



Maestría en Intervención Ambiental
Facultad de Ingeniería
Universidad Nacional del Comahue

Estudios bioecológicos y de biodiversidad en poblaciones de *Quadraspidiotus perniciosus* (Hemiptera: Diaspididae) provenientes de montes frutales bajo sistemas de producción orgánica y convencional. Niveles basales de algunos constituyentes del sistema antioxidante

Autora

Ing. Agr. Anabel Olave

Directora de Tesis

Dra. Mónica Montagna

Directora Asociada

Ing. Agr. MST Graciela Dapoto

Tesis presentada para optar al título de Magister en Intervención Ambiental

Orientación: Ingeniería Ambiental

Noviembre 2016

Agradecimientos

A mis hijos, Santi y Valen, por su comprensión ante tantas horas de ausencia

A Ale, por su apoyo incondicional

A Mirtha, que me dió la tranquilidad que necesitaba para el cuidado de mi hijos

A Graciela, por su apoyo, dedicación, por orientarme, corregirme e introducirme en lo que me apasiona, la Entomología.

A Mónica, por su calidez, confianza y el tiempo dedicado al desarrollo de la tesis.

A la Facultad de Ciencias Agrarias, donde desarrollé todo el trabajo

Al equipo de Investigación de la Cátedra de Zoología Agrícola: Ings. Agrs. Leandro Pizano y Federico D'erve, ex alumnos Francisco Grill, Marisa Tudela, Romina Filet, Jesica Mateo, Fernando Raggio, por sus aportes en forma permanente.

A Mauro Serventi y la empresa NOVA por el préstamo del dron

A Mariela Curetti y Hugo Alvarez, por su aporte en el análisis estadístico

A Laura y a Josefina por su ayuda en la lectura de las enzimas en el laboratorio

A mi padre, por todo

A mis hermanos y sobrinos, por el acompañamiento y cariño recibido

A la memoria de mi Mamá, Gonzalito y Ricardo

ÍNDICE

Resumen	7
Abstract	9
1. INTRODUCCION.....	11
1.1 . Descripción de la región del AltoValle de Rio Negro y Neuquén	11
1.2 . Características económico- productivas del sector frutícola.....	12
1.3 . Descripción de dos tipos de producción de manzana.....	13
1.3.1. Establecimiento de producción convencional.....	13
1.3.2. Establecimiento de producción orgánica.....	15
1.4. La influencia del manejo del monte sobre la biodiversidad y abundancia de artrópodos.....	17
1.5. Aspectos sanitarios de los frutales de pepita en la región del AltoValle de Rio Negro y Neuquén.....	19
1.5.1. Origen y evolución de <i>Quadraspidotus perniciosus</i> en el Alto valle.....	20
1.5.2. Características morfológicas y biológicas del Piojo de San José	22
1.5.3. Hospederos y daño de <i>Q. perniciosus</i>	25
1.5.4. Distribución e importancia económica de <i>Q. perniciosus</i>	25
1.5.5. Control de <i>Q. perniciosus</i> en la región del AltoValle de Rio Negro y Neuquén.....	27
1.5.6. Distribución espacial de <i>Q. perniciosus</i> en el monte frutal.....	30
1.6. Efectos indirectos de los plaguicidas en los artrópodos.....	31
1.7. Especies reactivas de oxígeno (EROs).....	32
1.7.1. Efectos de las EROs a nivel celular.....	34
1.7.2. Localización de las EROs a nivel celular.....	35
1.7.3. Fuentes de EROs.....	36

1.7.3.1. Fuentes endógenas.....	36
1.7.3.2. Fuentes exógenas.....	38
1.7.4. Detoxificación de las EROs.....	39
1.7.5. Sistema antioxidante	39
1.7.5.1. Mecanismo antioxidantes no enzimáticos	40
1.7.5.2. Mecanismos antioxidantes enzimáticos.....	42
2. HIPÓTESIS.....	44
3. OBJETIVOS.....	44
4. MATERIALES y MÉTODOS.....	46
4.1. Area de estudio.....	46
4.2. Aportes a la bionomía de <i>Q. perniciosus</i> en la región del Alto Valle de Rio Negro y Neuquén.....	49
4.3. Análisis de la biodiversidad de artrópodos en tres sistemas de manejo de producción de manzanas: convencional y orgánico.....	52
4.3.1. Diseño experimental.....	52
4.3.2. Análisis de datos	55
4.4. Evaluación de la distribución espacial, dispersión y susceptibilidad de tres variedades de manzanas al ataque de PSJ.....	56
4.4.1. Diseño experimental.....	56
4.4.2. Análisis de datos.....	60
4.5. Determinación de las actividades enzimáticas.....	61
4.5.1. Material biológico y preparación de homogenados.....	61
4.5.2. Determinación de tioles totales (GSH).....	62
4.5.3. Actividad de GST.....	63
4.5.4. Actividad de catalasa.....	64
4.5.5. Dosajes de proteínas.....	64

4.5.2. Análisis de datos	64
5. RESULTADOS	65
5.1. Aportes a la biología de <i>Q. perniciosus</i>	65
5.2. Dispersión, distribución espacial y susceptibilidad de variedades de manzanas a <i>Q. perniciosus</i> en el monte frutal.....	69
5.3. Distribución de <i>Q. perniciosus</i> en el fruto	74
5.4. Daños.....	75
5.6. Biodiversidad de artrópodos en las parcelas de manejo orgánico y convencional.....	76
5.6.1. Análisis de los organismos benéficos o fauna auxiliar.....	83
5.6.2. Controladores biológicos de <i>Q. perniciosus</i>	85
5.7 Sistema antioxidante.....	90
5.7.1. Actividad de catalasa.....	90
5.7.2. Contenido de GSH.....	91
5.7.3 Actividad de GST.....	92
6. DISCUSIÓN.....	94
7. CONCLUSIONES.....	108
8. Recomendaciones técnicas.....	111
9. Perspectivas futuras.....	112
8. BIBLIOGRAFÍA	113
9. ANEXOS.....	144

RESUMEN

Se estudió la bionomía de *Quadraspidiotus perniciosus* Comstock (“Piojo de San José”) en manzanos de la variedad *Red Delicious*, *Royal Gala* y *Granny Smith* en establecimientos de producción orgánica y convencional de las localidades de Cinco Saltos, Cipolletti, (Río Negro) y Centenario (Neuquén), durante los periodos anuales 2014, 2015 y 2016. La importancia económica de *Q. perniciosus* es del tipo cuarentenario para varios mercados de la fruta de pepita. En cuanto a su biología en la región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén se determinó el número de generaciones anuales y las variaciones poblacionales durante todo el año: forma invernal, picos de vuelos de los machos, nacimientos de las ninfas para cada generación. *Q. perniciosus* presenta tres generaciones anuales (dos completas y la tercera incompleta, que es la que pasará las condiciones desfavorables durante el invierno). Los picos de vuelo de PSJ estuvieron concentrados en pocos días, ocurriendo el primero entre el 21 de septiembre y el 10 de Octubre, el segundo entre el 22 de diciembre y el 05 de enero y el tercero entre el 25 de febrero y el 07 de marzo. La forma de diapausa invernal en la región corresponde a la tercera fase del primer estadio ninfal, denominado “gorrita negra”. La forma de dispersión de la plaga es por el viento en su fase de ninfa migratoria y machos adultos. La variedad de mayor susceptibilidad al ataque de PSJ resulto ser la variedad *Royal Gala*, seguida por *Red Delicious* y por último *Granny Smith*. La distribución de PSJ en los cuadros fue agregada, formando focos de infestación, lo que puede llegar a matar la planta en un periodo de dos años por su gran poder de succión y por la saliva fitotóxica. En los lugares donde se producen focos de infestación hubo una gran abundancia de PSJ/cm², los daños que se registraron en madera fueron de ataques severos dejando una coloración violácea generalizada. La preferencia de localización de la plaga en los frutos, fue en la zona del cáliz, luego pedúnculo y, por último, en la parte ecuatorial. En cuanto a la biodiversidad de artrópodos, se estudió el número de individuos de cada especie, clasificándolos según su taxonomía y relación trófica en dos comunidades ecológicas de producción de manzanas de forma orgánica y convencional. No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los dos sistemas debido a la gran cantidad de plantas que sirven de refugio a los

organismos benéficos. A partir de las colectas de insectos, se encontraron especies que constituyeron los primeros registros para la Patagonia Argentina: *Epidiaspis leperii*, *Harmonya axyridis*, *Chilocorus bipustulatus* y *Rhizobium lophanthae*. Muchas de las especies de artrópodos colectados resultaron ser útiles como indicadores ambientales, por estar presentes en los establecimientos de producción orgánica y ausentes en el convencional. En referencia al sistema antioxidante, la primera generación del PSJ, tanto del monte convencional como del orgánico, mostró diferencias en el contenido de GSH y la actividad de GST y catalasa respecto a la segunda y la tercera generación.

Palabras clave: *Quadraspidotus perniciosus*, PSJ, biodiversidad, sistemas antioxidantes, bionomía, dispersión, organismos benéficos.

ABSTRACT

The bionomics of *Quadraspidiotus perniciosus* Comstock ("Piojo de San José") was studied in apple trees of the varieties *Red Delicious*, *Royal Gala* and *Granny Smith* in establishments of organic and conventional production locations from Cinco Saltos, Cipolletti (Rio Negro) and Centenario (Neuquén) during the annual periods of 2014, 2015 and 2016. The economic importance of *Q. perniciosus* is the quarantine type for various markets pome fruit. In terms of biology in the Alto Valle de Rio Negro y Neuquén, the number of annual generations and population changes throughout the year was determined: winter form, peaks flight of males, nymph births for every generation. *Q. perniciosus* has three generations for year (two complete and incomplete third, which occurs during the unfavorable winter conditions). The peaks flight of PSJ were concentrated in a few days, occurring the first between September 21 and October 5, the second between 22 December and 05 January and the third between 25 February and 07 March. The form of winter diapause in the region corresponds to the third phase of the first nymphal stage, called "black beanie". The form that the pest spread by the wind is by their nymph stage and adult males. The variety most susceptible to attack by PSJ turned out to be the variety *Royal Gala*, followed by *Red Delicious* and finally *Granny Smith*. The distribution of PSJ in the orchards formed pockets of infestation, which can kill the plant in a period of two years for its great suction power and the phytotoxic saliva. In places where infestation outbreaks occur, there was an abundance of PSJ/cm², the damages from severe attacks were recorded in wood leaving a generalized reddish purple color. Location preference of the pest on fruits was in the area of the calyx, then peduncle and finally, in the equatorial part. In reference to arthropod biodiversity, the number of individuals of each species was studied by classifying taxonomy and trophic relationship two ecological communities from organic apple production and conventional management. No statistically significant differences between the two systems were found due to the large number of plants that provide shelter for beneficial species. From the insect collections, the following species were found that constituted the first register for Argentina: *Epidiaspis leperii*, *Harmonya axyridis*, *Chilocorus bipustulatus* and *Rhizobium lophanthae*. Many of arthropods collected

species proved useful as environmental indicators to be present in organic establishments and absent in the conventional production. In reference to the antioxidant system, the first generation of PSJ, from both conventional and organic orchards, showed differences in the content of GSH and GST and catalase activities compared to the second and third generation.

Key words: *Quadraspidiotus perniciosus*, PSJ, biodiversity, antioxidant system, bionomics, dispersion, beneficial organisms.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Descripción de la Región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén

El Alto Valle de Río Negro y Neuquén (AVRN y NQN), ubicado sobre los ríos Negro superior y Neuquén inferior, abarca los Departamentos de General Roca en la Provincia de Río Negro y Confluencia en la Provincia de Neuquén. La región geopolítica se denomina Comahue y forma un valle en forma de “Y” (Figura 1). La altura sobre el nivel del mar presenta variaciones entre los 200 y 400 m.s.n.m. (Córdon *et al.*, 2000).



Figura 1: Imagen satelital de la región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén (Google Earth, 2016).

El suelo se considera un ente dinámico que está sujeto a la acción de distintos agentes, los cuales dieron como resultado diferentes tipos de suelo (Carrasco, 2002). En la región, las tierras cultivables se encuentran ubicadas en las terrazas de los ríos limitadas por las bardas de la meseta patagónica, que fueron formadas por el material arrastrado de la erosión eólica e hídrica creando un suelo incipiente, típicos de desierto, de textura entre arenoso y franco limoso, con escasos porcentajes de materia orgánica (menor al 1%), con velocidad de infiltración de media a alta y con un perfil profundo sin gran desarrollo edáfico, que permite ser cultivado. Éstos tipos de suelos son propios de los valles irrigados de los ríos Negro

y Neuquén (Bestvater & Casamiquela, 1983; Flores *et al.*, 2006).

El clima es desértico frío con veranos cálidos, según la clasificación climática de Köppen. Las precipitaciones oscilan entre los 180 y 200 mm anuales, que se incrementan hacia el Valle Medio del Río Negro y más hacia el Este. Las temperaturas oscilan entre los 13 y 17,5 °C de promedio anual. Los fuertes vientos predominantes del sector oeste-sudoeste son secos, frescos o fríos que acentúan la evapotranspiración, y que junto a la intensa radiación solar han sido los motivos en el uso de la típica conducción en espaldera o monte libre en los frutales de pepita (Pérez & Navarro, 2005).

El AVRN y NQN, pertenece a la Provincia Fitogeográfica del Monte, Dominio Chaqueño, Región Neotropical (Cabrera, 1976). El tipo de vegetación predominante está constituida por la estepa arbustiva, a veces psamófito o halófito y, en menor escala, por bosques de salicáceas y mimosoideas. En el valle, la vegetación natural ha sido eliminada en gran parte por la sistematización y los diversos cultivos (Pérez & Navarro, 2005).

1.2. Características económico-productivas del sector frutícola

En cuanto a las características económicas-productivas del sector frutícola, es la principal región productora y exportadora de frutas de pepita de la Argentina, donde estos cultivos lideran las exportaciones junto a otros países del hemisferio sur. La región Alto Valle produce aproximadamente el 90% del total y tiene a Río Negro como la principal provincia con un 78% del total (Bevilacqua & Storti., 2001) y ocupa el décimo lugar de producción mundial con más de 977 mil toneladas, principalmente de *Red Delicious* y sus clones (Boltshauser *et al.*, 2007; Altube *et al.*, 2007; Toranzo, 2016).

Los principales cultivos son el manzano y el peral con una superficie cultivada de 21.857 y 23.148 ha, respectivamente. Las variedades preponderantes de manzanas son: *Red Delicious* y sus clones; *Gala*, *Granny Smith*; *Cripps Pink/Pink Lady®* y los

principales variedades de pera son: *Williams*, *Packams Triumph*, *Beurre D'anjou* y *Abate Fetel* (SENASA, 2015; Toranzo, 2016).

Entre las provincias de Río Negro y de Neuquén, el número de productores asciende a 2.056 (SENASA, 2014; Toranzo, 2016). Se estima que hay numerosos actores involucrados de manera directa e indirecta a la cadena frutícola. Se requiere de un alto nivel de inversión y presenta una alta complejidad tecnológica productiva en términos de los niveles de calidad y sanidad exigidos por los mercados internacionales (Villarreal & Santagni, 2004; Giganti *et al.*, 2007). Los principales destinos son Brasil, la Comunidad Europea, Rusia, México, Estados Unidos y África (SENASA, 2011).

1.3. Descripción de dos tipos de producción de manzanas: establecimiento de producción convencional y orgánica

1.3.1. Establecimiento de producción convencional

La modalidad de producción convencional de frutas permite el empleo de plaguicidas de amplio espectro de origen natural o de síntesis química, mientras que se respeten los tiempos de carencia establecidos para arribar a los mercados interno y externo, con residuos en fruta por debajo de los límites admitidos (Cichón *et al.*, 2001).

En el valle de Río Negro y Neuquén, la historia de aplicaciones estuvo marcada por el uso de productos organoclorados en la década del `50, en el `60 por los carbamatos y organofosforados, y a partir del `70 y el `80, por los piretroides (Giganti *et al.*, 2007).

Las actuales exigencias de los mercados, tanto nacionales como internacionales, con respecto a los residuos de plaguicidas presentes en los alimentos, han obligado a los productores a cambiar los métodos tradicionales de control hacia estrategias que ponen énfasis en la utilización de técnicas más amigables con el medio

ambiente, tales como el uso de feromonas de confusión sexual, insecticidas de mayor especificidad, productos orgánicos, uso de enemigos naturales, entre otros (Bondoni *et al.*, 2010; Funbapa, 2010). En este tipo de producción se establecen programas de aplicación que requiere de métodos de relación entre los estados más sensibles al control, las condiciones ambientales, la fenología de las plantas, la acumulación de Grados Días (López García, 2011).

El Programa Nacional de Supresión de Carpocapsa (PNSC) se implementó a partir del año 2006 hasta el 2011, a través del SENASA como organismo fiscalizador, Funbapa con la ejecución e INTA con la capacitación técnica a ingenieros y monitores. El programa planteó un cambio en la lucha fitosanitaria, pasando del control químico al manejo integrado de plagas (MIP) mediante la aplicación de la Técnica de Confusión Sexual (TCS) en grandes extensiones, combinada con el control químico, cultural y legal. El objetivo general del programa era disminuir la densidad de “carpocapsa”, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae), plaga clave¹ y primaria² en frutales de pepita, y mantener su equilibrio biológico por debajo del umbral de daño económico, a menos del 0,1% de daño en cinco años. Este objetivo se llevó a cabo con asistencia al productor para dinamizar el cambio tecnológico, hacer viable económicamente la aplicación masiva de la TCS como herramienta base de control, y mantener los principales mercados compradores (Giganti *et al.*, 2007; Villarreal *et al.*, 2010).

Como resultado de su implementación, se permitió bajar el porcentaje de daño de carpocapsa de un 6% a un 0.26% y disminuir el número de aplicaciones de insecticidas en una 40%. Previo a esto se efectuaban entre 8 y 12 aplicaciones de plaguicidas, mayormente de la familia de los organofosforados, en particular metil azinfos. Al tercer año de su implementación se señala un promedio de cinco tratamientos con plaguicidas (Villarreal *et al.*, 2010).

¹ Plaga clave: todas las estrategias de control se planifican en base a la plaga de mayor importancia económica.

² Plaga primaria: constituye un problema sanitario básico, que de no ser controlado produce daños económicos de gran consideración.

La disminución del número de aplicaciones implicó una reducción tanto en la cantidad de productos de síntesis que se vuelcan al ambiente como en los costos de producción. La prohibición del metil azinfos en la Comunidad Europea fue durante el 2009, donde el Parlamento Europeo dictó la reglamentación (1107/2009) referida a la disminución de su tolerancia de importación de 0,5 a 0,05 ppm, limitó su uso en fruta fresca a dicho destino en un máximo de 2-3 aplicaciones (Cichón & Garrido, 2012). Actualmente, el SENASA dispuso a través de su Resolución 149/2016 prohibir la elaboración, importación y fraccionamiento de formulaciones de insecticidas realizadas con metil azinfos y metamidofos a partir del 1 de julio de 2016, indicando que tiene un elevado riesgo para quienes los aplican, para insectos benéficos y de extrema toxicidad para aves (SENASA, 2016).

Según Matthews (1981), más del 99% de los plaguicidas no logran alcanzar el objetivo previsto, y se distribuye en distintos compartimentos del ambiente; agua, suelo, aire, afectando a otros organismos. Algunos de los impactos de los insecticidas en organismos no blanco lo constituyen la disminución de predadores benéficos y parásitos, que junto a la disminución drástica del uso de insecticidas en general y de organofosforados en particular puede conducir a la resurgencia de plagas secundarias (Murphy, 2005; Cichón & Garrido, 2012).

1.3.2. Establecimiento de producción orgánica

Según la definición de la FAO (1999), la producción orgánica es un sistema holístico de “gestión de la producción” que fomenta y fortalece la salud de los agroecosistemas, la diversidad, los ciclos y la actividad biológica del suelo, cuyo objetivo es lograr una producción sostenible en lo ecológico, social y económico, donde el término “orgánico” denota un proceso y no un producto.

En los últimos años se aprecia por parte de los consumidores de frutas, sobre todo de los países desarrollados, una creciente preocupación por aspectos vinculados con la salud, la conservación del medio ambiente y los recursos naturales en las

regiones de producción de frutas y hortalizas. Esta línea de pensamiento ha llevado al comercio internacional a un aumento en la demanda de productos diferenciados bajo el nombre de “producción ecológica” o de “producción orgánica” (Lanati, 2003).

En Argentina, las principales provincias productoras de frutas orgánicas son Río Negro (47%), Neuquén (23%), Mendoza (13%) y Tucumán (10%) (SENASA, 2010). La evolución de la superficie destinada a la producción orgánica de frutas de pepita, ha manifestado un incremento importante en los últimos 8 años (Figura 2). Respecto al mercado internacional, la demanda externa presenta un crecimiento sostenido, siendo el destino principal de las exportaciones la Comunidad Europea y en segundo lugar los Estados Unidos (SENASA, 2008).

