales generadoras de bioinsumos y a un mejor aprovechamiento de algunos subproductos de la agroindustria regional que pudieran utilizarse como insumos primarios. Entre las etapas de dicho desarrollo, la prospección, caracterización y selección de cepas con actividad insecticida diferencial frente a plagas de interés, resulta de fundamental importancia pues al ser más específicas, permiten reducir las dosis de uso, incrementando la eficacia de los bioinsecticidas. Por otra parte también resulta limitante del desarrollo de estos bioinsumos, los problemas de estabilidad durante su almacenamiento, así como su residualidad en condiciones de campo. De ahí que la etapa de formulación, pre-requisito obligatorio en la producción de todo plaguicida biológico, sea el enlace entre el proceso de fermentación y la aplicación y determinante en gran parte del costo, de la vida media, de la facilidad de dispersión y de la eficacia del producto.

Se presentan los aportes realizados por nuestro grupo en la investigación, desarrollo y transferencia de la tecnología de producción de bioinsecticidas bacterianos.

Primeramente, una vasta colección de germoplasma bacteriano del género *Bacillus* y otros estrechamente relacionados, fue conformada mayoritariamente por aislamientos nativos y cepas exóticas de *B. thuringiensis*, así como

numerosas estirpes representando las diferentes especies del género. Resulta claro el interés que constituyen a nivel comercial, algunas de las cepas con mayor eficiencia insecticida en plagas agrícolas y en vectores; o el de cepas con actividad específica para ciertos insectos como los coleópteros, dado la escasa cantidad de especímenes con esa característica a nivel mundial. Por otra parte a nivel científico, cepas totalmente atípicas con potencial valor por la diversidad genética que representan, pudiendo ser fuente de nuevos genes de utilidad en el control de artrópodos plaga, que puedan ser destinados tanto a la elaboración de bioinsumos convencionales como a otros procesos biotecnológicos.

La caracterización a través de estudios morfológicos, bioquímicos, toxicológicos y moleculares; ha permitido por un lado la detección de cepas más tóxicas en plagas de importancia económica como por ej. la polilla del tomate (*Tuta absoluta*); cuya utilización como base para la elaboración de un bioinsecticida de mayor especificidad, permitiría utilizar dosis significativamente menores que las de productos similares actualmente comercializados para el control de plagas lepidópteras. Por otra parte se obtuvo el conocimiento cabal de los factores de virulencia más específicos en plagas claves como *Epinotia aporema* y *Anticarsia gemmatalis*, de gran incidencia en el cultivo de la soja, de enorme impacto en la economía de nuestro país.

Finalmente los estudios para optimizar el cultivo de las cepas seleccionadas, la recuperación del ingrediente activo a partir de los caldos de fermentación, así como para la formulación de los bioinsecticidas, han llevado al desarrollo de paquetes tecnológicos completos para la producción, evaluación y empleo de estos bioinsumos; habiéndose transferido el protocolo para la elaboración de un bioinsecticida líquido basado en *B. thuringiensis israelensis* para el control de *Aedes aegypti*, vector del dengue; formulación que resultó competitiva con los mejores productos de importación.

Control microbiano de garrapatas bovinas con cepas nativas de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*.

Julieta Posadas

Laboratorio de Hongos Entomopatógenos, Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). CC 25 (1712) Castelar, Buenos Aires. E-mail: jposadas@cnia.inta.gov.ar

La garrapata *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) es un ectoparásito bovino que causa pérdidas económicas en el centro y norte de Argentina, debido a que transmite enfermedades como la babesiosis y la anaplasmosis. Una de las herramientas propuestas para su control ha sido el empleo de hongos entomopatógenos, tales como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Estos hongos entomopatógenos han sido encontrados atacando a más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes, incluyendo plagas de importancia agropecuaria. Con el objetivo de seleccionar, por primera vez en Argentina, cepas fúngicas efectivas de estos hongos sobre distintos estadios biológicos de la garrapata, se aislaron cepas nativas provenientes de muestras de suelo de zonas endémicas de la Argentina para *R. microplus*, como así también de hembras muertas de dicha plaga. Se estudiaron, además cepas provenientes de la micoteca existente en el laboratorio de hongos entomopatógenos (IMYZA, INTA Castelar). La selección de cepas se realizó a partir de la confección de tablas de vida y la estimación de parámetros poblacionales; Con las 6 cepas más virulentas de *B. bassiana* y 4 de *M. anisopliae* se realizaron ensayos de compatibilidad con dos acaricidas comúnmente empleados a campo, se calculó la concentración letal media (CL_{50}), y se produjeron en forma masiva. Con la mejor cepa (Bb 98) se realizaron formulados experimentales y se evaluaron protectores UV. La cepa Bb 98 fue la más efectiva para el control microbiano de dicha plaga, ya que además de ser virulenta sobre *R. microplus*, provocando disminución en la cantidad de aoves, en el porcentaje de eclosión de larvas y en los parámetros poblacionales como r_m (tasa intrínseca de crecimiento natural) y λ (tasa finita de crecimiento), también presentó compatibilidad con los acaricidas testeados y bajos valores de CL_{50} . El aceite resultó el mejor protector UV. Se concluyó que el tratamiento del terreno, donde se hallan los huevos, con suspensiones de conidios de la cepa Bb 98 adecuadamente formulada y aplicada en horas de la tarde, para evitar los momentos de elevada radiación UV B, podría ser una manera de reducir la cantidad de huevos de garrapata viables en el mismo, y se podría de esta manera disminuir drásticamente el tamaño poblacional de las garrapatas.