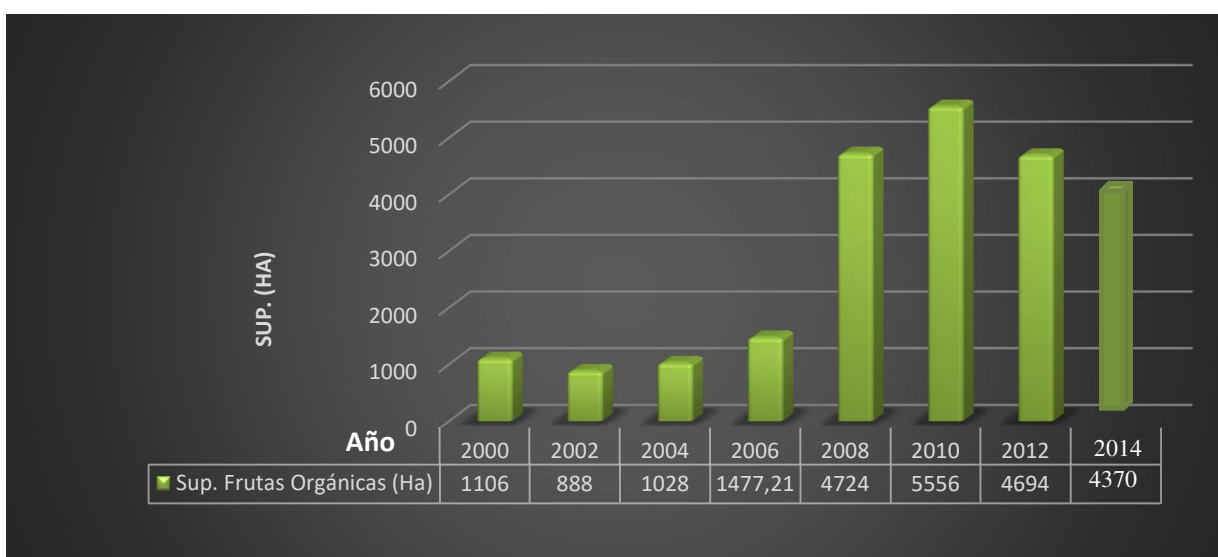


Figura 2: Evolución bianual de la superficie destinada a la producción orgánica de frutales de pepita en Argentina. Elaboración propia con datos extraídos de www.senasa.gov.ar

En Argentina, los principales productos permitidos para el control de plagas en agricultura orgánica, son los preparados vegetales en base a piretro extraídos de distintas especies vegetales, *Bacillus thuringiensis*, aceites vegetales y minerales, Caldo Bordelés, tierra de diatomeas, azufre, entre otros (Resol. SAGyP 423/92) (Cucchi & Becerra, 2007). En los montes de producción orgánica sólo se pueden aplicar aceites de verano al 1% (Beseler *et al.*, 2008).

La producción orgánica es una forma de producción impulsada por el aumento de consumo de la población y por la rentabilidad en el comercio exterior. Ésta presenta una serie de características distintivas respecto de la convencional, expuestas en la Tabla 1 (FAO, 2003; Foguelman, 2003).

Tabla 1: Comparación de prácticas orgánicas y convencionales vinculadas al manejo de plagas y enfermedades (extraído de Foguelman, 2003).

Producción Orgánica	Producción Convencional
Biodiversidad promovida y usada como herramienta	Biodiversidad controlada y evitada
Prevención como prioridad	Control químico
Manejo de la fertilidad natural y de la nutrición equilibrada	Fertilización química, desbalance nutricional de la planta
Tiempos prologados de estabilización ambiental	La estabilización no es un objetivo
Producción basada en procesos	La estabilización no es un objetivo
Mejoramiento de la sanidad con el tiempo, menos necesidad de controles	Empeoramiento de la sanidad con el tiempo, necesidad de aumento de la dosis de agroquímicos
Bajo riesgo de toxicidad por aplicación de producto	Riesgo de intoxicación por aplicación de agroquímicos

1.4. La influencia del manejo del sistema sobre la biodiversidad y abundancia de artrópodos

La “Diversidad Biológica” o “Biodiversidad” es un término utilizado para referirse a la diversidad de organismos que viven en un espacio particular, tomando como medidas la diversidad taxonómica, la diversidad genética o la riqueza de especies (Long, 1994; Melendi *et al.*, 2008).

En la actualidad, es un motivo de inquietud el hecho de que las actividades humanas

han reducido la biodiversidad a escala regional, nacional y mundial. Esto se manifiesta en la pérdida de poblaciones de animales y vegetales, en el agotamiento de especies y en la simplificación de comunidades y ecosistemas (Rathman *et al.*, 1988; Amalin *et al.*, 2009).

Algunos estudios han demostrado diferencias en la diversidad de artrópodos entre áreas tratadas y no tratadas con insecticidas (Berry *et al.*, 1996; Teodorescu & Cogălniceanu, 2005; Gangurde, 2007; Amalin *et al.*, 2009). En investigaciones realizadas en los cultivos de manzanos y perales con manejo orgánico, se ha demostrado que tienen significativamente más enemigos naturales y fitófagos que un cultivo tradicional (Dapoto & Giganti, 2002; Fernández *et al.*, 2008).

Las prácticas de manejo intensivo en el monte convencional tienen un impacto principalmente sobre la diversidad de los agroecosistemas, por procesos ecológicos negativos que son reflejados en el medio productivo, como la desestabilidad nutricional del suelo y la planta, aumentando la incidencia de desórdenes biológicos y fisiológicos (Martins *et al.*, 2013).

La biodiversidad y abundancia de organismos de origen animal está regulada tanto por factores abióticos como por factores bióticos de origen animal y vegetal, como predadores, parasitoides, entomopatógenos y malezas. Estos predadores benéficos o parasitoides ayudan al control de las plagas en los predios con baja intensidad de aplicaciones de insecticidas (Begon *et al.*, 2006).

Los organismos fitófagos suelen prevalecer en cultivos tratados con insecticidas dado que poseen un mayor potencial para la detoxificación y los predadores y parasitoides son más susceptibles a ellos (Teodorescu & Stănescu, 1994).

Los organismos benéficos pueden aumentar sus niveles poblacionales con la incorporación de arbustos, con el manejo de la vegetación espontánea en los interfilares y árboles como el caso de *Populus* spp., que delimitan los cuadros de predios frutícolas como barreras rompeviento (Altieri, 1994; Olave, 2008). Es

fundamental tenerlo en cuenta a la hora de planificar la plantación, para favorecer la biodiversidad y proveer refugio a los insectos benéficos para evitar su migración (Peck & Merwin, 2004; Altieri & Nichols, 2007).

Las investigaciones relacionadas con el MIP han experimentado en los últimos años un aumento importante, principalmente a causa del incremento de los problemas ecológicos derivado del empleo irracional de los plaguicidas (Nazca *et al.*, 1991). Se hace necesario iniciar la implementación del MIP a partir del concepto de agroecosistema (Giganti *et al.*, 2007). La región es considerada, como un agroecosistema frutihortícola y forestal (Dapoto *et al.*, 2011).

Los principales cambios y novedades que se registran en estas áreas están relacionados, en parte, con el incremento en la presencia de insectos de diferentes órdenes y su consecuente influencia sobre la biodiversidad. Desde hace algunos años se viene incrementando la presencia de insectos, que también se atribuye al cambio climático, al rápido transporte de mercaderías de distintas regiones del país y del exterior, tanto de especies benéficas como perjudiciales (Dapoto, *et al.*, 2011).

1.5. Aspectos sanitarios de los frutales de pepita en la región del AVRN y NQN

En la actualidad, los países compradores exigen mayores requisitos sanitarios a los países productores, imponiendo la necesidad de realizar protocolos específicos para algunas plagas, como es el caso de *C. pomonella*, que es la principal plaga cuarentenaria de la región. Declarada “Plaga de la Agricultura” en 1964, por decreto Ley N°6.704 de la Nación Argentina, estableciéndose la obligatoriedad de su control (SENASA, 2010). En este contexto, otras plagas han cobrado mayor importancia, como es el caso específico en la región del “piojo de san José” (PSJ) *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock, 1880) (Hemiptera: Diaspididae). Esta

especie tuvo gran trascendencia por su importancia secundaria³ y cuarentenaria⁴ (Dapoto *et al.*, 2011; Cichón *et al.*, 2014).

Las estrategias de control en el monte frutícola se realiza de acuerdo al tipo de plaga y el riesgo de daño de cada una de ellas (Cichón, 2005). Estas aplicaciones de insecticidas en distintas épocas del año para el control de las plagas ha sido históricamente el principal aliado para lograr una buena comercialización de la producción (Cichón *et al.*, 2010).

Las plagas más comunes en cultivos de pomáceas presentes de la región se muestran en la Tabla 2.

1.5.1. Origen y evolución de *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock)

La especie *Q. perniciosus* es de origen holártico (norte de China) y fue descrita por primera vez en Estados Unidos en el año 1880 por el autor, basándose en ejemplares hallados en el “Valle de San José”, en California (EEUU). Por tal motivo, el nombre vulgar se denominó “piojo de San José” o “San José Scale” (González, 1981). En Chile, se la denomina “escama de San José” (Sazo, 2013). Las distintas sinonimias de la especie han cambiado con el transcurso de los años, aproximadamente 24 veces: *Aspidiotus perniciosus* Comstock, 1881; *Aonidiella perniciosus* Berlese & Leonardi, 1898; *Comstockaspis perniciosus* Mac Gillivray, 1921; *Quadraspidiotus perniciosus* Comstock, 1881; *Diaspidiotus perniciosus* Borchsenius, 1950, entre otros. Existen taxónomos que están de acuerdo en cuanto a la colocación genérica de *D. perniciosus* (Danzing, 1986), mientras otros como Kosztarab (1996) dejó el género en *Quadraspidiotus*, ampliamente utilizado en todo el mundo (Cabi, 2016).

³ Plaga secundaria: es aquella plaga que con cierta frecuencia en el año, puede sobrepasar el UDE y llegar a niveles de daño económico.

⁴ Plaga cuarentenaria: plaga de importancia económica potencial para el área en peligro cuando aún la plaga no existe o, si existe no está extendida y se encuentra bajo control oficial.

Tabla 2: Plagas secundarias más comunes en cultivos de pomáceas en la Norpatagonia

Nombre Científico (NC)	Nombre Vulgar (NV)	Importancia
<i>Quadraspidiotus perniciosus</i> C.	Piojo de San José	Secundaria y cuarentenaria
<i>Panonychus ulmi</i> K.	arañuela roja europea	Secundaria
<i>Tetranychus urticae</i> K.	arañuela roja común	Secundaria
<i>Bryobia rubrioculus</i> S.	arañuela parda	Secundaria
<i>Cenopalpus pulcher</i> C.	arañuela chata	Secundaria
<i>Epitrimerus pyri</i> N.	ácaro del agamuzado del peral	Secundaria
<i>Eryophyes pyri</i> P.	ácaro de la erinosis del peral	Secundaria
<i>Edwardsiana crataegi</i> D.	chicharrita, cotorrita	Secundaria
<i>Lepidosaphes ulmi</i> K.	cochinilla coma	Secundaria
<i>Pseudococcus viburni</i> S.	cochinilla harinosa	Secundaria y cuarentenaria
<i>Parthenolecanium corni</i> B.	cochinilla marrón	Secundaria
<i>Cydia molesta</i> B.	grafolita	Secundaria y cuarentenaria
<i>Eriosoma lanigerum</i> H.	pulgón lanífero del manzano	Secundaria
<i>Aphis gossypii</i> G.	pulgón negro del peral	Secundaria
<i>Aphis spiraecola</i> P.	pulgón verde del manzano	Secundaria
<i>Myzus persicae</i> S.	pulgón verde del duraznero	Secundaria
<i>Cacopsylla bidens</i> S.	Psílido del peral	Secundaria
<i>Frankliniella occidentalis</i> P.	Trips de las flores	Secundaria

Adaptada a distintas publicaciones (Cichón, 2005; Giganti *et al.*, 2007; Cichón, 2010; Dapoto *et al.*, 2011; Cichón & Garrido, 2012; Fernández, 2012).

En 1910, invadió todo el territorio de Estado Unidos y Canadá con frutas o plantas infestadas. Sucesivamente fue introducida a varios países, Nueva Zelanda, Australia, Chile, Argentina, México, y el sur de Sudáfrica (Claps *et al.*, 2001). La Organización Europea y Mediterránea de Protección Vegetal (EPPO) con base en París, fue la encargada de reunir los datos de dispersión de esta plaga en los países europeos y países del mediterráneo, registrando su introducción en Europa en 1930, con plantas o frutos procedentes de Estados Unidos (Gómez, 1962).

En 1930, en la región de los valles norpatagónicos, hubo una transformación de producción frutícola, de una modalidad familiar a una comercial, con una superficie de plantación de frutales de pepita aproximada de 1.168 ha, con cuatro galpones de empaque en donde se recibía, clasificaba y embalaba la fruta. Este incremento en

la producción fue acompañado de un aumento en los problemas sanitarios (Alvarez Palau, 2012).

Para mejorar la eficiencia y calidad de la fruta fresca, la empresa Ferrocarriles del Sud creó en 1918 la Estación Agronómica de Cinco Saltos, y para ello se convocó a entomólogos, fitopatólogos y genetistas, quienes crearon una revista de distribución gratuita alertando sobre las plagas presentes, con descripción de sus daños, biología y recomendaciones sobre su control. Para esa época, los Ingenieros Agrónomos Juan Barcía Trelles y R.F.V. Cooper, describieron a *Q. perniciosus* como una plaga de importancia regional junto a otros insectos destacados por el daño que ocasionaban (Oscos & Gianotti, 1960; Cichón, 2013).

1.5.2. Características morfológicas y biológicas de *Q. perniciosus*

Esta especie ha sido descrita morfológicamente por numerosos autores, en especial por el Ing. Agr. Roberto González de la Universidad de Chile con su extenso y detallado estudio de la bioecología de PSJ en 1981. Respecto a su bionomía, generalmente difiere en distintas regiones del mundo y de la Argentina. En la bibliografía de los últimos años sobre diaspíridos de Sudamérica, se destacan nuevos aportes sobre la taxonomía de *Q. perniciosus* en base al material proveniente de Argentina (Claps *et al.*, 2001; Claps & Wolff, 2003; Zamudio & Claps, 2005).

Esta especie presenta una morfología y biología diferenciada para ambos sexos. Las hembras adultas presentan un escudo circular de aproximadamente 1,3 a 1,6 mm, de color gris oscuro con tres anillos, dos de ellos representan a las exuvias del primer y segundo estadio juvenil, y el último que representa a las secreciones de la hembra que conforma el verdadero escudo. Es un escudo centrado, con una saliencia apezonada en el centro, con presencia de velo ventral, que al levantarlo se observa el cuerpo amarillo del insecto. El escudo de la hembra está firmemente adherido a la planta hospedera por los bordes y deja en su parte posterior un pequeño pasaje para la inserción del edeago del macho durante la cópula. Los

machos poseen escudos ovalados de 1 mm de longitud, con dos anillos, siendo el primero concéntrico y el segundo alargado, representando al primer y segundo estadio ninfal, de similar coloración que la hembra (Granara, 1990; Giganti *et al.*, 2007).

En cuanto a su metamorfosis, la hembra pasa por dos estadios ninfales antes de alcanzar la forma adulta, mientras que el macho transcurre por cuatro estadios juveniles; el primero y el segundo son comparables con los femeninos, siendo el tercero y el cuarto, como prepupa y pseudopupa. El macho al estado adulto se caracteriza por ser alado, de 1mm de longitud, amarillo, con antenas moniliformes, con una banda rojiza oscura transversal en el tórax y con un stylus o estilete copulador muy desarrollado (González, 1981).

El primer estadio ninfal presenta tres fases: la primera es migratoria, mide aproximadamente 1mm, de color amarillo, posee apéndices locomotores y antenas. Esta fase ninfal puede fijarse en el manzano en unos pocos minutos hasta un máximo de 24 horas y es la responsable de la dispersión de la especie hacia otros hospederos (Charlin & Sazo, 1988). La segunda fase es sésil, pierde las patas y se fija al vegetal, produce filamentos sedosos similares al algodón, formando el caparazón laxo y blanco por lo que se la denomina “gorrita blanca”. La tercer fase, es cuando se solidifica y forma una armadura dorsal más consistente de color grisácea, llamada “gorrita negra” (González, 1981).

En cuanto al 2º estadio ninfal, se produce la atrofia de las extremidades y la hembra adopta una forma angulosa en la región pigidial, donde se observan lóbulos y peines. El escudo aumenta de tamaño y puede observarse la exuvia proveniente de la ecdisis (Lopez García, 2011). Luego de la última muda, las hembras adultas maduras sexualmente son ovovivíparas (Gonzalez, 1981). Pueden llegar a parir hasta 400 individuos. En España, los nacimientos ocurren a los 30-40 días después de la cópula (Figura 3) (García de Otazo López., 1992; Rojo Hidalgo, 2016).

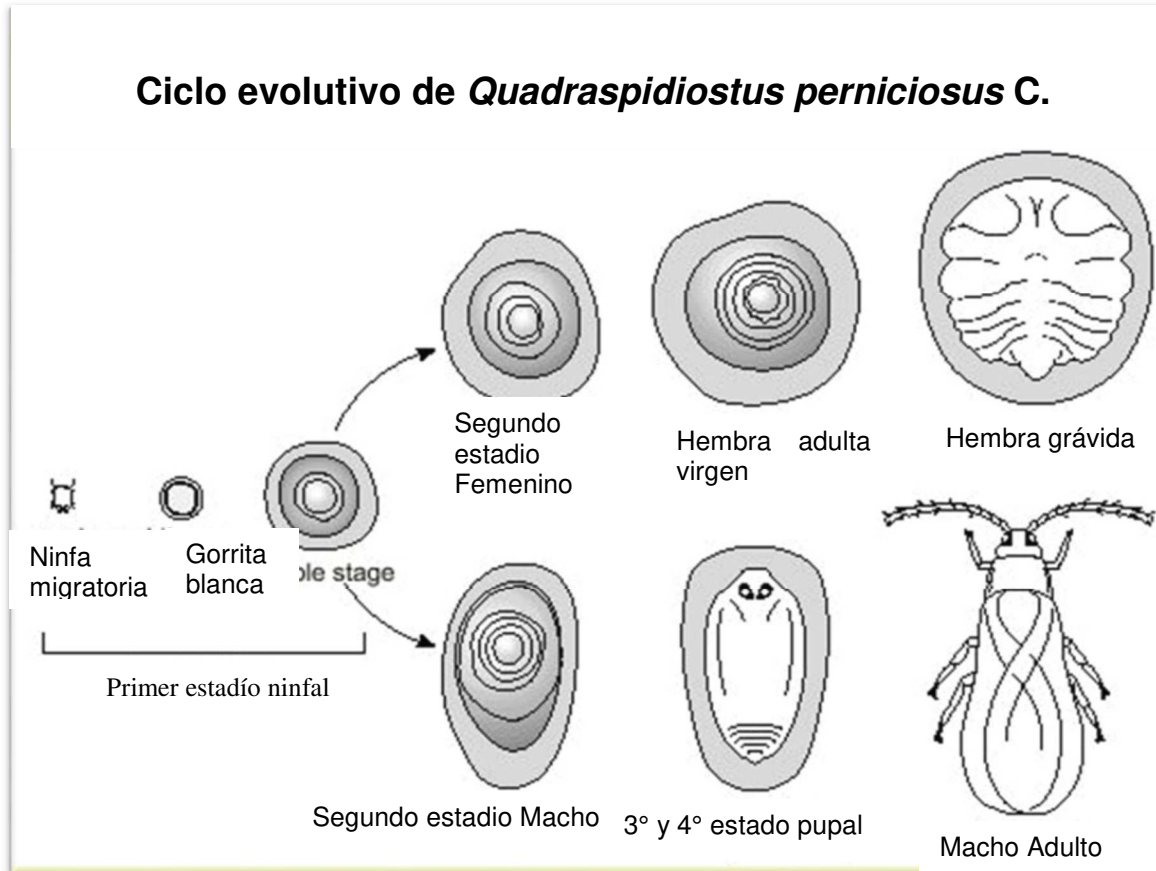


Figura 3: Ciclo biológico del PSJ (Extraído y adaptado de Rojo Hidalgo, 2016)

El número de generaciones anuales de *Q. perniciosus* depende de las condiciones climáticas de cada región, con un máximo de 5 gen/año en el mundo (Davison & Miller, 1990; Kozar, 1990; Gill, 1997; López Garcia, 2011). En la región central de Chile y en la región mediterránea de España, se distinguen 3 generaciones (González 1981; Folk *et al.*, 2003). En el Alto Valle se han indicado 3 gen/año (Giganti, *et al.*, 2007; Cichón *et al.*, 2015).