Producción de baculovirus en cultivos de células de insectos en medios de bajo costo.

Ignacio Eberhardt¹, Gabriela Micheloud^{1,2}, Verónica Gioria^{1,2}, Juan Claus^{1,2}

¹Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (IAL), CONICET-UNL. Santa Fe.

²Laboratorio de Virología, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. E-mail: jclaus@fcb.unl.edu.ar

Los baculovirus constituyen una familia de virus entomopatógenos con genoma de DNA doble cadena, contenido en una nucleocápside de simetría helicoidal, y envueltos. Los baculovirus se replican mediante un ciclo complejo que da lugar a la generación de dos progenies: los viriones brotantes, o brotados, y los viriones derivados de cuerpos de oclusión, u ocluidos. Estos últimos son contenidos en una matriz cristalina proteica, formando los denominados cuerpos de oclusión (OBs). Ambos tipos de viriones, que cumplen roles diferentes en el ciclo natural de estos virus, difieren en la estructura y composición de sus envolturas, pero sus nucleocápsides son, en principio, idénticas.

El aprovechamiento de la capacidad entomopatógena de los cuerpos de oclusión determina su utilización como insecticidas de elevado nivel de especificidad y reducido impacto ambiental. Varios baculovirus, con potencial patogénico para distintos insectos hospederos, son actualmente empleados para controlar diferentes plagas en agricultura, horticultura, fruticultura y silvicultura. La producción de cuerpos de oclusión se puede llevar a cabo mediante dos tecnologías alternativas: la propagación viral en larvas de insectos susceptibles, o su replicación en cultivos de células de insectos. Mientras que la producción en cultivos celulares ofrece ventajas en términos de calidad de producto, control de proceso y factibilidad de escalamiento, todos los baculovirus actualmente utilizados como plaguicidas son producidos en larvas infectadas. La razón es que aún no ha sido posible desarrollar procesos de producción en cultivos celulares que permitan alcanzar, a costos competitivos, los rendimientos virales obtenidos en larvas. Para que ello ocurra será necesario superar una serie de limitaciones de índole tecnológica y económica, entre las cuales las más importantes son el elevado costo de los medios disponibles para el cultivo de células de insecto, y los bajos rendimientos virales en los cultivos infectados.

En esta presentación se describirán las estrategias adoptadas para desarrollar una serie de medios de bajo costo formulados para el cultivo de células de insectos lepidópteros, como así también para optimizar la producción de baculovirus en cultivos infectados en dichos medios, utilizando como modelo experimental la replicación del virus de la poliedrosis nuclear de *Anticarsia gemmatalis*, un virus utilizado extensamente como agente de control de plagas agrícolas en América del Sur, en la línea celular UFL-AG-286.

El medio UNL-10, obtenido al cabo del proceso descrito, es un medio libre de suero, completo, cuya composición fue establecida en función de los requerimientos nutricionales específicos y las características metabólicas particulares de las células UFL-AG-286, como así también tomando en consideración su capacidad para sostener la replicación de AgMNPV y la producción de cuerpos de oclusión. En relación a otros medios de cultivo, UNL-10 se caracteriza por una concentración significativamente más baja de aminoácidos, la suplementación con concentraciones optimizadas de hidrolizados proteicos de origen animal, y el aporte de nutrientes liposolubles a través de la suplementación con una emulsión de aceite de cocina. El costo de formulación y preparación del medio UNL-10 es inferior al 10% del costo de los medios equivalentes de origen comercial.

Las células UFL-AG-286 se adaptaron al cultivo en suspensión en el medio UNL-10 (sub-línea saUFL-AG-286), alcanzando parámetros de cultivo similares a los obtenidos en medios suplementados con suero, o en medios de cultivo libres de suero comerciales, en frascos agitados, "spinner-flasks", y reactores de tipo tanque agitado y airlift. Además, se estudió la influencia de los parámetros de infección (densidad celular inicial y multiplicidad de infección) sobre la producción de cuerpos de oclusión de AgMNPV, y se establecieron condiciones óptimas de infección que permiten alcanzar rendimientos volumétricos superiores a 2×10^{11} OBs.L⁻¹.