1.5.3. Hospederos y daños de *Q. perniciosus*

Es una plaga cosmopolita, citada en más de 700 especies vegetales. Cuenta entre sus hospederos a los frutales de pepita, carozo, la mayoría de las rosáceas, diversas especies forestales y ornamentales (Rodríguez, 2000; Charles &

Henderson, 2002; CABI, 2016). En la región, se ha hallado en frutales: manzano, peral, membrillero, cerezo, ciruelo, damasco, duraznero, almendro, nogal. Además, en sauce, álamo, olmo, acacia, fraxinus, crataegus y otras ornamentales que representan una fuente de inóculo muy importante (Sazo, 2013). Se localiza sobre troncos, ramas y brotes, formando densas colonias en las partes leñosas, dañando además hojas y frutos (Dapoto *et al.*, 2011).

El daño en el fruto se manifiesta dejando una marca o halo metaplásico característico de color rojizo en el borde del escudo, que perdura cuando se desprende de éste (Baggiolini *et al.*, 1990). Cuando se levanta el escudo, además de la marca mencionada, el color es claro debido a la falta de ingreso de luz natural. En su parte central se observa un punto oscuro, que es la herida que deja la cochinilla por la inserción de su aparato bucal picador-suctor. Cuando ésta se desprende deja una marca característica del mismo diámetro del escudo. Debido a la gran extracción de savia que realizan, la corteza de las plantas se arruga, se agrieta, provocando senescencia y muerte de las plantas (Oscos & Gianotti, 1960; González, 1981; Giganti *et al.*, 2007). En arboles jóvenes de manzano y de peral, debido a la gran extracción de savia y su rápida colonización, pueden eliminar la planta en dos o tres años (EPPO, 1990).

1.5.4. Distribución e importancia económica de *Q. perniciosus*

El conocimiento de los mapas de distribución constituye una herramienta importante para la comercialización de productos de Argentina a nivel mundial. Actualmente, la especie está distribuida en todo el mundo (Figura 4) (Cabi, 2016).

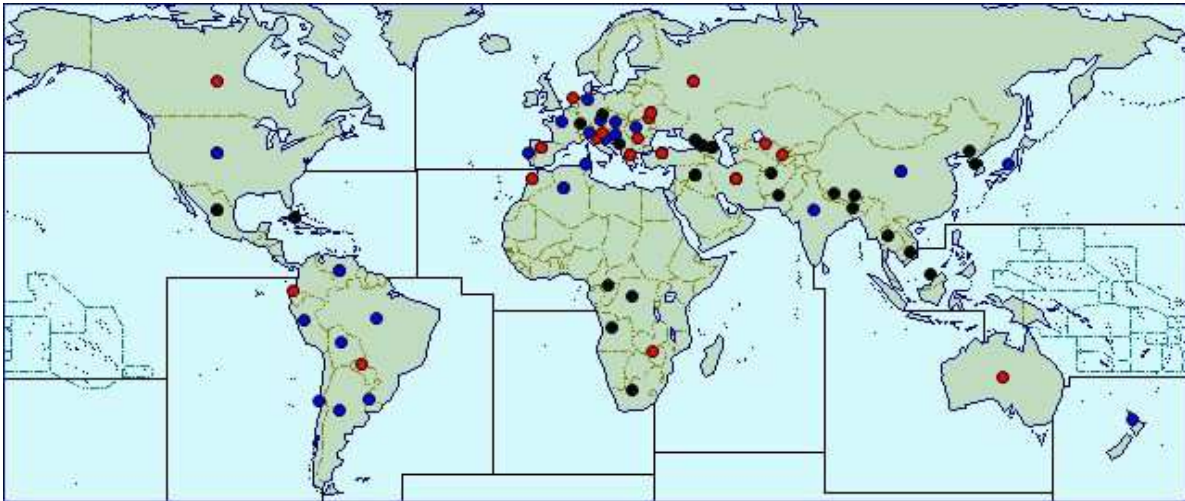


Figura 4: Mapa de distribución mundial de *Q. perniciosus*. Ref.: ●: Localizada, ●: Presente, ●: Generalizada (Cabi, 2016).

Como ya se ha expresado, de acuerdo a los daños que ocasiona es una plaga secundaria de importancia económica para manzana y pera. Según la resolución del ministerio de agricultura en el año 1983, es de importancia cuarentenaria con nivel de tolerancia del 0% exigido por los países importadores; tal es el caso para EE.UU (Giganti *et al.*, 2007).

La especie *Q. perniciosus* condiciona la exportación de la fruta a diferentes mercados, principalmente a USA, Israel, Rusia, Israel, Bielorusia, Croacia, Honduras, Mauricio, Singapur, Turquía, Ucrania, Vietnam, Colombia, Cuba y Costa Rica (SENASA, 2012; Cichón *et al.*, 2014).

Es particularmente importante el esfuerzo de erradicación que por años se realiza en el ámbito de la Organización Europea y Mediterránea de Protección Fitosanitaria (OEPP/EPPO). Este organismo, dictaminó a inicios de la década del 70 limitar la distribución de esta especie fijando normas de restricción, principalmente al movimiento de plantas infestadas entre los países miembros, logrando eliminar la plaga en varios países europeos (Bélgica, Dinamarca, Finlandia, Gran Bretaña, Irlanda, Islandia, Luxemburgo, Noruega, Países Bajos, Polonia, Alemania y Suecia). Con respecto a la importancia en Europa de frutas frescas procedentes de países

infestados, se ha también adoptado la norma de prohibir el ingreso de frutos infestados con “escudos” o escamas vivas o muertas (González, 1981).

Es una plaga muy importante ya que la fruta afectada no es apta para la comercialización (Costa Comelles *et al.*, 1989). No se pueden ofrecer cifras específicas en la incidencia económica en las restricciones comerciales, en las medidas directas y preventivas para el control del PSJ. Sin embargo, la magnitud del problema hace que el uso de los insumos, maquinaria de aplicación, planta procesadora, y en algunos casos el rechazo de la fruta en el galpón de empaque o en el puerto, que significa flete perdido, reseelección y embalaje, constituya una importante parte del costo en la producción de la fruta (González, 1989; Villarreal & Santagni, 2004; Villarreal *et al.*, 2011).

1.5.5. Control de *Q. perniciosus* en la región del AVRN y NQN

Control químico

Tradicionalmente, la estrategia usada para el control de insectos del Orden Hemiptera, familia Diaspididae, llamadas vulgarmente “cochinillas”, ha sido el uso de aceites minerales junto a productos insecticidas del grupo organofosforados y los polisulfuros (Baggiolini *et al.*, 1990; Fernández *et al.*, 2005; Cichón *et al.*, 2014; Cichón *et al.*, 2015). En estas especies se busca controlar particularmente a los estadíos más sensibles a las aplicaciones de productos químicos, como las ninfas de 1° estadío, y en algunos casos, los machos voladores como es el caso de *Q. perniciosus* (Angerilli & Logan, 1986; Cichón & Garrido, 2012).

Las aplicaciones de control a la salida del invierno son de gran relevancia, ya que provocan una alta mortalidad de escudos y concentran en el tiempo los nacimientos de la primera y segunda generación de ninfas, facilitando su control. (Cichón *et al.*, 2014).

En la actualidad los agroquímicos permitidos para el control del PSJ son establecidos por los países compradores de fruta y se señalan en la siguiente tabla.

Tabla 3. Productos químicos usados en manzanos para el control del *Q. perniciosus* y otras plagas. Temporada 2012-2013.

Plagas	Momento de Aplicación	Principio Activo Recomendado	Marca comercial	Dosis o Conc./hl	Observaciones
PSJ+ ARE+ AP+ Pulgón lanígero+ Cochinilla harinosa	Yema hinchada hasta inicio de Puntas verdes	Aceite Mineral de Invierno(AMI)+/O Clorfirifos	Varias marcas 48Ec; Pyrinex25ME	130cc; 250cc.	Verificar registros
		AMI+/O Dimetoato	Varias marcas 37.6 EC; Perfection S 50 EC	120 CC; 90 CC	
		AMI+/O Metidación	Supracid 40 EC; Suprathion40EC Lupara100EC	80CC	
		AMI+/OMercaptothion		150CC	
PSJ+ ARE+ AP+ Pulgón lanígero+ Cochinilla harinosa	Puntas Verdes	Aceite Mineral de Verano(AMV)	Varias Marcas	1%	Aplicar con Altos Volúmenes de agua
		Aceite Vegetal (AV)	Natural Oleo	1%	
		AMV ó AV +/O Clorfirifos	Varias marcas 48Ec; Pyrinex25ME	130cc; 250cc	
		AMV ó AV +/O Dimetoato	Varias marcas 37,6 EC; Perfekthion S 50 EC	120cc; 90cc	
		AMI+/O Metidación	Supracid 40 EC; Suprathion40EC	80cc	
Piojo de S. José + Carpocapsa + Grafolita	Noviembre	Metomil Metidation Pyriproxifen	LanateSP90 Suprathion40EC Esteem 10EC	40-60CC 85- 100CC 30CC	

Piojo de S. José+ Carpocapsa	Ene-Feb (6°y7°apl.) 1200°D	Clorpirifos Metomil Metidathion	Varias marcas 48EC; Lorsban75WG; Pyrinex 25 ME LannateSP 90 Suprathion40EC	100CC; 85gr., 250CC 40-60CC. 85- 100CC	El control de la 2° gen. del PSJ no se recomienda realizarla salvo que se pueda cumplir al momento de cosecha con los tiempos de carencia oficiales o los requerimientos de tolerancias de países compradores.
PSJ y Cochinilla Harinosa (Pseudococcus sp.)	Poscosecha	Clorpirifos Metomil Metidathion Dimetoato Polisulfuro	Varias marcas 48EC; Lorsban75WG; Pyrinex 25 ME LannateSP 90 Suprathion40EC	100CC; 85gr., 250CC 40-60CC. 85- 100CC	Se recomienda el agregado de aceite de verano al 0.25% para aumentar la eficacia. Verificar la amplitud del período de nacimientos y repetir en caso de ser necesario. De no registrarse la presencia de dichas plagas no efectuar tratamiento alguno debido a su baja selectividad con los organismos benéficos

(Extraído y adaptado de Cichón *et al.*, 2013).

Si bien el uso de productos químicos permiten el control de esta especie a niveles comerciales aceptables, también se suma al pool de agroquímicos usados en la agricultura en la región, que ha provocado la disminución de la biodiversidad y un grave impacto negativo en la salud humana, animal y contaminación del agua, suelo y aire (Dapoto *et al.*, 2011).

Control biológico

Ciertas especies de enemigos naturales son muy útiles como herramienta de control para disminuir las poblaciones de *Q. perniciosus*. Frecuentemente, en otros lugares del mundo, hay citas y registros de los organismos benéficos encontrados sobre PSJ, tales como *Chilocorus orbus* C., *Cybocephalus californicus* H., *Encarsia* spp.,

Orius insidiosus (Say), incluso hormigas específicas como *Linepithema humile* Mayr., entre otros (Merwin *et al.*, 1994; Cabi, 2016). En cuanto a la región, se han encontrado registros de *Aphytis* spp., *Prospaltella* spp. y *Crisopa lanata* L. (Giganti *et al.*, 2007).

1.5.6. Distribución espacial de *Q. perniciosus* en el monte frutal

Las poblaciones de insectos pueden presentar diversos modelos de distribución territorial que son respuesta a un conjunto de diversas influencias, como la disponibilidad de recursos y las condiciones del entorno, y es útil para evaluar la densidad de población por muestreo (Dajoz, 1979; Odum & Barrett, 2005).

En el presente, existen nuevas e innovadoras herramientas de alto potencial que permiten una mejora sustancial de la productividad en la agricultura. Es el caso de la “teledetección”, con la que se puede obtener información sobre el estado de los cultivos mediante el uso de satélites, de drones, entre otros (Calderon *et al.*, 2013)

El empleo de cámaras multiespectrales, implica que no sólo se toman imágenes ópticas convencionales sino también otras partes del espectro, como cámaras térmicas o de infrarrojos. Las cámaras con banda infrarrojo cercano, permiten generar índices de vegetación y, por ende, determinar la variabilidad de la biomasa. También, si la cámara tiene sensores termales, se pueden identificar las zonas del predio donde existen plagas y donde hay mayor evapotranspiración (Bellvert *et al.*, 2013).

Esta tecnología, donde se incluye la toma de imágenes multiespectrales y el índice Vegetativo Normalizado (sigla en inglés NDVI) del campo, permite definir de forma más rápida si la falencia del predio corresponde a un sistema de riego, de arrastre o de viento, a plagas, a enfermedades, entre otras (Calderon *et al.*, 2013).

1.6. Efectos indirectos de los plaguicidas en los artrópodos

Los dos índices básicos de desarrollo de la población humana son la industrialización y la producción agrícola, las cuales son las principales actividades en crear una situación de sobrecarga de xenobióticos (Ahmad, 1995). En la actualidad, cada vez hay más industrias y agricultura química que están limitando las posibilidades de una calidad de vida más saludable, no sólo para el hombre sino también para todas las formas de vida en un ecosistema (Bhattacharya, 2001).

Los insecticidas o biocidas continúan siendo la clave para el control de las plagas de insectos que amenazan continuamente a la agricultura. Sin embargo, a pesar de intensas investigaciones en marcha, hay un número limitado de insecticidas químicos comercialmente disponibles (Perry *et al.*, 2011). Los compuestos pueden tener su origen en productos naturales y/o de síntesis, siendo optimizados por los químicos para aumentar su efectividad y selectividad, mientras que los toxicólogos estudian su modo de acción y seguridad en el medio ambiente y sus componentes (Casida & Quistad, 2004).

Los efectos indirectos de los plaguicidas en los artrópodos pueden ocurrir en todos los niveles de organización biológica, desde el nivel molecular-subcelular hasta el ecosistema. Estos efectos indirectos pueden provocar disrupción en la homeostasis a nivel individual, disminuir la abundancia a nivel poblacional, o producir cambios en la diversidad a nivel de la comunidad (Hyne & Maher, 2003).

Los grupos principales de plaguicidas usados en la agricultura para el control de las plagas son los organofosforados, los carbamatos, los piretroides y neonicotinoides, los cuales producen varios efectos en los organismos vivos, pudiendo aumentar los niveles de radicales libres e influenciar en el sistema de defensa antioxidante en tejidos y células (Freeman & Crapo 1982; Zikic *et al.*, 1996). Además de los efectos agudos originados por la interacción del plaguicida con la molécula blanco, estos compuestos pueden ocasionar daño celular a través de otros mecanismos, entre

ellos la formación de especies reactivas de oxígeno (EROs) que conducen al estrés oxidativo (Baconi *et al.*, 1995; Büyükgüzel, 2009).

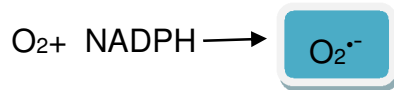
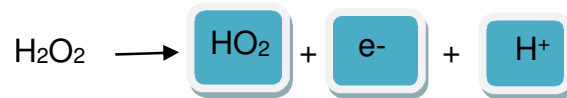
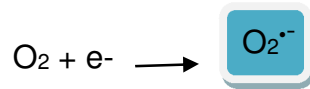
1.7. Especies reactivas de oxígeno

El oxígeno es un elemento que presenta un perfil con doble efecto en los organismos vivos; es esencial para el desarrollo de la vida aerobia y posee efectos tóxicos inherentes a su estructura (Halliwell & Gutteride, 2007; Corrales & Muñoz Ariza, 2012). Del oxígeno se derivan moléculas inestables denominadas radicales libres que pueden causar daño a nivel celular. Cuando se pierde el equilibrio entre dichas moléculas y el sistema de defensa antioxidante que poseen los seres vivos, generan así lo que se denomina estrés oxidativo (Rios de Molina, 2003). El estrés oxidativo ha sido definido como un desequilibrio entre la producción de EROs y la capacidad del sistema biológico para detoxificar rápidamente estas especies (Sies, 1997).

Los radicales libres son moléculas capaces de existir de forma independiente conteniendo en su última orbita uno o más electrones desapareados, los cuales le otorgan un carácter muy inestable y altamente reactivo con las diferentes moléculas que integran la estructura celular (Ajuwon *et al.*, 2015). Por su configuración electrónica estos radicales presentan una vida media corta. Sin embargo, en diversos estudios, se ha demostrado que la reactividad de estas moléculas se correlaciona inversamente con su vida media y capacidad de difusión en el medio celular. Los radicales libres se pueden formar a partir de diversos mecanismos, siendo la adición de un electrón a una molécula estable el más común (Bhattacharya, 2001). Una vez que estos son formados, buscan el modo de conseguir una configuración electrónica estable, razón por la cual interactúan con otras moléculas a través de reacciones de óxido reducción (redox). Dicho mecanismo genera que la producción de radicales libres sea una reacción en cadena, ya que al reaccionar un radical libre con una molécula no radical inevitablemente esta última pasa a ser un radical libre (Corrales & Muñoz Ariza, 2012).

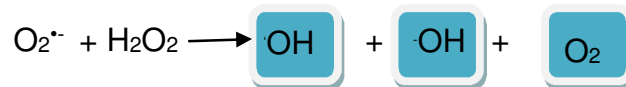
Según Rios de Molina (2003) y Krishnan & Kodrik (2012), algunos de los procesos que generan a los radicales libres y a las principales EROs, son los siguientes:

Generación del anión superóxido:



Generación de radicales hidroxilos

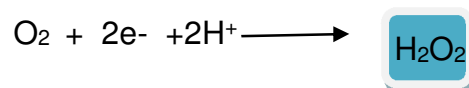
Reacción de Haber-Weiss:



Reacción de Fenton:



El peróxido de hidrogeno no es un radical libre, pero es una forma reactiva de gran importancia (Corrales & Muñoz Ariza, 2012):



Cuando ocurre un desequilibrio a favor de los radicales libres u otras EROs, se puede producir daño en moléculas de importancia biológica como el ADN, proteínas y lípidos de membrana, ocasionando la muerte celular (Bonekamp *et al.*, 2009; Gupta *et al.*, 2010 Sohal & Orr, 2012).

1.7.1. Efectos de las EROs a nivel celular

Los ácidos nucleicos también son susceptibles de reaccionar con los radicales libres. Las modificaciones químicas en los nucleótidos provocan, en muchos casos, la ruptura de las hebras del ADN. Si el daño originado es importante y no puede ser reparado, se produce una mutación o la muerte celular (Cerutti, 1985). También pueden causar malformaciones en el esperma (Mathews, 1992) y actuar como inductor de proteínas de estrés (heat shock proteins) (Bagchi *et al.*, 1996). Si bien las EROs cuando están presentes en cantidades transitorias intervienen en varios procesos biológicos mediante la regulación de una serie de vías de transducción de señales (Lau *et al.*, 2008), niveles altos y/o sostenidos pueden inducir alteraciones biológicas que conducen al estrés oxidativo (Rodríguez *et al.*, 2001).

Además de estos efectos, un incremento en los niveles de EROs también puede constituir una señal de estrés que activa vías de señalización específicas hacia redox sensibles. Una vez activadas estas vías de señalización pueden tener funciones potencialmente perjudiciales o protectoras (Bonekamp, 2009).

Los fosfolípidos de las membranas celulares son un blanco altamente vulnerable al ataque de radicales libres, debido a la susceptibilidad de sus cadenas laterales de ácidos grasos poliinsaturados a la oxidación. El deterioro oxidativo que afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados y puede inducir cambios en la permeabilidad de la membrana se denomina peroxidación lipídica (Rizzo *et al.*, 2010).

Las proteínas pueden también ser dañadas directamente por los radicales libres. En general, se produce daño oxidativo sobre aminoácidos tales como fenilalanina,

tirosina, histidina, triptófano y metionina. Tienen lugar entrecruzamientos de cadenas peptídicas, fragmentación de la proteína por ruptura de enlaces peptídicos y la consecuente formación de grupos carboxilos que impiden el normal desarrollo de funciones de la proteína (Venereo, 2002). El daño a las proteínas de transporte de membrana puede afectar la homeostasis iónica conduciendo a la acumulación de calcio, lo cual puede provocar el deterioro celular (Rice-Evans & Burdon, 1993). Los radicales libres pueden también reaccionar directamente con el ligando metálico de muchas metaloproteínas (Freeman & Crapo, 1982). Aproximadamente entre el 1 y el 2% del oxígeno consumido durante la respiración se convierte en radicales $O_2 \bullet^-$ (Ott *et al.*, 2007).

1.7.2. Localización de EROs a nivel celular

El estrés oxidativo en los animales es un subproducto inevitable del estilo de vida aeróbica, porque el proceso de reducción del oxígeno a agua en la mitocondria para la producción de ATP es continuo (Krishnan & Kodrik, 2012). Durante este proceso, muchas veces hay una fuga de EROs al espacio intracelular (Lau *et al.*, 2008).