Los resultados obtenidos con el modelo estudiado demuestran que es factible obtener elevados rendimientos de cuerpos de oclusión de baculovirus en cultivos en suspensión de células de lepidópteros en medios de cultivo libres de suero y de bajo costo, y que la estrategia desarrollada podría ser replicada para hacer factible la producción *in vitro* de otros baculovirus insecticidas.

Estrategia de selección de levaduras antagonistas para el biocontrol de patógenos de postcosecha en fruta.

Marcela Sangorrín

Instituto Multidisciplinario de Investigación y Desarrollo de la Patagonia Norte (IDEPA) UNCo-CONICET, Neuquén. E-mail: sangorrinmarcela@conicet.gov.ar

En la Región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén (AVRN, Patagonia), se localiza la principal área productora de peras de la Argentina. El hecho de que la demanda de la fruta se realice durante todo el año y que la producción se concentre en dos meses, obliga a conservar la misma para regular la oferta. Durante este período la fruta es susceptible a diferentes enfermedades fúngicas; *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea* son los principales patógenos de peras de larga conservación.

El Control Biológico es una de las alternativas más prometedoras para la sustitución de los fungicidas sintéticos. Asimismo el ambiente de las cámaras frigoríficas postcosecha presenta características favorables para esta aplicación práctica, ya que se deben rociar microorganismos y es un ambiente controlado. Esta estrategia, propuesta a mediados del siglo XX, está aún hoy en desarrollo y pocos agentes de control biológico (ACB) se encuentran disponibles en el mercado mundial. Todo programa de Control Biológico sustenta su éxito un apropiado esquema de aislamiento y selección de los ACB. Se han utilizado a nivel mundial diferentes estrategias de búsqueda para encontrar los mejores ACB, muchas de ellas partiendo de aislamientos a temperaturas selectivas y ensayos *in vitro* de determinadas capacidades antagonistas.

Nosotros planteamos que es mayor la probabilidad de hallar ACB en los lugares de conservación donde no ocurre enfermedad en presencia de patógeno y frutas heridas, es decir un ambiente favorable al desarrollo de las mismas. Es posible que allí esté funcionando algún tipo de biocontrol natural que conserva a algunas frutas libres de podredumbre durante varios meses, tanto las peras con superficies sanas o dañadas por heridas. La adaptación de los ACB al sitio en que deberán ejercer su acción es un punto primordial y por lo tanto las oportunidades de encontrar eficientes ACB se incrementan.

En este trabajo se planteó la búsqueda de levaduras antagonistas para los patógenos regionales, mediante una particular estrategia de aislamiento y selección. La hipótesis de partida fue que “las levaduras aisladas en frío a partir de la fruta sana y herida almacenada a 0-1°C, posteriormente seleccionadas por capacidad antagonista frente a patógenos locales en frío, permitirán desarrollar un sistema efectivo de control biológico para disminuir la incidencia de enfermedades fúngicas de postcosecha en pera”. Una vez obtenidas diferentes muestras de aguas de lavado de peras sanas y heridas, fue necesario proceder a

la selección de aquellas con mayor capacidad biocontroladora. Las muestras se evaluaron en ensayos de biocontrol *in situ* (1°*screening*) frente a cepas de patógenos regionales en condiciones de conservación. Las levaduras que se recuperaron de estos bioensayos de las heridas que no desarrollaron enfermedad, luego se aislaron para ser evaluadas individualmente en otros ensayos *in situ* (2°*screening*) en condiciones de conservación.

Los patógenos empleados en los bioensayos *in situ* se aislaron de fruta almacenada con síntomas de podredumbre. Los aislamientos de *P. expansum* NPCC2023 y *B. cinerea* NPCC2049 se seleccionaron por su agresividad y resistencia a fungicidas entre 30 aislamientos de cada especie.

Las levaduras se aislaron desde aguas de lavado de superficie y heridas sanas (artificiales sin podredumbre) de pera, de 2 cultivares (D'Anjou y Packham) y de dos empaques comerciales, luego de 6 meses de conservación en frío. En un primer *screening* se evaluaron 116 aguas de lavado en bioensayos en pera (*in situ*) frente a *P. expansum* en frío. Se obtuvieron 107 aislamientos de levaduras desde las 27 aguas de lavado que redujeron la severidad (40%) y la incidencia de la enfermedad (50%). Del total, se identificaron 11 especies por PCR-RFLP de la región ITS1-5.8S-ITS2 rDNA y por secuenciación del dominio D1/D2 del gen 26 S.