Hay numerosos sitios de producción de oxidantes, pero existen algunos de mayor relevancia. La mitocondria es la principal organela responsable de la producción de EROs a través de la cadena de transporte de electrones, el metabolismo de ácidos grasos en el peroxisoma, las reacciones del citocromo P-450, las células fagocíticas como por ejemplo durante el estallido respiratorio, así como en una variedad de sistemas enzimáticos citosólicos comprenden otra fuente endógena de EROs (Figura 5). Mientras algunas enzimas producen EROs como subproducto de su actividad, hay otras que están diseñadas para eliminarlas (Beckman & Ames, 1998).

La cadena de transporte de electrones está formada por cinco complejos enzimáticos, que son las responsables de la generación y mantenimiento del ATP en las membranas de la mitocondria (Ahmad, 1995).

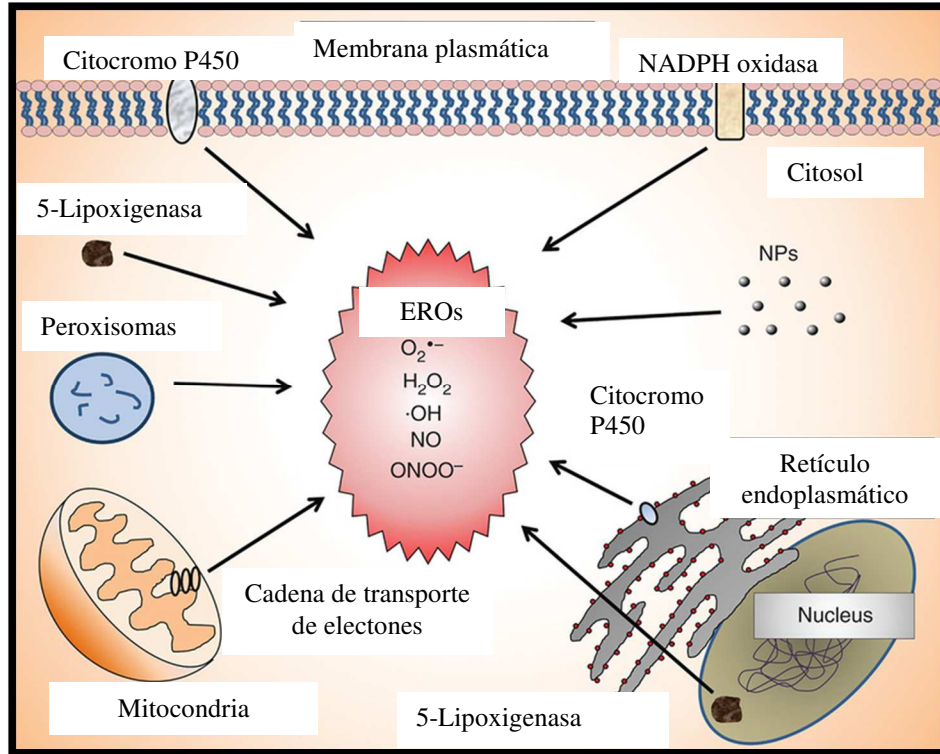


Figura 5: Fuentes oxidantes y su localización celular. Especies reactivas de oxígeno (EROs) son generados en varios compartimentos de la células, tal como el citosol, mitocondrias, retículo endoplasmático y núcleo (Extraído y adaptado de Tee *et al.*, 2015).

1.7.3. Fuentes de EROs

1.7.3.1 Fuentes endógenas

Las EROs son generadas principalmente por fuentes endógenas, como producto de la fisiología normal y de las reacciones metabólicas de las células en un proceso continuo en el organismo (Kohen, 1999; Ajuwon *et al.*, 2015). Bajo condiciones normales en organismos vivos, más del 90% del oxígeno consumido es usado en la cadena de transporte de electrones (Volodymyr *et al.*, 2012).

Los organismos vivos originan EROs, como el radical superóxido, el radical hidroxilo, el peróxido de oxígeno y el radical óxido de nitrógeno (Skrha, 2012). El radical superóxido es formado principalmente durante la generación de energía a través de la cadena de transporte de electrones en la mitocondria. Es considerado

como EROs primario, pudiendo interactuar con otras moléculas directamente o ser catalizados por enzimas y generar EROs secundarias (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Ahmad (1995) muestra una serie de reacciones que originan las EROs en el interior de las células (Figura 6). El radical superóxido es protonado en las siguientes reacciones formando el radical hidroperóxido ($\text{HO}_2\cdot$), ambos radicales dan origen al peróxido de hidrógeno (H_2O_2). En las posteriores reacciones, forma a través de la reacción de Fenton el radical hidroxilo.

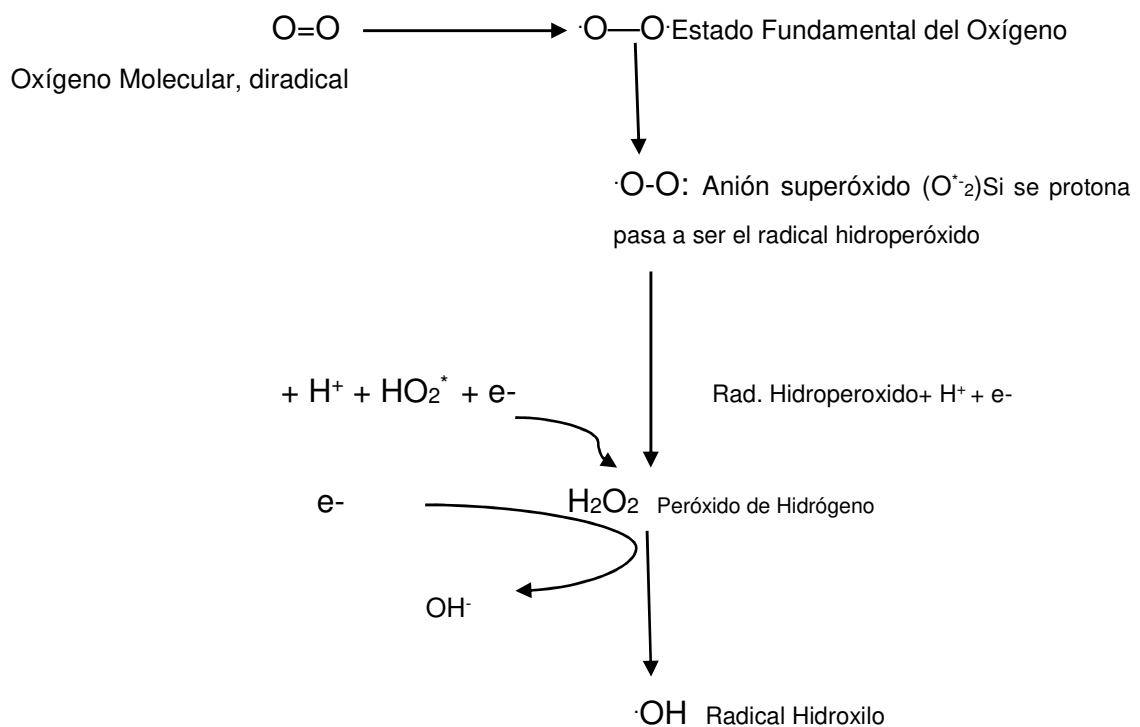
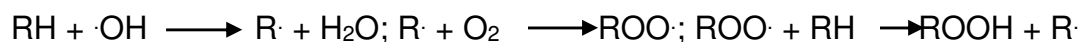


Figura 6: Los radicales libres provenientes del O_2 (Extraído de Ahmad, 1995).

El O_2 reacciona directamente con una molécula insaturada, por ej. la membrana lipídica y las bases del ADN para formar un hidroperóxido orgánico (ROOH). El radical ($\cdot\text{OH}$) es uno de las EROs más reactivos, que provoca las reacciones en cadena de peroxidación lipídica. La cadena es iniciada por una fuerte afinidad de $\cdot\text{OH}$ por el átomo de hidrógeno y así la rápida abstracción de un H de un RH, tal como los ácidos grasos insaturados (Skrha, 2012).

La reacción es la siguiente (Ahmad, 1995):



El producto final de esta primera reacción es el radical $\cdot\text{R}$ y el ROOH , y éste último es muy inestable y se descompone en aldeídos y cetonas, como por ejemplo el malondialdehído (MDA). Los ROOH s también forman el radical libre $\text{ROO}\cdot$ que puede continuar sus reacciones de peroxidación lipídica con el consumo de más ácidos grasos insaturados (Ahmad, 1995; Skrha, 2012).

Si bien las EROs cuando están presentes son intermediarios de corta vida en la célula, son perjudiciales para las células y tejidos, y son removidos por un sistema muy importante de eliminación que implica sustancias endógenas como exógenas (Sies, 1997; Shi-Bei *et al.*, 2012). Ambos procesos, de generación e inhibición de EROs son procesos continuos en los organismos, pero un aumento en la producción de EROs o una insuficiencia en los mecanismos de defensa crean un deterioro en la señalización celular (Skrha, 2012).

1.7.3.2. Fuentes exógenas

Los xenobióticos entran al cuerpo por contacto físico, inhalación o ingestión (Misra *et al.*, 2011). Existen varios factores o fuentes que favorecen la formación de los radicales libres, tales como los agroquímicos, la exposición a rayos X, el ozono, el humo de cigarrillo, los contaminantes del aire y productos químicos industriales que abarcan varios tipos de derivados de óxido nítrico (NO), además de ciertos medicamentos que promueven el aumento de producción de EROs (Corrales & Muñoz Ariza, 2012). También, la exposición de los organismos a la radiación tanto ionizante como no ionizante, UV-C, UV-B y UV-A, pueden producir indirectamente una variedad de EROs tales como $^1\text{O}_2$, H_2O_2 y O_2 . Por último, los oxidantes también provienen de los alimentos que al ser consumidos liberan oxidantes tales como peróxidos, aldeídos, ácidos grasos oxidados y metales de transición. Todos estos

constituyen las principales fuentes de EROs que dañan al organismo (Ajuwon *et al.*, 2015).

1.7.4. Detoxificación de las EROs

En condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre la formación de radicales libres y los mecanismos de defensa antioxidantes. Los insectos, al igual que el resto de los organismos, poseen mecanismos de defensa que previenen o reparan el daño producido por las EROS (Weirich *et al.*, 2002; Büyükgüzel, 2009). La vida media de las principales EROs es muy diferente, lo que da lugar a la necesidad de contar con diferentes mecanismos celulares de defensa (Sies, 1997).

Las defensas de los animales a estos compuestos, es a través de un sistema de detoxificación donde los xenobióticos serán metabolizando y originando sustancias menos tóxicas y fácilmente excretadas (Misra *et al.*, 2011).

1.7.5. Sistema antioxidante

Por definición, un antioxidante puede ser definido como una sustancia que retrasa o previene la oxidación de un sustrato y está presente en cantidades relativamente más pequeñas en relación a éste. Los antioxidantes pueden actuar a diferentes niveles en la secuencia oxidativa y pueden tener múltiples sitios de acción (Krishnan & Kodrik, 2012).

Los sistemas antioxidantes se encuentran estratégicamente ubicados en las organelas celulares en los sitios donde se producen los oxidantes, con la finalidad de reducirlos parcialmente y disminuir o anular su capacidad electrofílica, y de esta manera proporcionar la máxima protección (Hidalgo *et al.*, 2006).

Venereo (2002) describe la transformación de un radical libre débil, cuando el antioxidante colisiona con un radical libre y le cede un electrón. Al interactuar más rápido con los radicales libres que con el resto de las moléculas, impiden que otras

moléculas se unan al oxígeno. Su acción la ejercen en un determinado microambiente que puede ser la membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas vitales o de mayor importancia. Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos (Venereo, 2002).

Las defensas antioxidantes provee protección a las macromoléculas biológicas contra el daño oxidativo, y pueden dividirse en dos mecanismos principales: enzimáticos y no enzimáticos (Ahmad, 1995).

Todos los animales tienen un conjunto de enzimas detoxificantes de los xenobióticos (Casida & Quistad, 2004). La exposición de los organismos a los xenobióticos induce una amplia respuesta transcripcional que regula la expresión genética en la maquinaria de detoxificación de los insectos. Éste énfasis de los insectos en la respuesta de adaptación a los xenobióticos, es el principal impedimento para una protección efectiva en los cultivos debido al desarrollo de resistencia a los insecticidas (Misra *et al.*, 2011).

El mecanismo de defensa antioxidante enzimático mantiene a las EROs en niveles inocuos, transformándolas en H₂O y oxígeno (Rahal *et al.*, 2014). Mientras que, el mecanismo no enzimático actúa, básicamente, secuestrando y removiendo las EROs generadas durante los procesos reductivos o durante las reacciones detrimentales producidas entre el exceso de radicales libres y las macromoléculas celulares (Krishnan & Kodrick, 2012).

1.7.5.1. Mecanismos antioxidantes no enzimáticos

La defensa antioxidante no enzimática, está representada por el glutatión reducido (GSH), el ácido ascórbico o vitamina C, el α -tocoferol o vitamina E, la vitamina A (trans-retinol/ β -caroteno), los carotenoides y los flavonoides. Además, los ácidos fenólicos, ácido α -lipóico, ácido úrico, bilirrubina, algunos azúcares, aminoácidos, la melatonina, coenzima Q o ubiquinona entre otros, desempeñan un rol fundamental

en la reducción de los niveles de EROs que neutralizan y regulan los niveles totales de oxidantes a efectos de mantener la homeostasis fisiológica como respuesta a las condiciones de estrés (Yu, 1994; Mates, 2000; Zabłocka & Janusz, 2008; Birben *et al.*, 2012).

Especialmente en insectos, algunas de estas pequeñas moléculas derivan de plantas de las cuáles se alimentan, mientras que otras pueden ser sintetizadas por su metabolismo (Ahmad, 1995). Es el caso del ácido ascórbico, los insectos no pueden sintetizarlo y su incorporación depende del suplemento de su dieta (Krishnan & Kodrík, 2012). El ascorbato en si mismo puede destruir el peróxido de oxígeno, aún cuando la eliminación enzimática es más eficiente (Mathews *et al.*, 1997).

Los antioxidantes mencionados desempeñan un rol importante en mamíferos. En el caso de insectos, toma relevancia el GSH y otras moléculas solubles como ácido úrico, polialcoholes, etc. (Krishnan & Kodrík, 2012). El GSH es una de las moléculas antioxidantes más abundantes y de bajo peso molecular presentes en la célula. En el proceso de detoxificación, es un reductor eficaz y juega un papel importante en una variedad de procesos, interactuando fácilmente con los radicales libres y oxidantes tales como H_2O_2 , O_2 , $HO\cdot$ y radicales carbono y proporcionando protección a los peróxidos lipídicos (Casida & Quistad, 2004).

1.7.5.2. Mecanismos antioxidantes enzimáticos

Los insectos, al igual que otros animales poseen un pool de enzimas que se dirigen hacia la eliminación de los diversos radicales libres (Figura 7).

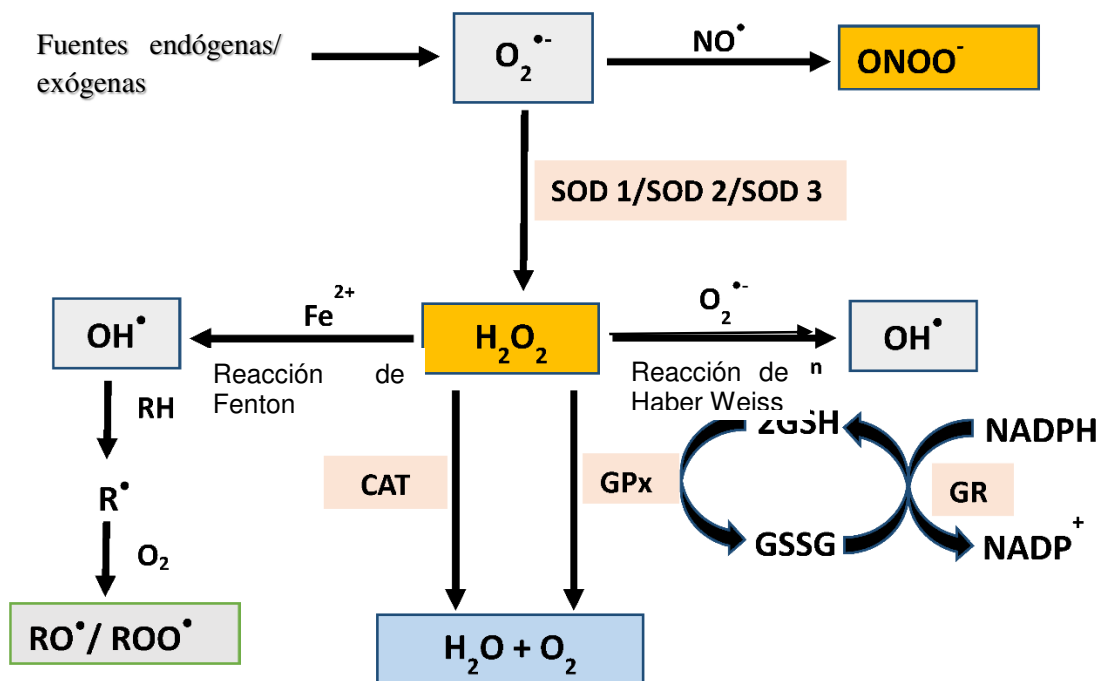
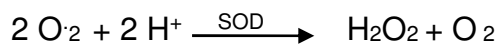
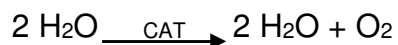


Figura 7: Fuentes y generación de diferentes EROs. Catalasas (CAT), Glutation peroxidasa (GPx), Glutation reductasa (GR), Superóxido dismutasa (SOD), Membrana lipídica (RH), Radical alquilo (R) (Extraído de Olawale *et al.*, 2015).

Los mecanismos enzimáticos con características antioxidantes incluyen a la superóxido dismutasa (SOD), principalmente de dos tipos: la SOD Cu/Zn (localizada en el citosol) y la SOD Mn (localizadas en la mitocondria). Estas enzimas catalizan la siguiente reacción:



La catalasa (CAT) es una enzima hemotetramérica con un centro activo de hemo-hierro, cuya función principal es la de descomponer el peróxido de hidrógeno. Esta enzima se localiza sobre todo en los peroxisomas. El peróxido de hidrogeno es eliminado por las CAT como sigue:



La familia de las enzimas glutatión S-transferaras (GST) están involucradas en los mecanismos de protección contra el estrés oxidativo, a través de la conjugación del GSH con varias moléculas de xenobióticos y compuestos endógenos (Ahmad, 1995; Freitas *et al.*, 2007; Zheng *et al.*, 2011).

En adición a los mecanismos antioxidantes y sistemas descritos, los insectos poseen moléculas solubles en agua (ácido úrico, carbohidratos) y metales unidos a las proteínas (ferritinas y transferrinas) que tienen funciones antioxidantes (Mathews *et al.*, 1997).

Los cambios en las enzimas antioxidantes específicas como SOD, CAT, GST, los niveles de GSH y MDA pueden reflejar indirectamente la presencia de estrés oxidativo, por lo que pueden actuar como biomarcadores de exposición o de efecto (Büyükgüzel, 2009; Sung *et al.*, 2013).

El rol de mecanismos bioquímicos compensatorios asociados al desarrollo de resistencia en insectos está recientemente siendo evaluado. Müller *et al.* (2008) sugieren que la tolerancia a piretroides en *Anopheles arabiensis* estaría también asociada a una mayor expresión de genes con actividad antioxidante como la SOD. Otros autores han inferido que el estrés oxidativo producido por algunos organofosforados contribuiría en su neurotoxicidad (Büyükgüzel, 2006; Büyükgüzel, 2009; Wu *et al.*, 2010). Por otro lado, los efectos deletéreos provocados por el estrés oxidativo podrían observarse tardíamente. Por ejemplo, el estrés oxidativo causado por exposiciones subletales a malatión en *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) tendría efectos sobre la emergencia, la longevidad y la fecundidad de los adultos (Büyükgüzel, 2006).

2. HIPOTESIS DEL TRABAJO

1. Los montes de producción orgánica tienen mayor biodiversidad de artrópodos que los montes de producción convencional.
2. La dispersión por el viento y la susceptibilidad de las variedades de manzana son los factores que inciden en la elección del hospedero del PSJ.
3. La exposición a plaguicidas produce alteraciones en el sistema antioxidante.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos Generales

- Evaluar y comparar la presencia de comunidades de artrópodos en cultivos de manzano bajo diferentes sistemas de manejo; producción orgánica y producción convencional. Evaluar la riqueza específica, la abundancia relativa, la biodiversidad.
- Evaluar la dispersión en los establecimientos frutícolas de *Q. perniciosus*.
- Evaluar la susceptibilidad de PSJ en tres var. de manzanas: *Royal Gala*, *Red Delicious* y *Granny smith*.
- Estudiar la presencia de organismos benéficos sobre el PSJ, con el objeto de brindar alternativas sustentables con el medio ambiente.
- Aportar nuevos conocimientos en cuanto a la bionomía de *Q. perniciosus* en la Región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén.
- Evaluar la existencia de diferencias en los mecanismos de defensa contra el

estrés oxidativo en poblaciones de PSJ colectados en establecimientos de producción convencional y orgánica.