En un segundo *screening* se evaluaron individualmente 26 aislamientos representativos de las diferentes especies de levaduras *in situ* frente a *P. expansum* a -1/0°C. Se inocularon heridas en pera con 2.10^4 células de cada levadura y posteriormente con el patógeno (50 conidios por herida). Todos los aislamientos controlaron el 100% de la enfermedad hasta los 100 días; mientras que sólo el 38% lo hizo a los 200 días. Estas levaduras más eficaces fueron enfrentadas en otro bioensayo a *B. cinerea*, pero presentaron menor eficacia que frente a *P. expansum* (40% de control). Las levaduras más promisorias fueron: *Cryptococcus albidus* NPCC1248, *Pichia membranifaciens* NPCC1250, *C. victoriae* NPCC1259 y NPCC1263. Estas levaduras fueron aisladas de heridas de peras que se mantuvieron sanas durante 6 meses de conservación, lo que demuestra esta presión selectiva influyó para encontrar buenos ACB: es mayor la probabilidad de hallar antagonistas eficaces epífitos de fruta donde no ocurre enfermedad en presencia de heridas y de patógeno.

Estas cuatro levaduras se reevaluaron *in situ* frente a ambos patógenos en frío. En este ensayo se incluyó una levadura comercial, que contiene una cepa de *Cry. albidus*. A los 120 días, *C. victoriae* NPCC1263 y *P. membranifaciens* NPCC 1250 se destacaron por controlar a *P. expansum* y a *B. cinerea* en un 85 a 100%. La levadura foránea no logró controlar a *P. expansum* y sólo inhibió un 50% a *B. cinerea*. Esto demuestra que las características propias del sustrato (pera) y de las condiciones de almacenamiento (0-1°C) determinan el desarrollo de una determinada comunidad microbiana y se seleccionan las cepas más aptas a las condiciones de conservación de esta fruta.

Estos resultados ponen de manifiesto que las levaduras encontradas pueden ser alternativas biológicas a los fungicidas en el control de *P. expansum* y *B. cinerea*. Basándose en los datos obtenidos, nuestra estrategia parece ser mucho más eficaz que los métodos reportados previamente en la obtención de ACB.

Cooperación entre países, instituciones y empresas para estudios relacionados con el biocontrol de enfermedades de plantas: pautas y experiencias.

Laura Gasoni

Insumos Fúngicos. Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). CC25 (1712). Castelar, Buenos Aires. E-mail:

gasoni@cnia.inta.gov.ar

La dinámica actual de la cooperación, en un mundo competitivo y globalizado, en el cual el crecimiento de la población mundial incrementa la necesidad de producir mayor cantidad de alimentos requiere de proyectos que consideren el impacto de las acciones en la salud y en el ambiente. La cooperación técnica es un concepto global que comprende todas las modalidades concesionales de ayuda que fluye, en ciertos casos hacia los países de menor desarrollo relativo y en otros a todos los organismos involucrados. La misma, implica la elaboración de proyectos, que contemplen las condiciones y criterios de posibles fuentes de financiación externa, adecuados a las prioridades de los beneficiarios y que presenten una planificación y objetivos que permitan alcanzar las metas. Los proyectos, además de ser la unidad de gestión del desarrollo a llevar a cabo, se constituyen en el principal instrumento de acceso a la cooperación. Dado que existe diversidad de temas de investigación, los mismos deben ser considerados en forma flexible y utilizarse en combinación con otras herramientas existentes pero en todos los casos deben atenderse a las líneas específicas de las fuentes cooperantes. Si bien cuando se realiza la solicitud se plantea un requerimiento a través de la propuesta, es importante iniciar las acciones ofreciendo las propias capacidades. La aplicación de este criterio en la formulación de los proyectos permite despertar un mayor interés en una fuente cooperante.

El equipo de Insumos Fúngicos del IMYZA, estableció su primer vínculo internacional a mediados de la década del 90, a través de un programa de asistencia de expertos de un país asiático, lo que permitió organizar un plan de trabajo de interés para ambos países, con soporte financiero suficiente para asegurar el equipamiento necesario para el desarrollo de las actividades. El planteo inicial fue el de encontrar soluciones para asegurar al productor una cosecha adecuada, tanto en calidad como en cantidad con la utilización de medidas de bajo impacto ambiental y eficientes que permitan alcanzar una economía sustentable. En este contexto, se planteó la necesidad de profundizar en el conocimiento de aspectos del control biológico de organismos fitopatógenos, entre las estrategias a ser adoptadas por el sector agrícola a fin de reducir el uso intensivo de agroquímicos. El trabajo en cooperación facilitó el

entendimiento multilateral y permitió obtener otro proyecto internacional de mayor alcance y financiación y reforzar los lazos institucionales con otros organismos nacionales de ciencia y técnica. Cabe mencionar que a fin de obtener resultados satisfactorios, fue necesario, además de establecer los contactos con los científicos interesados, realizar un análisis exhaustivo de las prioridades en el escenario agrícola del país interviniente. Para otras propuestas posteriores, este antecedente fue muy importante y vehiculizó la interacción con empresas, lo que facilitó la transferencia al sector agropecuario. De acuerdo con nuestra experiencia, los proyectos aceptados fueron aquellos que contemplaron, en el ámbito de la cooperación internacional, el contexto de interés para los países involucrados, con el marco institucional adecuado, que permitió financiar las temáticas propuestas. Es importante puntualizar que, en todos los casos, se analizaron las prioridades de interés científico mutuo y las capacidades de los grupos intervinientes, a fin de elaborar objetivos que respondieran, con el conjunto de acciones interrelacionadas, a lograr resultados que permitieran transformar o mejorar una situación en un plazo limitado. También debe señalarse que se obtuvo mayor apoyo financiero con aquellos proyectos que respondían a finalidades de desarrollo internacional, nacional o regional y formaban parte de programas contemplados en los presupuestos anuales de los países intervinientes. En el caso de proyectos de intercambio para capacitaciones, los profesionales involucrados pudieron trabajar en otros laboratorios, profundizar en temáticas comunes e integrar otros grupos con el propósito de elaborar nuevos proyectos con fines más amplios. En el caso de la cooperación con organismos nacionales, la vinculación con nuevos grupos de trabajo fortaleció en número de RRHH para llevar a cabo ensayos y otras actividades de laboratorio y en equipamiento para estos laboratorios vinculados.

A pesar de los progresos hechos en este campo, la aplicación práctica de las estrategias de bajo impacto ambiental y los productos biológicos aún es reducida, por lo que la vinculación con otros países y organismos o empresas es siempre necesaria.

Metodologias para o controle de qualidade de produtos contendo agentes de biocontrole de enfermidades de plantas.

Wagner Bettiol

Embrapa Meio Ambiente, CP 69, CEP 13820-000 Jaguariúna, São Paulo, Brasil. E-mail: wagner.bettiol@embrapa.br

Biopesticidas são considerados microrganismos vivos (fungos, bactérias e vírus), animais microscópicos (nematoides) e macro organismos (predadores e parasitoides, insetos e ácaros) ou produtos naturais derivados desses organismos que são utilizados na proteção de plantas.

A demanda por biopesticidas no controle de pragas, doenças e plantas invasoras tem crescido nos anos recentes no Brasil e no mundo, principalmente, como aumento dos conhecimentos dos problemas ambientais e de contaminação de alimentos com pesticidas químicos sintéticos. Associado a isso, está ocorrendo a expansão do cultivo orgânico e o ressurgimento do manejo integrado de pragas. Logicamente, com o aumento da demanda e oferta de biopesticidas, há necessidade de ampliar a fiscalização do comércio desses produtos para que atendam as necessidades dos agricultores.

O consumo de pesticidas no Brasil foi estimado em US\$ 8,3 bilhões em 2011, colocando-o como um dos maiores consumidores no mundo. Os biopesticidas representam, em torno de, 1% da venda dos pesticidas, portanto entre US\$65 a US\$75 milhões. Entretanto, as projeções indicam para um grande crescimento nas vendas nessa década, atingindo 10% nos próximos anos.

O primeiro produto biológico para o controle de doenças de plantas comercializado no Brasil foi formulado à base de *Trichoderma* em 1987, embora somente em 2008 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) emitiu o primeiro registro de um antagonista, também à base de *Trichoderma*, para o controle de doenças de plantas. E, a partir disso o número de biopesticidas registrados cresceu acentuadamente nos últimos cinco anos, demonstrando o interesse das companhias nesse segmento de produtos. Esse quadro está sendo novamente alterado com a legislação para registro de produtos biológicos destinados para a agricultura orgânica. Nessa categoria foram registrados mais do que 15 novos produtos em apenas um ano, demonstrando a sua importância para o agronegócio brasileiro. Apesar desse crescimento, ainda existe um grande número de produtos à base de agentes de biocontrole comercializados sem registro no país.

Associado a isso, são numerosos os produtos comercializados sem a avaliação da conformidade e da inocuidade estabelecidas pela legislação brasileira. Aliada a esse fato, a própria eficiência no controle das doenças não é conhecida adequadamente para diversos produtos. Dessa forma, apesar do

aumento constante do uso de agentes de biocontrole pelos agricultores, a qualidade dos produtos não é conhecida e fiscalizada pelos órgãos competentes. Em muitos casos o problema é a ausência de protocolos e metodologias para as análises. Por tanto, é premente estabelecer metodologias apropriadas de avaliação da qualidade dos agentes de biocontrole de doenças de plantas e também de outros bioagentes para os diversos organismos e para as diferentes formulações.