3.2. Objetivos específicos

- Realizar aportes a la biología del PSJ: momento y forma de resistencia invernal, número de generaciones anuales, condiciones para su desarrollo, momento de aparición de cada estado.
- Estudiar la distribución y dispersión de la especie en el monte frutal.
- Estudiar la presencia de organismos benéficos asociados a *Q. perniciosus*.
- Estudiar la biodiversidad de artrópodos, abundancia, riqueza de especies e individuos en los establecimientos de producción convencional y orgánica.
- Estudiar la susceptibilidad de tres variedades de manzanas al ataque de PSJ: *Royal Gala*, *Red Delicious* y *Granny Smith*.
- Estudiar la actividad enzimática de CAT, GST y GSH en las hembras adultas del PSJ en las dos formas de producción.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. Área de Estudio

El presente estudio se ha llevado a cabo desde marzo de 2014 hasta octubre de 2016, acompañando al ciclo biológico de la especie. Los insectos fueron relevados, colectados y monitoreados en predios frutícolas de las localidades de Cinco Saltos, Cipolletti (Río Negro) y Centenario (Neuquén).

Las parcelas muestreadas corresponden a montes frutales de manzanos, de la variedad *Red delicious* de 30 años de edad, con un marco de plantación de 4 x 2 m, conducidos en espaldera con orientación este-oeste, y otras de 4 x 4 m con conducción libre. Las mismas fueron seleccionadas por su elevado nivel de infestación de *Q. perniciosus*. Se utilizaron tres parcelas de producción convencional (Figura 8), una de producción orgánica (Figura 9) y una convencional con MIP (Figura 10).



Figura 8: Establecimiento de producción convencional, en predios frutícolas en Cuatro Esquinas (Cipolletti, RN) (Google Earth, 2016).



Figura 9: Establecimiento de producción orgánica en la localidad de Cinco Saltos (Google Earth, 2016).



Figura 10: Establecimiento de Producción Convencional con MIP en la localidad de Cinco Saltos (Google Earth, 2016).

En la zona del interfilar de los cuadros crece la vegetación espontánea, y alrededor hay plantaciones de salicáceas principalmente de *Populus nigra* L. cv. Itálica, de aproximadamente de 15 a 30 m de altura, utilizada para disminuir los efectos del viento sobre la calidad de la fruta. El riego en estos cuadros es por inundación.

La identificación taxonómica de PSJ ya ha sido desarrollada durante años por diversos autores y fueron ratificadas a partir de las preparaciones microscópicas de hembras adultas obtenidas a campo en la región, empleando la clave de Diaspididae (Gonzalez, 1981; Zamudio & Claps, 2005; Giganti *et al.*, 2007; Dapoto *et al.*, 2011).

4.2. Aportes a la bioecología de *Q. perniciosus* en la región del Alto Valle de Rio Negro y Neuquén

La frecuencia de monitoreo fue semanal durante la temporada estival, y quincenal en la invernal. El muestreo fue dirigido seleccionando las plantas con alto grado de infestación (Figura 11). A partir de un esquema base del plano del predio, se seleccionaron y se marcaron 10 plantas por cuadro en cada establecimiento. Durante todo el estudio se utilizaron las mismas plantas como unidades de muestreo. Actualmente, los métodos de monitoreo utilizados para el control de este díaspido, es evaluar la presencia o ausencia en el monte frutal.



Figura 11: Plantas con alto grado de infestación de PSJ

En cada muestreo se realizó una observación en general, para luego extraer de la parte media inferior del árbol brindillas de 50 cm de longitud y dardos con alto porcentaje de infestación. Las observaciones se efectuaron en las fechas que se indican en el cronograma de la tabla 4.

Tabla 4: Cronograma de monitoreo y muestreo del PSJ.

2014	2015	2016
13/01 y 27/01	12 y 26/01	08/ y 22/1
03, 17 y 24/02	09 y 23/02	05 y 19/02
10, 24 y 31/03	14 y 28/03	15 y 29/03
08 y 22/04	03, 10 y 24/04	16 y 30/04
13 y 27/05	08, 15 y 29/05	2, 23 y 30/05
03 y 17/06	05, 11 y 22/06	13 y 27/06
08 y 29/07	03, 10, 24 y 31/07	05 y 19/07
12 y 26/08	10, 18 y 29/08	01 y 22/08
09 y 23/09	04, 15 y 29/09	
07 y 21/10	02, 09 y 28/10	
11 y 25/11	06, 20 y 27/11	
17/12	07 y 18/12	

Para determinar la dinámica poblacional del *Q. perniciosus*, o la variación de la densidad poblacional a lo largo del tiempo, se observaron las variaciones de la población en brindillas de 50 cm de longitud que se marcaron para este fin (Figura 12).

Para precisar el momento de los nacimientos (ninfas móviles), se colocó cinta bifaz en las ramas afectadas. Se pudo observar y distinguir las formas del 1° estadio (ninfa móvil, “gorrita blanca” y gorrita negra), el 2° estadio y la hembra adulta con lupa de mano 20X en el campo y con lupa binocular Olympus de 40- 80X en el laboratorio. En la población de machos se muestrearon los estadios de ninfas, prepupa, pseudopupa y adultos, y sus diferencias con las hembras por las formas de los escudos. Los machos adultos se monitorearon desde septiembre hasta mayo, utilizando trampas de feromonas (Trécé), colocadas en el centro de la parcela con una separación de 25 m y a 1,8 m de altura. Semanalmente, se contabilizaron los machos capturados sobre la superficie engomada de las trampas. Los datos de capturas se pueden ver en el ANEXO I.



Figura 12: Marcado de ramas afectadas con PSJ para el seguimiento de la biología.

Para determinar la forma de resistencia invernal, se realizarón los muestreos en forma dirigida donde había infestación visible. En cada muestra se levantó el escudo, se determinó el estado de desarrollo y su condición de vivo/muerto, y luego se evaluaron los porcentajes dominantes para cada estado en las fechas de la tabla 5.

Tabla 5.: Cronograma de monitoreos invernales

Año Mes	2014	2015	2016
Mayo	13, 27	08, 15, 29	02, 23, 30
Junio	03, 17	05, 11, 22	13, 27
Julio	08, 29	03, 10, 24, 31	05, 19
Agosto	12, 26	10, 18, 29	01, 22

4.3. Análisis de la biodiversidad de artrópodos en dos sistemas de manejo de producción de manzanas: convencional y orgánico.

Para medir la biodiversidad de los artrópodos, se realizó el conteo de las especies presentes en los sitios de muestreo, sin tener en cuenta la importancia biológica o económica de las mismas.

4.3.1. Diseño experimental

El método de muestreo utilizado fue con observaciones directas con lupas de mano de 20X, y extrayendo muestras aleatorias de brindillas de 25 cm de longitud con crecimiento de menos de un año. Estos recuentos visuales directos no son métodos efectivos cuando son usados de manera única para censar las poblaciones de artrópodos presentes en las unidades de muestreo.

Se probó la variación de la biodiversidad de artrópodos en dos formas de producción de manzano de la variedad *Red Delicious* con manejo convencional y orgánico. En el manejo de producción convencional, se realizó el control de plagas con productos registrados y con monitoreo de plagas. En las parcelas de producción orgánica, el control de plagas se realizó a través de usos de macerados de plantas del lugar, aceites minerales, polisulfuro de calcio y productos registrados para producción orgánica.

En cada parcela se seleccionaron 10 plantas al azar, con conducción libre. Los sitios de muestreo se encontraban a una distancia aproximada de 10 km entre sí. Los ensayos se efectuaron durante las cuatro estaciones del año, en los años 2015 y 2016. La metodología se eligió por la rapidez y sencillez, los diagnósticos son certeros y además fue elegida por su bajo costo.

Una planta constituyó la unidad de muestreo. Para la colecta de los artrópodos se colocaron a 1,5 m de altura, 3 embudos/ planta, de tela de lienzo, de un metro de diámetro y que terminaba en la parte más angosta en un frasco plástico o de polietileno con alcohol 70°.

La plantas fueron pulverizadas con soluciones del insecticida fosforado, 0.0 dimetil-2.2-diclorovinil fosfato o diclorvos (DDVP), con gran poder de volteo, utilizando una pulverizadora de fabricación casera, con manguera a una presión de 200 lbs. La preparación y el volumen de aplicación fueron calculados de acuerdo a las indicaciones del marbete, cuyas dosis utilizadas fueron de 5 L de solución por planta (Figura 13).



Figura 13: Colocación de embudos y aplicaciones a campo de DDVP.

Se extrajeron e identificaron los frascos 48 horas después, y los ejemplares se llevaron al laboratorio para el recuento e identificación taxonómica con lupas de 40X y 80X. Aquellas muestras no identificadas o dudosas, fueron enviadas a especialistas para su determinación (Figura 14).



Figura 14: Observación y determinación taxonómica del material en el gabinete

Para cada sitio muestreado se obtuvo el número total de individuos colectados, la abundancia relativa⁵ de cada especie, la riqueza de especies⁶, la biodiversidad⁷ y equitatividad⁸ de cada comunidad.

Otros métodos de muestreo de plagas y de depredadores se realizaron a través de la observación de madera, follaje y frutos (Baggiolini *et al.*, 1990). También se revisó el sustrato herbáceo a lo largo de cuatro transectas de aproximadamente 100 m, cada una delimitadas al azar. Esta metodología es adecuada para proveer muestras representativas de las comunidades de artrópodos que están presentes en la

⁵ Abundancia relativa: proporción de individuos de una especie en relación al total de individuos colectados en cada sitio

⁶ Riqueza específica: número de especies en una comunidad.

⁷ Biodiversidad: propiedad de las comunidades biológicas, que tiene dos componentes la riqueza y la equitatividad.

⁸ Equitatividad: distribución de los individuos.

maleza (Altieri, 1994).

4.3.2. Análisis de datos

Los artrópodos colectados fueron identificados hasta el nivel de especie, en los casos en que no se pudo llegar a su identificación se colocó solo el género.

Los especímenes se depositaron en la colección de la cátedra de Zoología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Comahue.

Para la comparación de la biodiversidad de artrópodos se confeccionó una lista con el número de especies y su clasificación taxonómica presentes para cada sitio. Se estimaron los atributos ecológicos para cada comunidad, estableciendo la riqueza específica, abundancia relativa y biodiversidad a través de los índices de Shannon-Weaver, Margalef, Menhinick, Simpson y el Coeficiente de Sorensen para medir las similitudes entre las dos parcelas de muestreo (convencional y orgánica), métodos que se ajustaron en el momento de la medición (Altieri, 1994; Folk *et al.*, 2003)

Para la comparación de los índices de las comunidades con distinto manejos, los datos fueron analizados mediante análisis multivariado (ACM) y análisis de correspondencia múltiple del programa Infostat 2016. Para la comparación de los índices y atributos de los establecimientos de producción convencional y orgánica, se realizó una prueba t para muestras independientes.

Estos métodos estadísticos, permiten ilustrar las asociaciones entre las especies y los sitios de muestreo. El análisis de los datos de biodiversidad se pueden ver en el ANEXO II.

4.4. Evaluación de la distribución espacial, dispersión y susceptibilidad de variedades de manzanas a *Q. perniciosus*

Para este estudio, los muestreos se realizaron desde el mes de octubre hasta marzo. Se realizó un censo de la abundancia de PSJ en 611 plantas de las siguientes variedades: *Red Delicious*, *Granny Smith* y *Royal Gala* con conducción libre en el establecimiento de producción convencional, y en 835 plantas de los cuadros de producción orgánica, sobre la variedad *Crispp Pink* con conducción en espaldera. En los cuadros muestreados se había detectado previamente la presencia de *Q. perniciosus*.

No cabe duda que los factores ecológicos juegan un rol importante en el comportamiento de un fitófago en la selección de la planta hospedante. En el caso de *Q. perniciosus*, el análisis de la distribución espacial en relación con las diferentes direcciones cardinales, puede ayudarnos a estimar el grado de ataque en la copa del árbol. En este sentido, se ha realizado un estudio consistente en valorar la abundancia del PSJ (ind/cm²) en las brindillas atacadas respecto de las orientaciones, con la intención de determinar el tipo de distribución que adopta este insecto en el árbol, y si está relacionada con la dirección del viento, con la variedad, o por ambos.

4.4.1. Diseño experimental

Para determinar si la dispersión del PSJ es por efecto de la dirección del viento, se procedió a registrar la velocidad y dirección a través de una veleta colocada en los centro de los cuadro. El registro se realizó cada tres horas, en el período de dispersión de la plaga (25 de octubre al 15 de diciembre, 15 al 30 de enero y a partir de 01 al 20 de marzo).

Sé procedió a dividir los planos de la copa del árbol en ocho secciones siguiendo las diferentes orientaciones: N, NE, E, SE, S, SO, O y NO, procedimiento similar al utilizado por diversos autores (Debouzie, 1984; Del planque *et al.*, 1986). En cada

plano se extrajeron 5 brindillas y se determinó la abundancia promedio. Para este análisis se puede ver el ANEXO III.

Se evaluó también, a partir del movimiento de la plaga en el cuadro, la susceptibilidad del PSJ a ciertas variedades de manzanas. Este estudio, en el inicio se realizó en plantas de macetas bajo condiciones controladas, sin tener éxito con el objetivo planteado.

En el estudio de la susceptibilidad del PSJ a ciertas variedades de manzanas, se realizó seleccionando parcelas de *Royal Gala*, *Red Delicious* y *Granny Smith*, de 60 plantas aproximadamente cada uno. Se determinó la presencia y abundancia de PSJ durante el periodo posterior a la migración de la especie en cada generación. También, el número de planos afectados, el grado de afectación de la plaga en el cuadro, observando cada una de las plantas y el crecimiento del año (brindillas) y frutos. Se extrajeron 150 brindillas por variedad estudiada, de 50 cm de longitud aproximadamente y se procedió a contabilizar el número de individuos por cm² (Figura 15). Para este estudio se pueden ver los datos en el ANEXO IV.

Las plantas que no mostraron evidencias de ataque de PSJ fueron colocadas en el mapa con su descripción de 0%, mientras que las que estaban afectadas se marcaron con cinta y se les asignó un rango porcentual del grado de afectación de la cantidad de ramas con presencia de PSJ.



Figura 15: Estudio de susceptibilidad de variedades. A) Marcado de plantas y registro de planos afectados; B) medición de abundancia de PSJ.

Localización del PSJ en el fruto

Igual procedimiento se uso para medir la distribución del PSJ en el fruto se tomaron 500 frutos de la variedad *Red Delicious*, en distintos periodos de crecimiento, y se determinó la abundancia en termino de N° de individuos presentes por cm^2 en la zona calicinal, ecuatorial y peduncular (Figura 16). Los datos de este estudio se pueden ver en el ANEXO V.

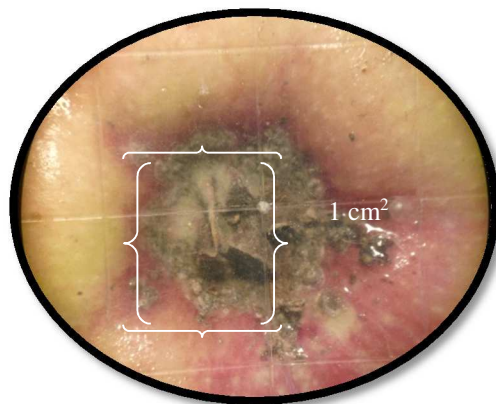


Figura 16: Conteo de PSJ por cm^2 de fruto

Los establecimientos monitoreados fueron fotografiados con el dron eBee AG, de la empresa Sensefly de origen suizo, para realizar el patrón de dispersión del insecto. El vuelo se programó en gabinete con el software eMotion - versión 2.4.11, a una altura de 120 m, con una trayectoria en zig- zag (Figura 17). La precisión de los vuelos fue de 4,5 cm/pixel. Es decir que si la distancia entre dos plantas es de 2 m arrojaría una medición de 2 m más/menos 4,5 cm. El posterior procesamiento de la información obtenida a campo se realizó con el software Postflight Terra 3D (Figura 18).



Figura 17: Programación del recorrido del dron, momentos previos al vuelo.

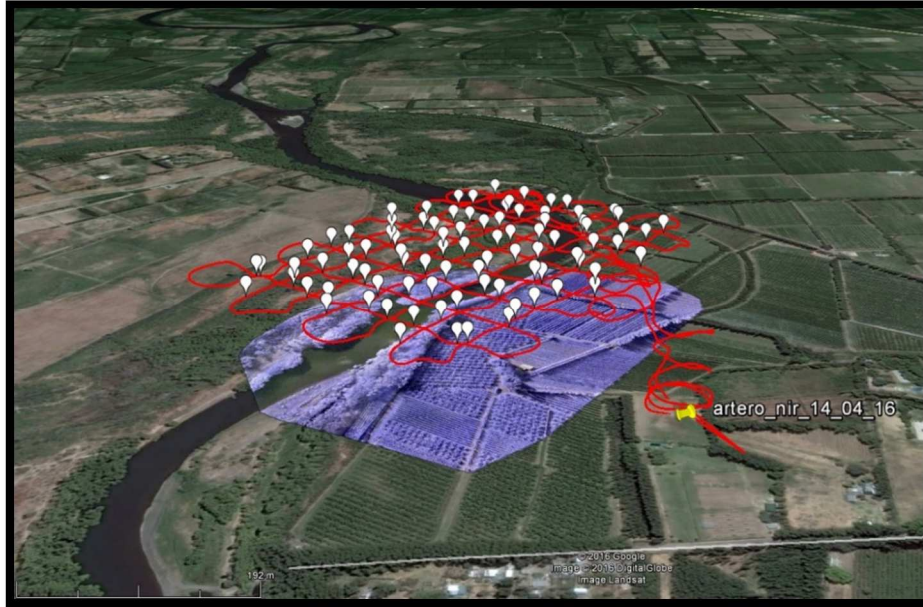


Figura 18: Trayectoria del dron y de las tomas fotográficas.

La ortofotografía y el reporte de vuelo se realizaron con una cámara NIR (Near Infra Red). Es decir, una cámara RGB común, con el canal azul con filtro para NIR, dando lugar a Red-Green-NIR. En la imagen obtenida con la cámara NIR, se cargó cada planta relevada con la cantidad de planos afectados por PSJ, con el software denominado QGis, surgiendo como resultado el mapa de colores zonificado con rango de porcentaje de presencia del PSJ.

4.4.2. Análisis de datos

Para determinar la dirección del viento en las parcelas, se realizó una tabla de frecuencias para observar el viento predominante durante el período de dispersión de la plaga (25 de octubre al 20 de diciembre, 01 de enero al 05 de febrero y 20 de febrero al 20 de abril).

Para determinar si hubo efecto del viento en la dispersión del PSJ y el grado de susceptibilidad de tres variedades de manzanas al ataque de esta especie, se realizó un análisis de varianzas y luego, comparación de medias con el test LSD Fisher a un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$ (Infostat, 2016).

Previamente se probaron los supuestos de homocedasticidad con el test de Levene (ANOVA con residuales absolutos) y la normalidad con Shapiro Wilks con residuales, para un $p > 0,05$.

4.5. Determinación de las actividades enzimáticas

4.5.1. Material biológico y preparación de homogenados

Para los ensayos bioquímicos se extrajeron muestras de brindillas con presencia de PSJ, provenientes de un establecimiento orgánico con aplicaciones de productos registrados para este tipo de producción y, de un monte frutal del tipo convencional, en el cuál las aplicaciones de agroquímicos se realizan a través de umbrales de daños económicos establecidos a través de monitoreos de plagas.

Las muestras fueron llevadas al laboratorio, en cada una de las generaciones del PSJ, se registraron los diferentes estadíos y se separaron 500 hembras adultas en tubos eppendorf bajo el microscopio estereoscópico. Posteriormente, se mantuvieron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de las determinaciones enzimáticas.

Los homogenados fueron preparados siempre sobre hielo, a partir de 500 hembras adultas en 1ml de buffer fosfato de potasio 143 mM + EDTA 6,3 mM, a pH 7,4 usando un homogenizador eléctrico PRO 200. Posteriormente, los homogenados fueron centrifugados a 1.000 g durante 10 minutos a 4°C para la determinación de GSH. El sobrenadante restante de cada muestra fue centrifugado a 16000 g durante 15 minutos para la determinación de la actividad de GST, catalasa y cuantificación de proteínas (Figura 19).



Figura 19: Medición de actividades enzimáticas

4.5.2. Determinación de tioles totales (GSH)

El contenido de GSH se determinó mediante el método de Ellman (Ellman 1959). El reactivo de Ellman, ácido 5,5'-ditiobis-2nitrobenzoico (DTNB), permite cuantificar los grupos sulfhidrilos libres en solución, ya que al entrar en contacto con estos produce un producto de color amarillo como resultado de su interacción.

Para las determinaciones de GSH se mezclaron alícuotas de 150 μ l del sobrenadante con 150 μ l de tricloro acético 5% y se centrifugaron a 10,000 g durante 10 min a 4 °C. A 100 μ l de ésta mezcla se le adicionó 1 ml del reactivo de Ellman y luego de 5 minutos a temperatura ambiente se midieron las absorbancias a 412 nm en un espectro UV/visible. El GSH fue cuantificado a partir de una curva estándar (1- 8 nmol).

4.5.3. Actividad de GST

La actividad de la GST fue determinada midiendo el conjugado de GSH con el 1-cloro-2,4 dinitrobenzenceno (CDNB) por métodos colorimétricos (Habig *et al.*, 1974; Habig y Jakoby, 1981). La mezcla de reacción, en un volumen final de 1 ml, consistió en buffer fosfato 0,1 M, pH 6,5, 150 μ l de GSH y 30 μ l de CDNB; con concentraciones finales de 2,5 y 0,5 mM, respectivamente. Luego de registrar la línea de base con los reactivos antes mencionados, se adicionaron 20 μ l de la fuente de enzima. Los cambios en la absorbancia fueron medidos a 340 nm durante 2 minutos. En todos los casos, cada determinación fue realizada al menos por triplicado. La actividad fue expresada como μ moles de CDNB conjugado min^{-1} mg proteína $^{-1}$ utilizando el coeficiente de extinción molar 9,6 mM cm^{-1} .

4.5.4. Actividad de catalasa

La actividad de CAT se determinó de acuerdo a la técnica de Beers y Sizer (Beers and Sizer, 1952) registrando la descomposición del H_2O_2 a 240 nm como un indicador de la actividad de la enzima. La CAT actúa como agente catalizador en la descomposición del H_2O_2 en agua y oxígeno. Esto tiene lugar en una reacción redox que se lleva a cabo en dos pasos en la cual la catalasa utiliza una molécula de H_2O_2 como sustrato donador de electrones y otra molécula de H_2O_2 como oxidante o aceptor de electrones. Previo a la determinación enzimática, se prepararon 30 mL del buffer de reacción (fosfato de sodio 50 mM a pH 7,0 y 100 μ L de H_2O_2 de 100 volúmenes 8,9 M) y se constató que este buffer tuviera una absorbancia inicial de 1,0. La reacción se llevó a cabo en 2,99 mL del buffer de reacción y 20 μ L de la fuente de enzima. La absorbancia fue registrada durante 2 minutos. La lectura se realizó de inmediato, ya que la reacción de descomposición del H_2O_2 es muy rápida. La actividad de CAT fue expresada como actividad específica en μ moles min^{-1} mg de proteína $^{-1}$, utilizando el coeficiente de extinción molar de 40 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$. En cada uno de las mediciones se procedió a lavar cuidadosamente la cubeta luego de tres determinaciones para evitar el desprendimiento espontáneo de O_2 .

4.5.5. Dosaje de proteínas

La concentración de proteínas totales se determinó por duplicado mediante el método de Lowry (Lowry *et al.*, 1951). Se utilizó albúmina bovina como estándar y los cambios de absorbancia fueron medidos a 750 nm.

4.5.6. Análisis de datos

Sé probaron los supuestos de homocedasticidad con el test de Levene (ANOVA con residuales absolutos) y la normalidad con Shapiro Wilks con residuales, para un $p > 0,05$. Los resultados fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANOVA) y de comparación de medias con el test a posteriori de LSD Fisher (para comparación de pocas muestras) para el contenido de GSH y la actividad de GST y CAT en los dos sistemas de manejo, con un nivel de significancia $p < 0,05$, usando Infostat versión 2016. Los datos de este análisis se pueden ver en el ANEXO VI.

5. RESULTADOS

Se realizaron tres años de monitoreos, con una frecuencia quincenal en varios establecimientos de las localidades de Cinco saltos, Cipolletti (RN) y Centenario (NQN). El presente estudio tuvo la finalidad de realizar aportes al comportamiento de la especie en la región y métodos de detección temprana de ingreso del PSJ al establecimiento, a partir de monitoreo sencillos, económicos y rápidos que permitan determinar el modo y el momento oportuno de control.

5.1. Aportes a la biología del *Q. perniciosus*

El PSJ en la región posee 3 generaciones al año, de las cuales dos son completas y la tercera es la que invernará y comenzará el ciclo en la temporada siguiente. En la Figura 20 se muestran fotografías de diferentes estadios y fases del PSJ obtenidas durante los monitoreos realizados.

La forma de resistencia invernal en la región está compuesta por varios estados y estadios, pero marcado por una dominancia de la tercera fase del primer estadio ninfal, denominado “gorrita negra”. La misma se encontraba adherida a ramas, dardos y troncos del árbol (Figura 21). En esta figura se puede observar la magnitud de la prevalencia de la tercera fase del primer estadio ninfal en el invierno, pero también del cambio a partir de agosto hacia otras formas activas de la temporada, que dan indicios que los umbrales térmicos de desarrollo de la especie están alrededor de los 10°C en la región.

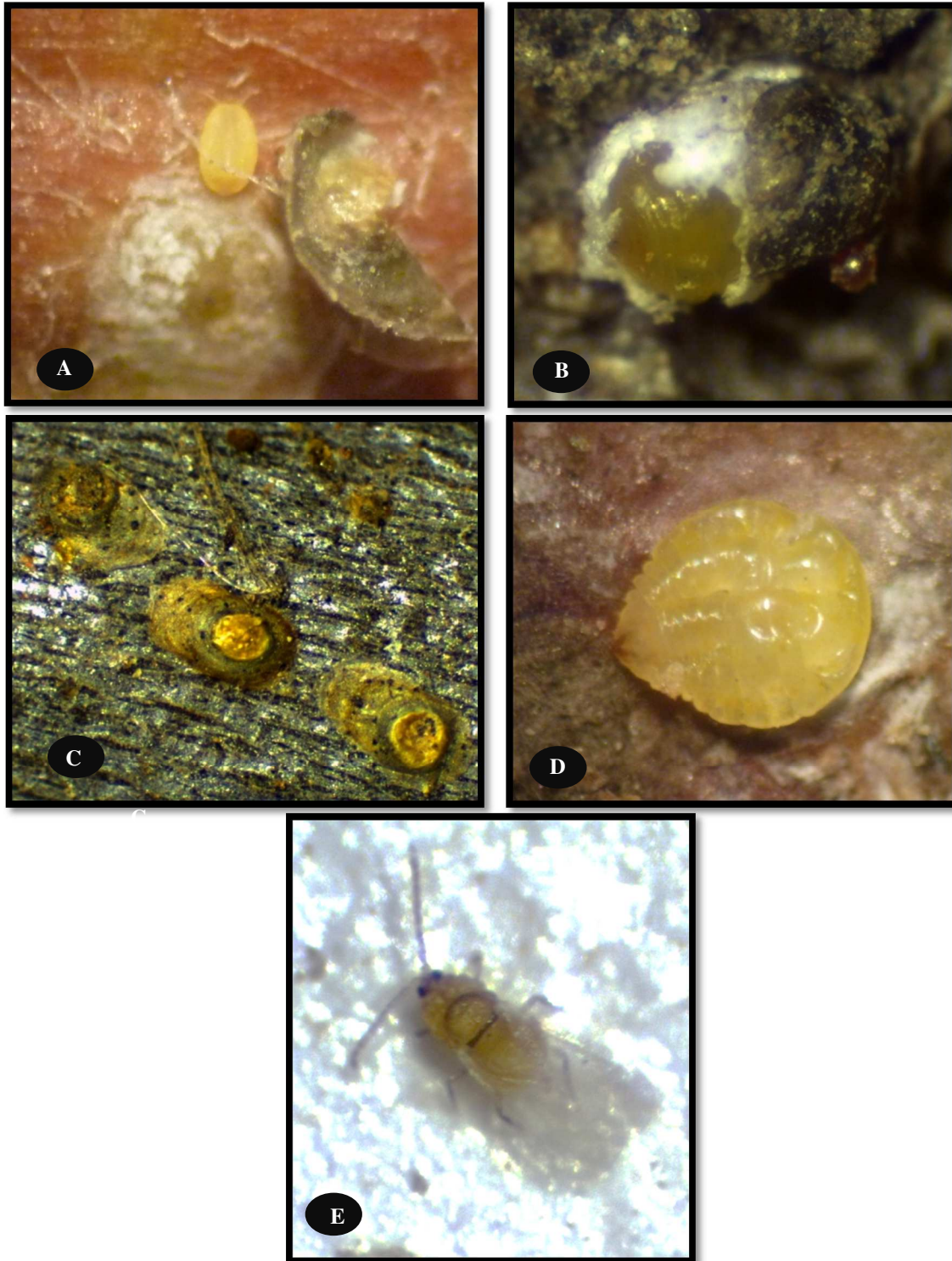


Figura 20: Estadíos y estados de *Quadraspidiotus perniciosus*. A) Ninfa migratoria de primer estadio; B) Ninfa de primer estadio "gorrita blanca"; C) Ninfa de segundo estadio de un macho; D) Hembra adulta; E) Macho adulto en la trampa de feromonas.

El avance en el desarrollo biológico de la especie, muestra como el estadio de resistencia invernal va pasando a otros estados y fases. A comienzos del mes de septiembre se encuentra un gran porcentaje de ninfas de segundo estadio de la hembra, ninfa de segundo de macho, o como pupa de macho. Mientras que a fines de septiembre, el mayor porcentaje es de hembras adultas y machos adultos voladores.

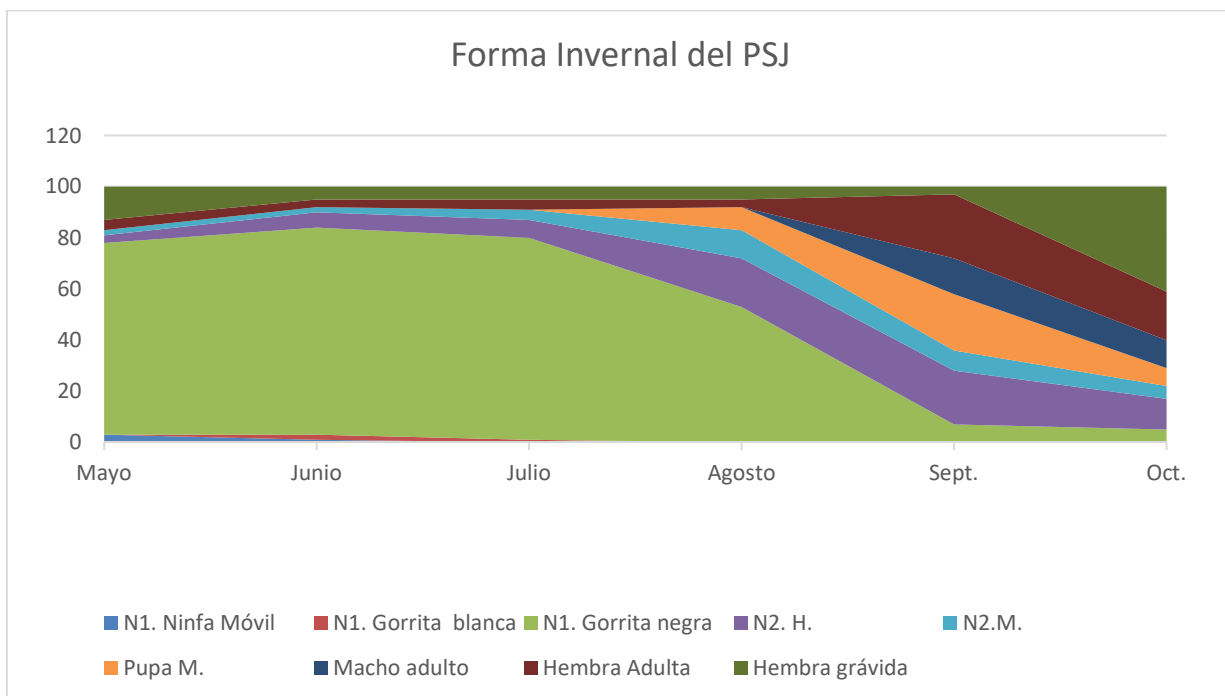


Figura 21: Porcentaje de la población de PSJ que predomina en la temporada invernal.

A partir de los datos de las trampas para macho de PSJ, colocadas a partir del 01 de agosto, se observó que las capturas en algunos puntos de monitoreo fueron poco sensibles a la detección de la especie.

Los registros de los vuelos del macho adulto del PSJ ocurrieron durante el atardecer y se concentraron en pocos días (Figura 22). Los registros correspondieron a las trampas de feromonas colocadas en las tres estaciones distribuidas en Cinco Saltos (RN) durante los tres años monitoreados. Las capturas sostenidas correspondientes al primer vuelo del macho del PSJ, durante los tres años de monitoreo, fue entre el

21 de septiembre y 05 de octubre. El pico del segundo vuelo se determinó entre el 22 de diciembre y el 03 de enero, y el rango correspondiente al tercer vuelo de machos fue entre los días 25 de febrero y 07 de marzo.

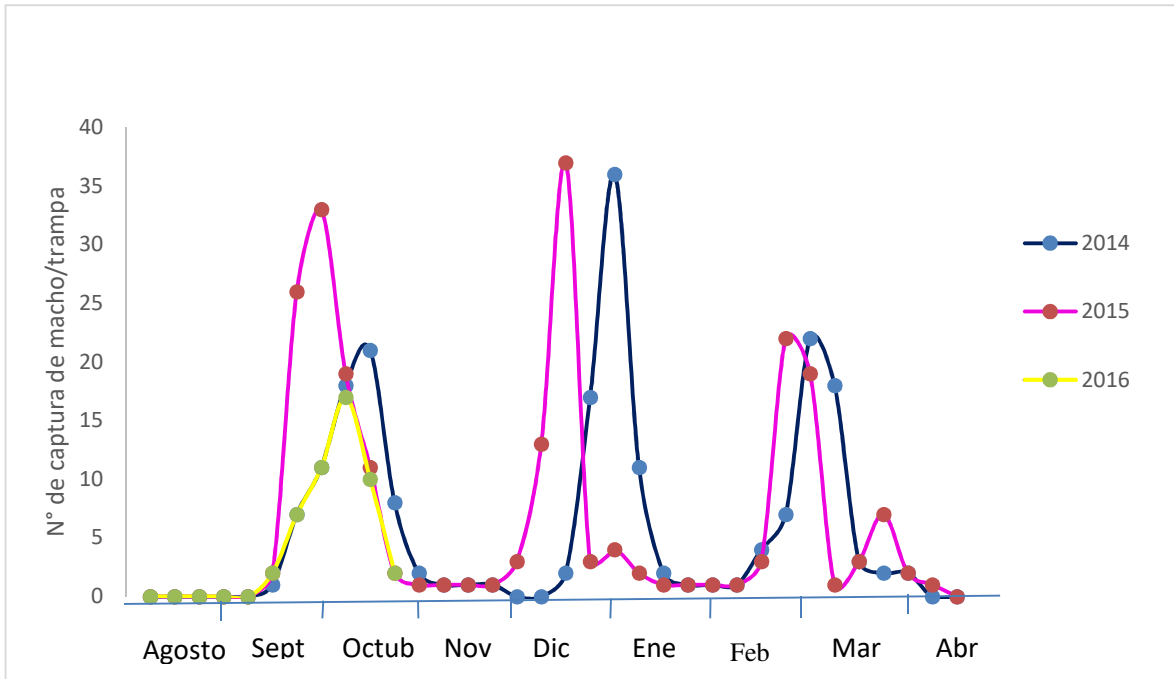


Figura 22: Curva de vuelos de machos del PSJ durante las temporadas 2014-15 y 2015-16 en la localidad de Cinco Saltos (RN).

Con respecto al periodo comprendido entre el pico del vuelo del macho y el inicio de la migración de las ninfas fue de 30 a 40 días en la primera generación y de 20 a 30 días en las generaciones posteriores.

Las hembras paren ninfas móviles, que dieron lugar a los nacimientos de la 1ª generación a partir de los últimos días de octubre y principios de noviembre, prolongándose hasta el 15 de diciembre. La 2ª generación se inició a mediados de enero hasta los primeros días de febrero, período en que daña los frutos y es el momento de cosecha de numerosas variedades por lo que se dificulta su control. Los nacimientos de la 3ª generación fueron registrados a partir de mediados de marzo y principios de abril.

5.2. Dispersión, distribución espacial y susceptibilidad de variedades de manzanas a *Q. perniciosus* en el monte frutal

En los cuadros de las variedades analizadas, los registros diarios de la dirección del viento en el periodo de dispersión de la plaga mostraron una mayor frecuencia de viento con dirección SO (Figura 23).

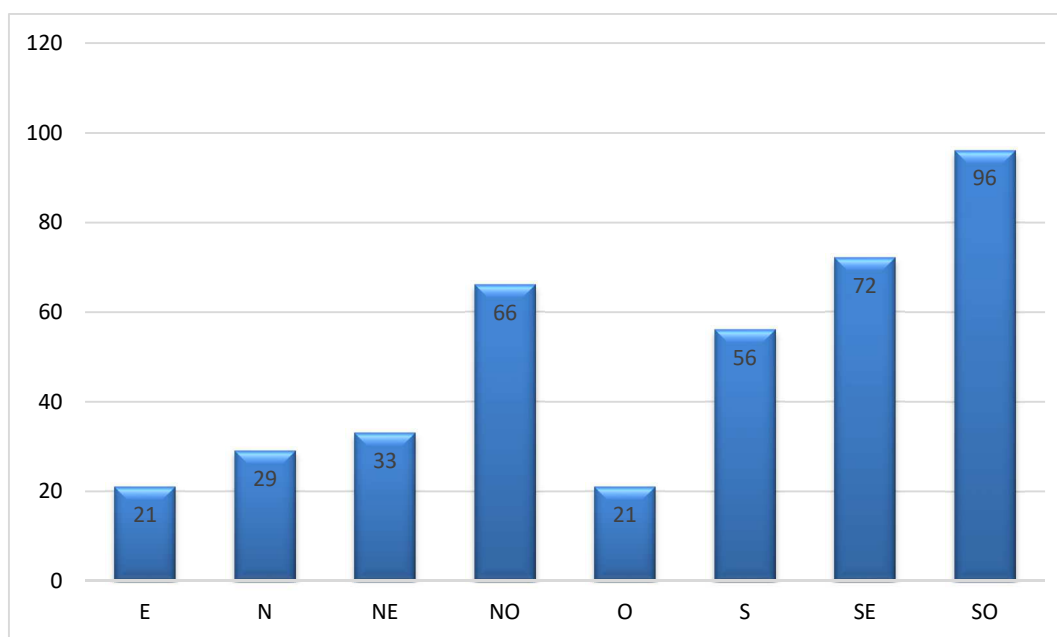


Figura 23: Frecuencias de la dirección del viento en el período de dispersión de la plaga.

Con respecto a la dispersión de la especie, se buscó coincidencia entre los planos afectados y la predominancia del viento del cuadro (Figura 24). En la variedad *Granny Smith* (N = 119) la mayor abundancia de individuos de PSJ/cm² se registró en el plano SO y S, observándose el efecto de la dirección del viento respecto a los planos afectados ($p = 0,003$). En la variedad *Red Delicious* (N = 143), el plano de mayor abundancia de PSJ se registró en los planos con orientación SO-NE ($p = 0,045$), por lo que hubo efecto del viento en la dispersión de la especie. Por el contrario, en la variedad *Royal Gala* (N = 133) no existieron diferencias significativas entre la abundancia de PSJ en los planos con respecto a la orientación ($p = 0,48$) (ANEXO 1).