Para o controle biológico de doenças de plantas, bactérias do gênero *Bacillus* e fungos do gênero *Trichoderma* estão entre os organismos mais explorados, com diversos produtos comerciais. Atualmente, no Brasil estão registrados diversos produtos à base desses organismos, porém no mercado existem produtos que não são registrados. Este fato dificulta a fiscalização do MAPA e propicia o surgimento de produtos com baixa qualidade no mercado, o que tem gerado a perda de credibilidade no controle biológico por parte dos agricultores. Além disso, a ausência de registro destes produtos impede que os mesmos sejam utilizados em sistemas certificados para exportação, o que pode gerar barreiras não tarifárias ao desenvolvimento do agronegócio brasileiro. No mercado interno, empresas idôneas também são prejudicadas com a indefinição de metodologias oficiais para análise, pois concorrem com produtos de baixa qualidade e de custo menor.

A ausência de metodologias padronizadas também dificulta a realização dos testes e emissão de laudos exigidos para registro junto aos órgãos demandantes (MAPA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA e Instituto Brasileiro de Meio Ambiente - IBAMA), bem como controle de qualidade dos produtos pelas próprias empresas. Portanto, é urgente o desenvolvimento de metodologias para avaliar a qualidade de todos os produtos biológicos comercializados no Brasil, de forma a promover a legalização dos produtos e garantir a sua qualidade e efetividade. Uma vez desenvolvidas e padronizadas, essas metodologias poderão ser utilizadas para a inspeção e fiscalização pelos órgãos e laboratórios oficiais, repercutindo na melhoria dos produtos biológicos. Assim, no âmbito do projeto “Qualibio, financiado pelo MAPA/CNPq, com a participação da Embrapa Meio Ambiente, Embrapa Arroz e Feijão, Instituto Biológico de São Paulo, Epamig, Ceplac/Cepece Universidade Federal de Pelotas, foram desenvolvidas metodologias para avaliar a qualidade de produtos à base de *Bacillus*, *Trichoderma* e *Clonostachys*, os principais bioagentes comercializados no Brasil para o controle de doenças de plantas.

Num estudo preliminar para comparar as metodologias utilizadas em sete laboratórios quanto à contagem e viabilidade de células (germinação) e quantificação de unidades formadoras de colônias (UFC), foram adquiridos no mercado produtos à base de agentes de biocontrole e as amostras enviadas aos laboratórios. Apesar das metodologias utilizadas serem aparentemente semelhantes, os resultados foram consideravelmente diferentes. Para a contagem

de células, a mais simples de todas, os resultados das avaliações das formulações pó-molhável (PM) foram mais homogêneos, com coeficiente de variação (CV) entre 3,9% e 11,7% entre os laboratórios, mas para alguns produtos com CV de 53,5%. No caso das formulações concentrado emulsionável (CE), as variações foram significativamente maiores (CV entre 56,9% e 94,8%), com exceção dos produtos à base de *Trichoderma* (CV entre 6,4% e 11,5%). As análises da porcentagem de germinação e UFC resultaram em valores altamente discrepantes entre os laboratórios.

Com essas informações foram estabelecidos protocolos de análises e os mesmos produtos foram reanalisados nos laboratórios. Nessa etapa foi observada uma considerável redução no CV, mas ainda apresentando diversos problemas. Finalmente, com o estabelecimento de metodologias padronizadas para cada formulação e o treinamento dos analistas para realizarem a contagem de esporos totais nos produtos, bem como determinarem a viabilidade de esporos e o número de unidades formadoras de colônias, os resultados obtidos em todos os laboratórios estiveram dentro de um padrão aceitável, com coeficientes de variação inferiores a 5%.

Assim, a equipe do projeto estabeleceu como meta fundamental realizar o treinamento dos envolvidos nessa cadeia produtiva e atualmente organiza cursos para transferir as metodologias desenvolvidas e padronizadas para o controle de qualidade de produtos biológicos à base de *Bacillus* e de *Trichoderma*. O número de pessoas treinadas até o momento (agosto de 2013) é superior a 200. Entretanto, o resultado mais importante obtido pelo projeto é que as empresas produtoras de biopesticidas estão adotando as metodologias desenvolvidas para o controle de qualidade dos seus produtos.

A próxima etapa do projeto é continuar desenvolvendo as metodologias para os demais agentes de biocontrole disponíveis no mercado brasileiro, bem como para as suas diversas formulações.