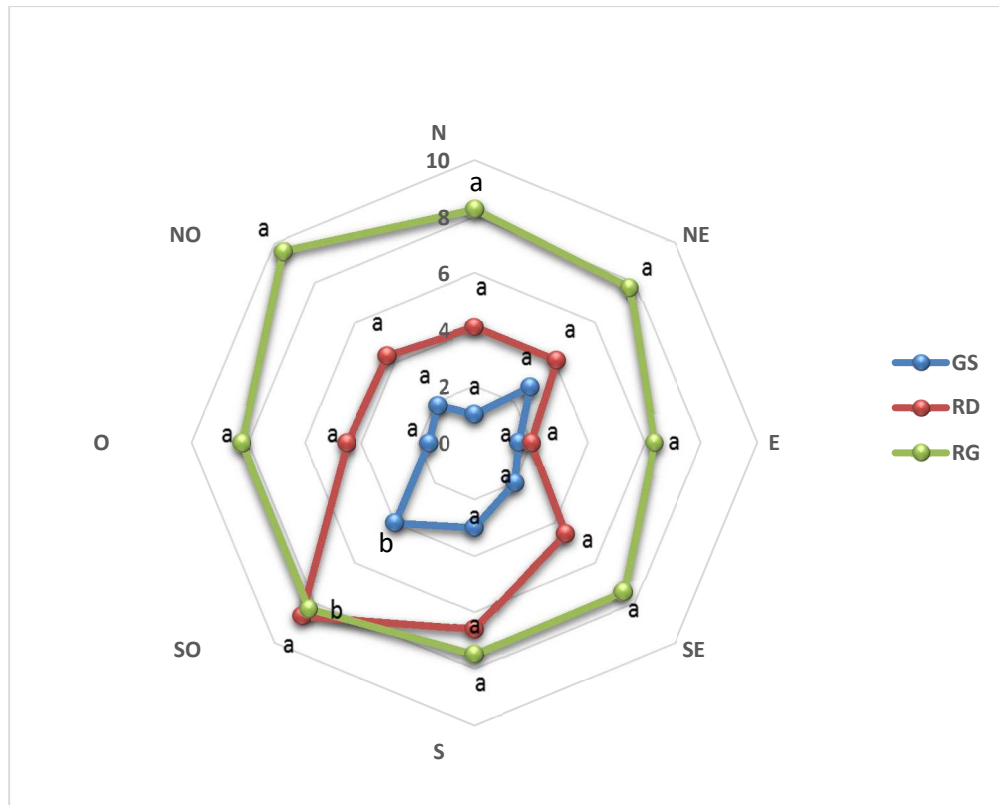


Figura 24: Distribución del PSJ según la orientación de los planos y variedad. Medias con una letra en común en una misma variedad indican que no hay diferencias significativas ($p > 0,05$) (Infostat 2016).

Se registró la disposición de las tres variedades estudiadas: *Royal Gala*, *Granny Smith* y *Red Delicious*, con las fotografías arrojadas por el dron (Figura 25).

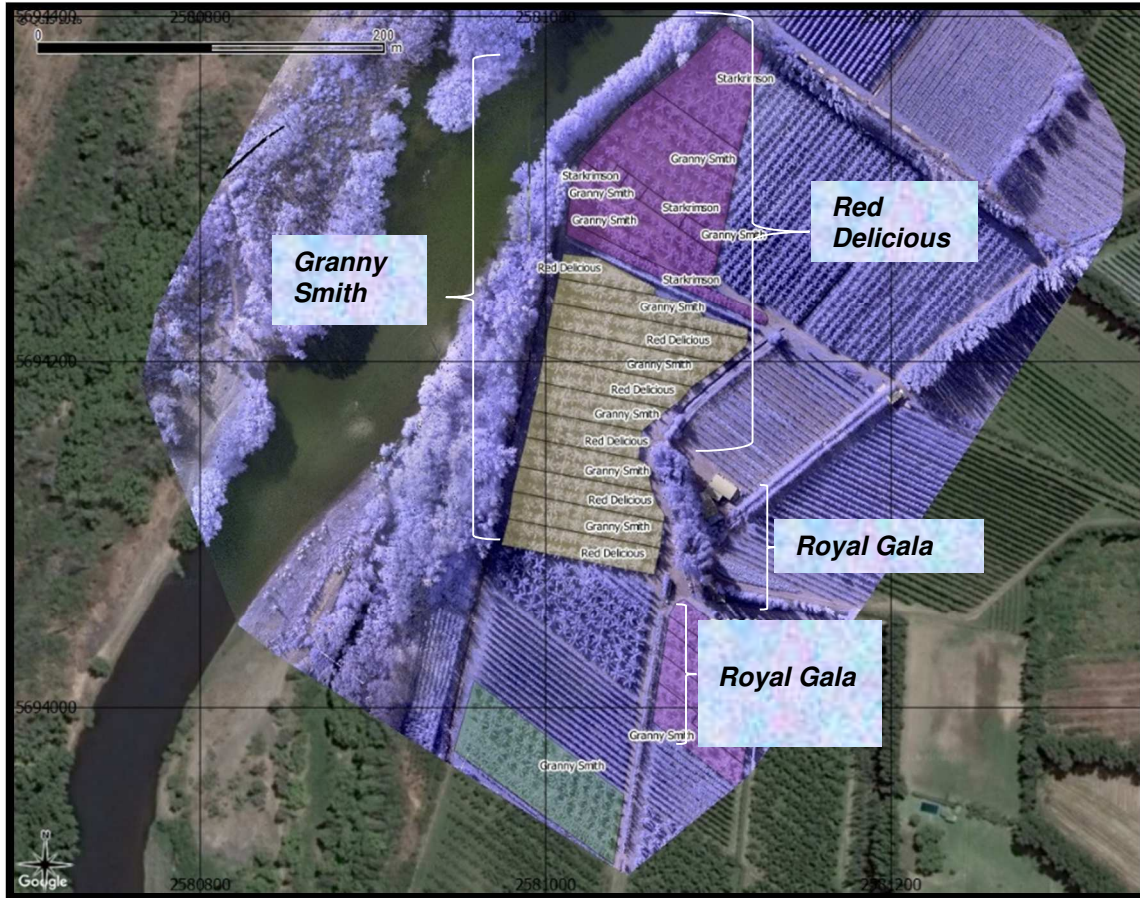


Figura 25: Distribución de las variedades en el establecimiento

En el presente estudio se determinaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el grado de abundancia de PSJ entre las variedades estudiadas. La variedad *Royal Gala* presentó el mayor porcentaje de infestación con un promedio de 7,88 individuos de PSJ/cm². La variedad *Red Delicious* mostró una mediana susceptibilidad al ataque del PSJ, con una media de 5,52 PSJ/cm². Por último, el menor grado de susceptibilidad al ataque de la especie correspondió a la variedad *Granny Smith*, con un promedio de 2,22 individuos de PSJ/cm².

El patrón de distribución del PSJ en el monte frutal, realizada con la trayectoria del dron y el marcado de las plantas con y sin infestación se muestra en la Figura 26. Se observó que a partir de los focos de mayor infestación (rojo), la distribución fue uniforme alrededor de las plantas afectadas, sin marcar ninguna tendencia en

“mangas” con orientación SO. La dirección del viento, está involucrada en la dispersión de la especie, pero los gráficos sugieren que pueden existir otros factores involucrados en la dispersión. Se puede observar que la disposición del PSJ toma zonas preferenciales cercanas a *Red Delicious*, y en menor medida en la variedad *Granny Smith*.

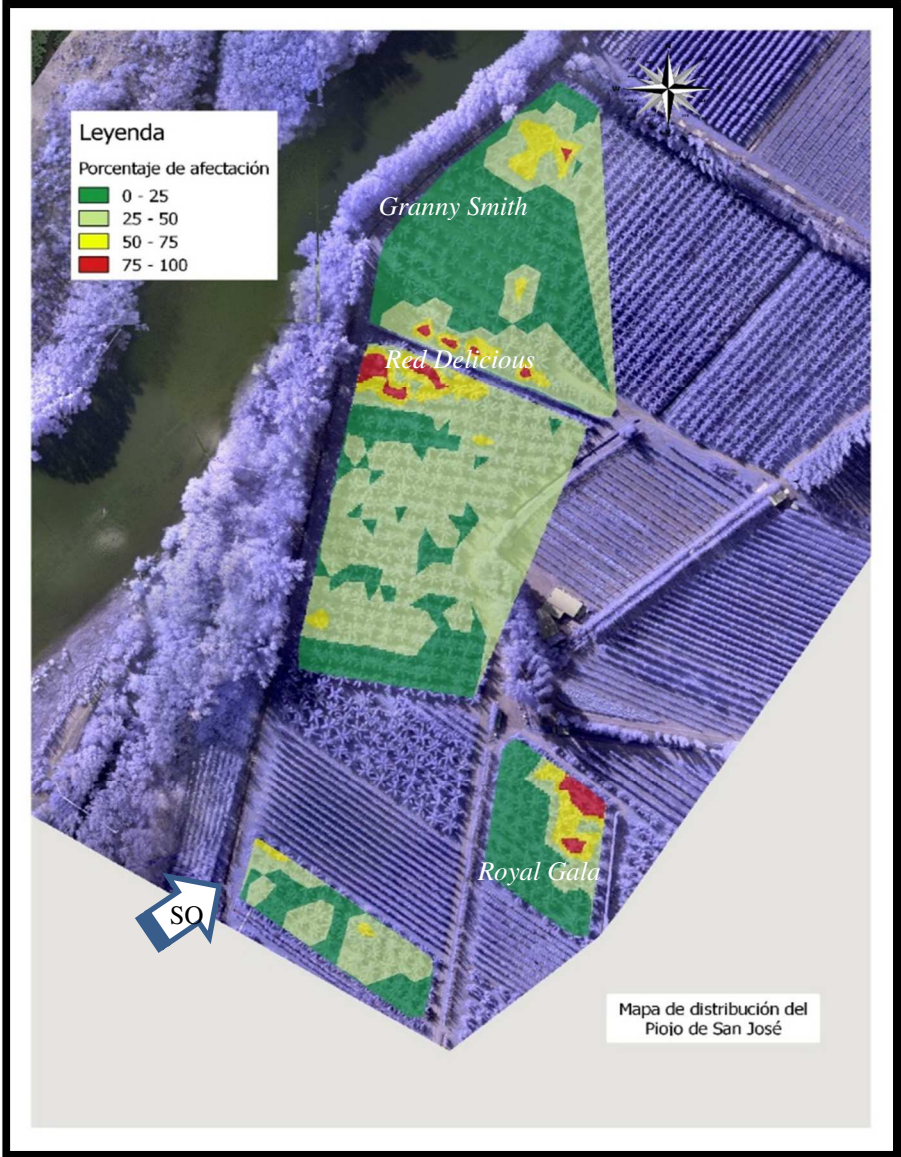


Figura 26: Patrón de distribución y porcentajes de afectación del PSJ en el establecimiento (verde: hasta 25%; amarillo: 50-75%; rojo: 75-100%).

La migración del PSJ hacia otros hospederos es a través de los estadios móviles que corresponden en esta especie a las ninfas del primer estadio y los machos adultos voladores. El resto de los estadios y estados son sésiles, por lo que manifiestan un comportamiento de distribución agregada, que se relaciona de manera inversa con la movilidad.

La distribución podría verse influida por los niveles de infestación de la plaga, dando lugar a los focos de infestación (Figura 27).

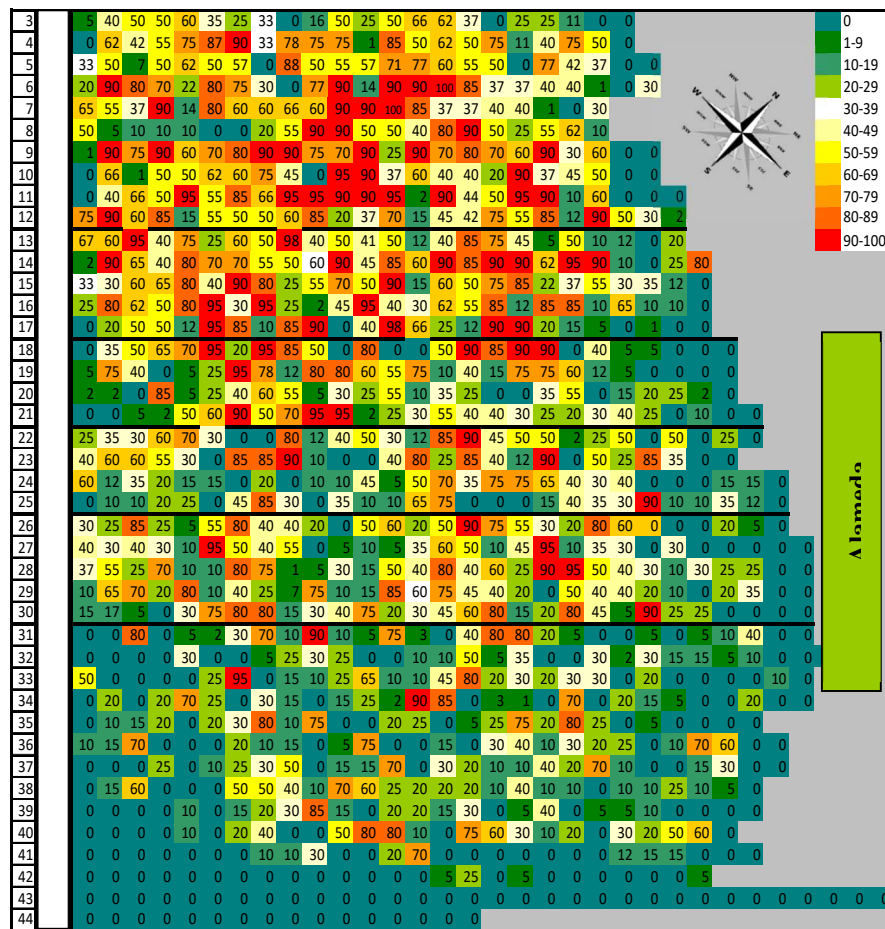


Figura 27: Censo de plantas con la distribución porcentual del PSJ.

5.3 Distribución del PSJ en el fruto

En las distintas etapas de crecimiento del fruto, la distribución del PSJ mostró diferencias significativas respecto a su ubicación ($p = 0,012$). La especie tiene una singular preferencia por la zona calicinal, luego peduncular, y posteriormente en ataques severos se localizan en la zona ecuatorial del fruto (Figura 28).

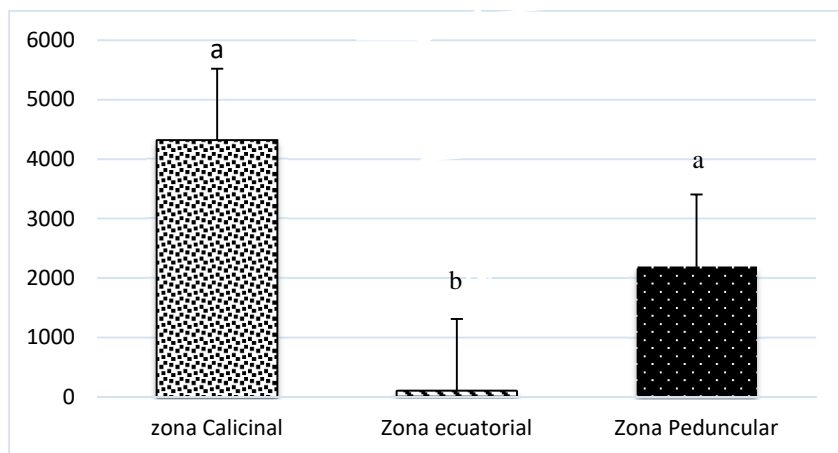


Figura 28: Distribución del PSJ en el fruto (N° ind/cm²). Las barras representan el error estándar del promedio. Letras distintas indican diferencias significativas entre poblaciones, $p < 0,05$.

Si hay frutos juntos, en la unión de ellos se concentran la población de PSJ en todos sus estadios (Figura 29).



Figura 29: Daño de PSJ en fruto

5.4. Daños

Los daños en madera producidos por el PSJ pueden ser muy serios dejando metaplasia generalizada en la región subcortical, debido a su gran poder de succión y a la fitotoxicidad de su saliva (Figura 30). Este tipo de daño también se observó en los frutos (Figura 31 y 32).



Figura 30: Daños metaplásicos producido por el PSJ



Figura 31: Ataques severos de PSJ en madera y fruto

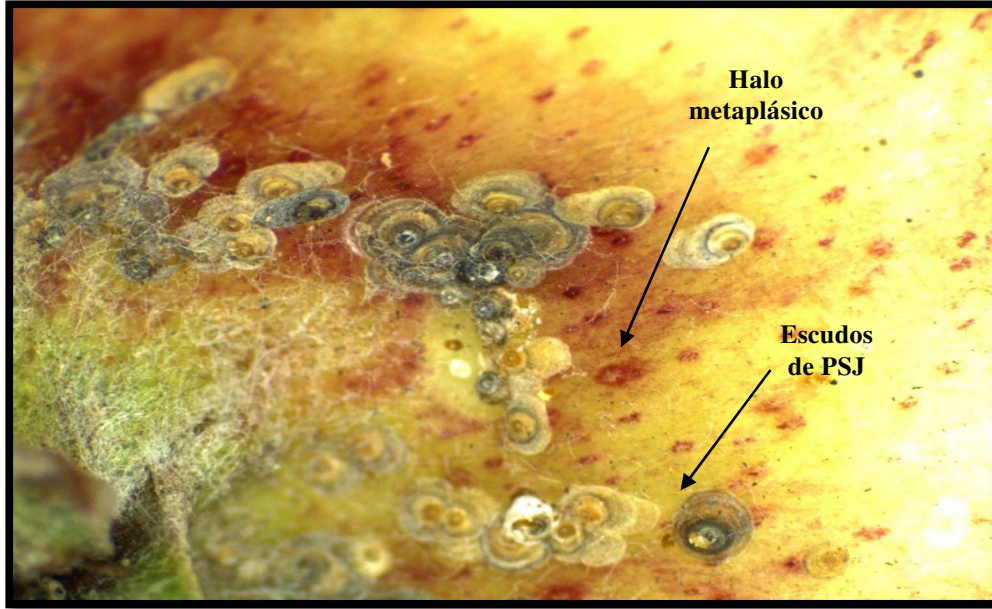
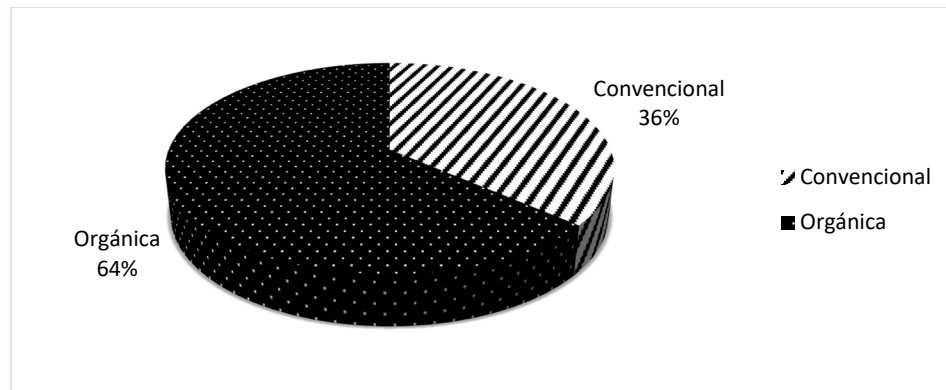


Figura 32: Población y daño de PSJ en fruto

5.6. Biodiversidad de artrópodos en las parcelas de manejo orgánico y convencional

Se colectaron un total de 756 artrópodos adultos perteneciente a las clases Insecta y Arachnidae en los montes frutales de producciones orgánicas y convencionales evaluados. En cuanto a la abundancia de individuos, se determinaron diferencias significativas ($p = 0,022$) entre el sistema de producción orgánica (478 individuos) y el sistema de producción convencional (278 individuos) (Figura 33).



.... Figura 33: Porcentaje de individuos presentes en cada sistema de producción

Por otra parte, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en la riqueza de especies entre las dos formas de producción ($p = 0,453$) (Figura 34).

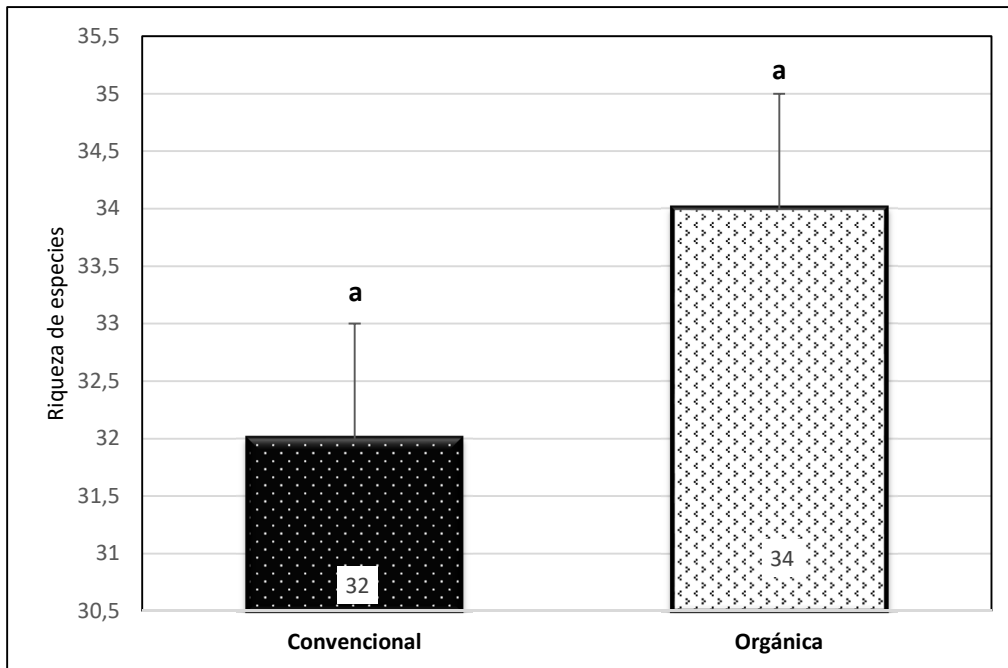


Figura 34: Riqueza de especies en las dos formas de producción (convencional y orgánica). Las barras representan la actividad promedio del error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre poblaciones, $p < 0,05$.