Partes das metodologias desenvolvidas podem ser acessadas livremente no site: www.enpna.embrapa.br.

Estado de avance del estudio de hongos patógenos de hemípteros plaga de la agricultura.

Andrea Toledo ¹, Romina Manfrino ², César Salto ², Claudia López Lastra ³

¹ Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. Avda. 60 y 119 s/n, (1900), La Plata, Buenos Aires. E-mail: andytoledo75@yahoo.com.ar

² Estación Experimental Agropecuaria del INTA Rafaela. Área Agronomía, Protección Vegetal. Ruta Nacional 34, km 227, (2300), Rafaela, Santa Fe.

³ Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), UNLP-CONICET. Calle 2 N° 584, 1900, La Plata, Buenos Aires.

Los hemípteros de las familias Aphididae (áfidos o pulgones), Cicadellidae y Delphacidae (chicharritas), se encuentran entre las principales plagas de la agricultura, afectando tanto la producción de cultivos extensivos como intensivos. Hasta el presente el intento de suprimir estas plagas se ha efectuado casi exclusivamente mediante la utilización de insecticidas químicos. Sin embargo, desde hace unos años, se ha observado una tendencia mundial hacia la incorporación de los agentes microbianos de control biológico en los programas de manejo integrado de las plagas, con la finalidad de disminuir los riesgos de contaminación ambiental. Dentro de los microorganismos disponibles, los hongos entomopatógenos se han considerado como los mejores candidatos para controlar las plagas de insectos picadores-suctores tales como los hemípteros, debido a que invaden al hospedador directamente a través de la cutícula y no necesitan ser ingeridos por los mismos. Los hongos patógenos, principalmente los del orden Entomophthorales, con frecuencia causan epizootias naturales que suprimen las poblaciones de varias especies de áfidos y chicharritas alrededor del mundo. La ocurrencia de estas epizootias está con frecuencia asociada con la producción de esporas de resistencia por parte de algunas especies o a la capacidad de otras de sobrevivir al invierno como cuerpos hifales inactivos sobre arbustos e incluso dentro de los cadáveres.

Debido a la importancia que presenta este grupo de entomopatógenos en el control natural de las poblaciones de hemípteros plaga, en el presente trabajo se dan a conocer los resultados de los estudios de relevamiento de especies de entomophthorales y de la estacionalidad de las mismas en cultivos de alfalfa, avena, sorgo, trigo, berenjena, pimiento y vegetación espontánea alrededor de cultivos de trigo y arroz.

Cuatro especies de Entomophthorales (*Pandora neoaphidis*, *Zoophthora radicans*, *Entomophthora planchoniana* y *Neozygites fresenii*) fueron encontradas infectando a más de cuatro especies de áfidos en cultivos de alfalfa (2010-2012), constituyendo estos registros los primeros para este cultivo. Por otro lado los estudios llevados a cabo durante dos años consecutivos (2010-

1011) en seis sitios cultivados con avena, sorgo y trigo revelaron la presencia de *P. neoaphidis*, *Z. radicans* y *N. fresenii* en seis especies de áfidos. Las infecciones ocasionadas por entomophthorales ocurrieron predominantemente en otoño-invierno (marzo-agosto) y coincidieron con períodos de elevada humedad relativa y bajas temperaturas. Estos resultados constituyen los primeros registros de entomophthorales infectando áfidos sobre cultivos cerealeros. En lo que respecta a los cultivos de berenjena y pimiento se registró la presencia de *P. neoaphidis*, *Z. radicans* y *E. planchoniana* en *Mysus persicae*. *P. neoaphidis* fue registrada en ambos cultivos, mientras que *Z. radicans* solo se registró en berenjena y *E. planchoniana* solo en pimiento. La prevalencia de los entomopatógenos fue de 45,5% en berenjena y de 98,1% en pimiento. Se detectaron diferencias significativas en cuanto al número de insectos infectados de acuerdo al estado de desarrollo. En ambos cultivos las ninfas fueron más susceptibles a la infección que los adultos ápteros y alados. *P. neoaphidis* y *E. planchoniana* fueron registrados causando epizootias sobre *M. persicae* en los cultivos de berenjena y pimiento respectivamente. Estas epizootias ocurrieron durante los meses de enero del 2011 en berenjena y octubre del mismo año en pimiento, y en simultáneo con la aplicación de agroquímicos, lo cual muestra el importante rol que cumplen estas especies en la supresión de las plagas. Por último, los estudios llevados a cabo sobre la vegetación espontánea presente en los alrededores de los cultivos de trigo (2010-2012) y de arroz (2005-2006), registraron la presencia de *P. neoaphidis*, *Z. radicans* y *E. planchoniana* en seis especies de áfidos para el primero y de *Conidiobolus coronatus* y *Pandora* sp. en dos especies de chicharritas para el segundo. En los alrededores de los cultivos de arroz los entomopatógenos ocasionaron infecciones del 4,7% registrándose casi sin interrupción desde mediados de febrero a mediados de abril del primer año suprimiéndose desde entonces hasta fines de marzo del segundo año.

Los resultados obtenidos hasta el momento, si bien son preliminares, muestran claramente el efecto biocontrolador que ejercen los entomophthorales sobre las poblaciones de las plagas, permitiéndonos conocer además la diversidad de especies presentes en los distintos cultivos extensivos e intensivos estudiados.

Uso del virus de la granulosis (CpGV) para el control de carpocapsa (*Cydia pomonella* L.) en Argentina.

Graciela Quintana

Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). CC25 (1712). Castelar, Buenos Aires. E-mail: gquintana@cnia.inta.gov.ar

El virus de la granulosis de *Cydia pomonella* (CpGV) ha sido ampliamente utilizado para el desarrollo de bioinsecticidas para el control de carpocapsa, plaga clave de frutales de pepita y nogal, en varios países del mundo. Su alta especificidad y eficacia, el escaso o nulo impacto sobre el medio y la ausencia de residuos en frutos lo han posicionado como uno de los agentes de control microbiano más exitosos del mercado mundial. En nuestro país, el INTA registró el primer insecticida biológico sobre la base del CpGV en el año 2000 (Registro SENASA, Nro. 33531). La transferencia al sector productor se concretó a través de un convenio con una empresa francesa para su producción (Natural Plant Protection -ex Calliope- Arysta LifeScience SA) y un acuerdo de asistencia técnica con una empresa local para su comercialización (Agro Roca SA). La primera etapa de la transferencia, 2000-2002, se caracterizó por la evaluación de la eficacia y la persistencia en campo del producto, la ampliación de uso al cultivo de nogal y la homologación de una nueva fórmula (CARPOVIRUS Plus, registro Nro 33935) ante el SENASA. Asimismo, se establecieron recomendaciones de uso y se definieron estrategias de incorporación del virus en los sistemas diferentes sistemas de de producción de fruta: convencional, integrado y orgánico. La segunda etapa estuvo orientada a apoyar la difusión técnica, la capacitación y la extensión para lograr un uso sustentable del producto. En el Alto Valle del Río Negro, la mayor región productora de cultivos de pera y manzana del país, se alcanzaron resultados altamente satisfactorios cuando el virus se aplicó como única herramienta de control o en combinación con productos químicos convencionales (metilazinfos), con una dosis de 10^{13} GI/ha y con un intervalo de 8 a 10 días entre tratamiento. En la producción orgánica, donde se registra su mayor consumo, se obtuvieron niveles no detectables de daño a cosecha en aplicaciones con 14 días de intervalo entre tratamientos, combinadas con la técnica de confusión sexual (TCS). Anualmente miles de toneladas de fruta fresca tratada con el virus acceden al exigente mercado internacional. En el cultivo de nogal su uso impactó de manera notable en las pequeñas fincas de los valles productores de Catamarca y La Rioja, donde se alcanzó un control seguro y eficaz que permitió duplicar y hasta triplicar el volumen de frutos producidos. Las aplicaciones de virus se realizaron cada 10 a 12 días en cobertura completa con una dosis de 10^{13} GI/ha solo o en combinación con insecticidas químicos convencionales (metilazinfos, lambdacialotrina, cypermetrina). En 2005, luego

de más de veinte años de uso, se detectaron focos aislados de resistencia al virus en poblaciones de carpocapsa en localidades de Francia y de Alemania. Este inconveniente motivó la búsqueda y selección de nuevos aislamientos que fueran eficaces para controlar estas poblaciones resistentes y ser utilizados en reemplazo del aislamiento mejicano (CpGV-M) que era el patrón común de las formulaciones existentes entonces en el mercado. En Argentina, luego de más de 10 años de uso sostenido del virus, no se han detectado aún poblaciones resistentes al CpGV-M. Con el fin de evitar o demorar la expresión de resistencia en las poblaciones locales de la plaga, se iniciaron estudios para evaluar la eficacia de los nuevos aislamientos del virus y se ensayan estrategias de uso de CpGV en combinación con insecticidas de mínimo impacto ambiental (Metoxifenocide, Rynaxipir, etc.). De modo paralelo, se trabaja en coordinación con el SENASA en el marco del Programa Nacional de Supresión de carpocapsa (PNSC) con miras a lograr una mayor y efectiva incorporación del CpGV en los programas de manejo integrado de carpocapsa con el fin de minimizar el impacto sobre el medio y alcanzar un uso sustentable de este agente microbiano de control.