El análisis de la Riqueza Específica, como resultado del número de especies y el número de individuos fue mayor en el establecimiento orgánico que en el convencional. La abundancia y la diversidad, según los índices de Shannon, Bergger-Parker y Simpson, no mostraron diferencias significativas entre las dos formas de producción ($p > 0,05$). El índice de Mc Intos de dominancia de especies tampoco mostró diferencias entre ambos sistemas de producción. Por último, el índice de homogeneidad de especies fue mayor en el establecimiento de producción orgánica que en el convencional (Tabla 6).

Tabla 6: Índices de diversidad biológica y riqueza de especies (Infostat, 2016)

Índices de Biodiversidad	Orgánico	Convencional
Riqueza sp. (S)	34	32
N° Ind. (n)	488	238
Riq. Chao	60	48
Shannon-W	3,21	3,13
Simpson	0,04	0,04
Mc Intos (Dom)	0,85	0,86
Berger-P	0,11	0,13
Kempton (Homog)	16,84	7,25

A las especies encontradas se las categorizó en función de la relación trófica: fitófago⁹, organismos benéficos¹⁰, polenípagos¹¹, saprófago¹² y fungívoros¹³. En las parcelas de producción orgánica se registraron 34 especies, de las cuales 17 pertenecieron la categoría de fitófagos (344 individuos), 9 especies correspondieron a la clasificación de organismos benéficos (47 individuos) y 5 especies fueron saprófagos (71 individuos). En cuanto a las categorías de polenífaga y fungívoro, se encontró 1 especie con 1 individuo.

En el establecimiento de manejo convencional se identificaron en total 32 especies, de las cuales el mayor número de especies se encontraba en la categoría de fitófagos con 11 especies (63 individuos). Los organismos benéficos estuvieron representados con 9 especies (92 individuos) y la categoría de los saprófagos con 5 especies (71 individuos) (Figura 35).

⁹ Fitófagos: Especies que se alimentan de órganos de la planta

¹⁰ Organismos benéficos: especies animales que se alimentan de organismos plagas, disminuyendo su incidencia en los cultivos

¹¹ Polenípagos: Organismos que se alimentan del polen

¹² Saprófagos: Se alimentan de sustancias orgánicas en descomposición

¹³ Fungívoros: Son aquellos organismo que se alimentan de hongos

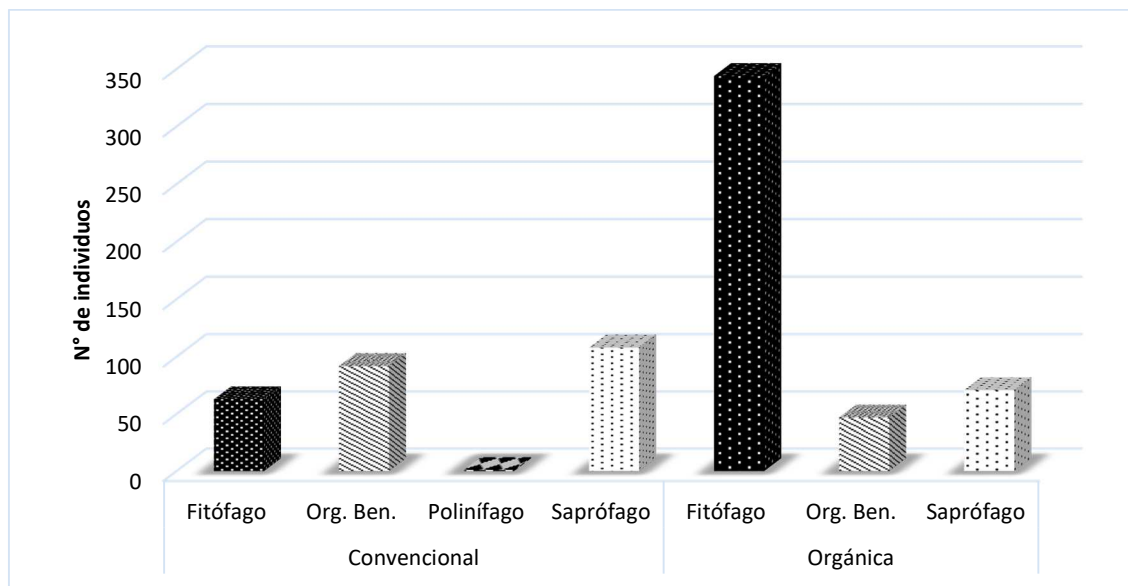


Figura 35: Segregación según relación trófica y forma de producción

Insecta fue la clase con mayor representación en ambos sitios de muestreo, con una dominancia del suborden Heteroptera respecto al resto. Los taxones de órdenes y familias de artrópodos más frecuentes en los sistemas de producción orgánica y convencional presentaron coincidencias en las dos formas de producción.

El suborden Heteroptera tuvo una gran variación entre los sistemas de cultivos, representando el 66% en el orgánico y el 19% en el convencional. En el caso del orden Díptera, en el sistema de producción convencional se determinó un mayor porcentaje de individuos (43%) que en el sistema de producción orgánico (7%). El orden Hymenoptera representó el 11% en el sistema de producción convencional y solo el 2% en el sistema de producción orgánico (Tabla 7).

Tabla 7: Número de ejemplares según clasificación taxonómica, colectados en los dos ambientes estudiados de producción orgánica y convencional.

Taxón	Prod. Convencional	Prod. Orgánica	Total general
Clase Arachnida	45	37	82
Erythreidae	7		4
Aracneidae		4	4
Phytoseiidae	32	1	33
Tetranychidae	4	34	38
Clase Malcostraca		2	2
Armadillididae			
Clase Insecta			
Coleoptera	1	15	16
Coccinelidae		4	4
Curculionidae		11	11
Tenebrionidae	1		1
Diptera	134	56	190
Agromyzidae	1	9	10
Cecidomyiidae	19	22	41
Culicidae	1		1
Drosophilidae	73	7	80
Muscidae		9	26
Anthomyiidae	21 ¹⁷	9	30
Syrphidae		2	2
Heteroptera	46	293	339
Anthocoridae	1	2	3
Aphididae	7	8	15
Cicadellidae	33	261	394
Diaspididae		5	5
Eriosomatidae	1	10	11
Nabidae	2	7	9
Psyllidae	2		2
Hymenoptera	28	8	36
Aphelinidae	17		17
Apidae	1		1
Chalcidoidea	10	8	18
Lepidoptera	1	8	9
Gelechiidae		8	8
Tortricidae	1		1
Neuroptera	6	1	7

Continúa Tabla 7

Chrysopidae	4		4
Hemerobiidae	2	1	3
Orthoptera	1	1	2
Gryllidae	1	1	2
Tisanoptera	16	57	73
Thripidae	11	11	22
Tubulifero	5	46	51
Total general	278	478	756

El suborden Heteroptera, que es el de mayor importancia en monte frutal orgánico, estuvo conformado por especies fitófagas, siendo la familia Cicadellidae la de mayor abundancia (261 ejemplares). El orden Díptera, de mayor importancia para el sistema de producción convencional estuvo representado por familias de hábitos saprófagos (Anthomyiidae, Calliphoridae y Muscidae) y algunas parasitoides de la familia Tachinidae y Cecidomyiidae (Figura 36).

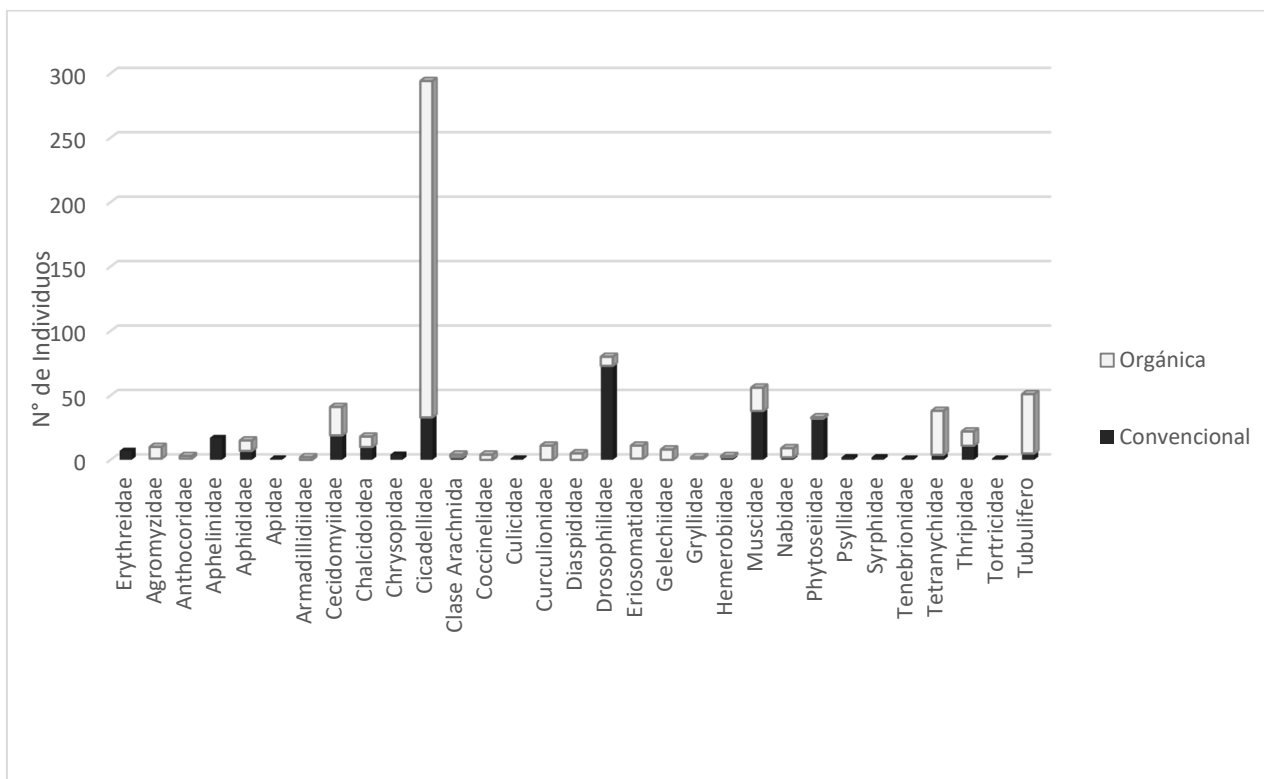


Figura 36: Familias taxonómicas según el tipo de producción

En los relevamientos efectuados, fue hallado otro Diaspididae sobre la corteza de ramas y troncos de manzano en un predio frutícola de General Roca, desconocido hasta ese entonces. Esta cochinilla presenta características morfológicas muy similares al PSJ, pero al levantar el escudo tenía una típica coloración “borravino”. Se tomaron muestras de corteza con los individuos vivos y se enviaron para su posterior identificación al INSUE - UNTucumán, resultando ser *Epidiaspis leperii* (Signoret 1869) (Figura 37).



Figura 37: *E. leperii* en manzanos. A) Hembra adulta; B) Poblaciones en ramas secundarias

En la Figura 38 se representa el ordenamiento de los artrópodos colectados determinados por los dos ejes. Las variables que se correlacionaron significativamente con el eje uno y dos fueron las formas de producción y las relaciones tróficas. Los parasitoides, predadores y saprófagos mostraron mayor preferencia por el monte convencional; mientras que los fitófagos y fungívoros por el establecimiento de producción orgánica.

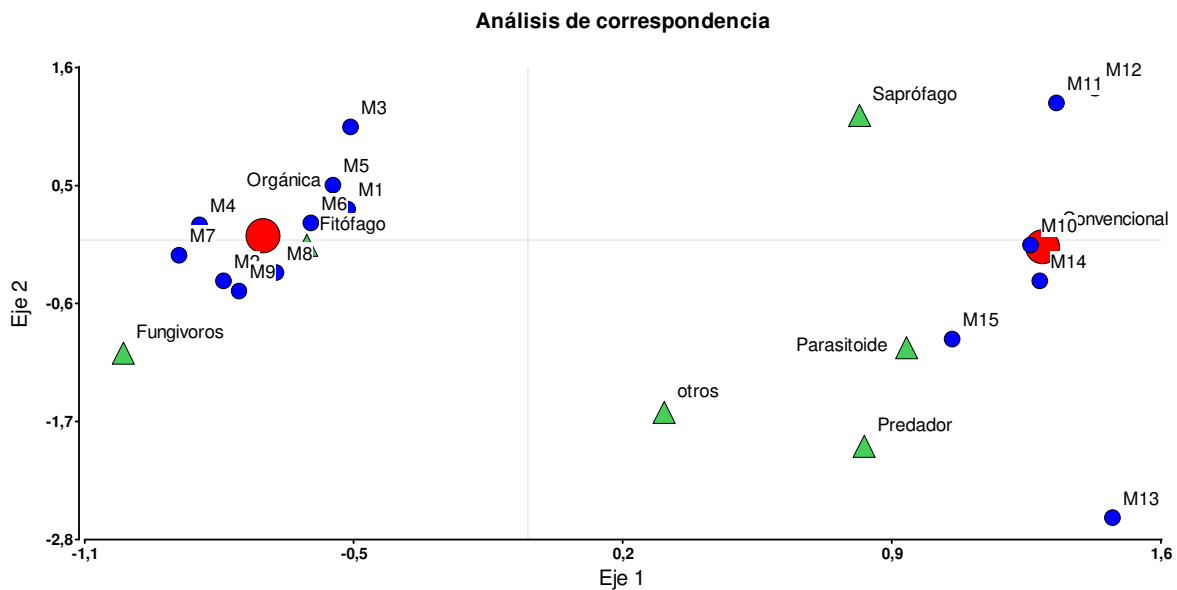


Figura 38: Análisis de correspondencia canónico (CCA). Biplot mostrando la relación existente entre las relaciones tróficas y los establecimientos de producción orgánica y convencional (infostat, 2016).

5.6.1. Análisis de los organismos benéficos o fauna auxiliar

El índice de Riqueza específica y la abundancia relativa de organismos benéficos en las parcelas de producción orgánica y convencional, no mostraron diferencias significativas ($p = 0,73$).

Entre los organismos benéficos colectados en el establecimiento convencional y orgánico, se encuentra la clase Insecta con una dominancia del orden Diptera (43 ejemplares) y luego el orden Hymenoptera (35 ejemplares). Los taxones de órdenes y familias de artrópodos más frecuentes en los sistemas de producción orgánica y convencional presentaron coincidencias en las dos formas de producción. En la clase Arachnida los más representativos fueron *Agystemus* sp. y *Neoseiulus californicus*, con la mayor abundancia en el sistema convencional (Tabla 8).

Tabla 8. Ejemplares de organismos benéficos según clasificación taxonómica.

Taxón	Prod. Convencional	Prod. Orgánico	Total general
Clase Arachnida	35	3	38
Erythreidae	7		7
<i>Balaustium</i> sp.	7		7
Araneae		4	4
<i>Argiope argentata</i>	2	2	4
Phytoseiidae	26	1	27
<i>Agystemus</i> sp.	17		17
<i>Neoseiulus californicus</i>	9	1	10
Clase Insecta			
Coleoptera		4	4
Coccinellidae		4	4
<i>Chilocorus bipustulatus</i>		3	3
<i>Sthetorus punctum</i>		1	1
Diptera	21	22	43
Cecidomyiidae	19	22	41
<i>Aphidoletes aphidimyza</i>	19	22	41
Syrphidae	2		2
<i>Scaeva</i> sp.	2		2
Heteroptera	3	9	12
Anthocoridae	1	2	3
<i>Orius insidiosus</i>	1	2	3
Nabidae	2	7	9
<i>Nysius simulans</i>	2	7	9
Hymenoptera	27	8	35
Aphelinidae	17		17
<i>Aphelinus mali</i>	2		2
<i>Aphytis</i> sp.	15		15
Chalcidoidea	10	8	18
Chalcidoidea	10	8	18
Neuroptera	6	1	7
Chrysopidae	4		4
<i>Chrysoperla</i> sp.	4		4
Hemerobiidae	2	1	3
<i>Hemerobius</i> sp	2	1	3
Total general	92	47	139

5.6.2. Controladores biológicos de *Q. perniciosus*

Se hace especial mención de los más relevantes controladores biológicos por su importancia como especies benéficas, o por constituir un aporte al conocimiento de la biodiversidad.

Depredadores

Durante los monitoreos realizados se registraron nuevos ejemplares de *Coccinellidae* (Coleoptera), cuya familia constituye un grupo de controladores biológicos importantes en la región. Se registraron nuevas especies en la región, diferentes de “vaquitas” depredadoras, cuyas identificaciones taxónomicas se realizaron mediante técnicas estándares y resultaron ser: *Harmonia axyridis* (Pallas) Subf.: Coccinellinae; *Chilocorus bipustulatus* (L.) Subf.: Chilocorinae y en forma reciente, no publicada aún: *Rhyzobius lophanthae* (Blaisdell, 1892). Subf.: Coccidulinae.

***Chilocorus bipustulatus* (L.).**

En septiembre de 2012 se halló *Chilocorus bipustulatus* sobre troncos y ramas de manzanos *Cripps Pink* (*Pink Lady*) en las parcelas de producción orgánica localizadas en Cinco Saltos, depredando a *Q. perniciosus*. Los adultos de 3- 5 mm son de color marrón rojizo a negro, de forma casi circular. La característica principal es una franja transversal de tres manchitas rojas alargadas por cada élitro, casi a la mitad del cuerpo. La hembra deposita los huevos de color amarillos de a pares. Las larvas son similares a otros coccinélidos, de color negro, con prolongaciones alrededor del cuerpo y con una banda clara en la mitad de la parte dorsal. Inverna como adulto debajo de la corteza de árboles desde mayo, y la salida de la diapausa es a mediados de septiembre. Es excelente depredador de PSJ, y puede contribuir al control eficiente y sustentable de la plaga (Figura 39).

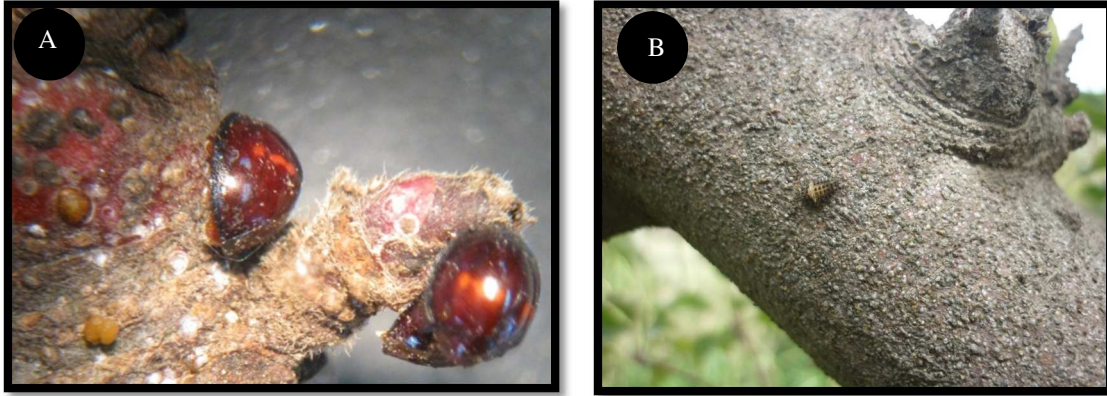


Figura 39: *Ch. bipustulatus* depredando a PSJ. A) Huevos y adultos; B) Ninfa

***Harmonia axyridis* (Pallas)**

En septiembre de 2012, en igual época que la anterior, *Harmonia axyridis* fue hallada depredando poblaciones de *Q. perniciosus* en manzanos de la variedad *Red Delicious* en la localidad de Cinco Saltos y en el predio de la FACA- UNCo. En el 2014, se distribuyó rápidamente por todas localidades del Alto Valle. Los adultos, de 6,5 a 8 mm, son los de mayor tamaño respecto al resto todas las especies presentes de coccinélidos en la región. Se hallaron siete formas distintas de igual coloración, de ahí proviene el nombre vulgar de la especie, como “vaquita asiática multicolor”. Hiberna como adulto debajo de la corteza de árboles en mayo o junio, donde invaden hogares y se protegen en gran número. La salida de la diapausa es a mediados de septiembre (Figura 40).

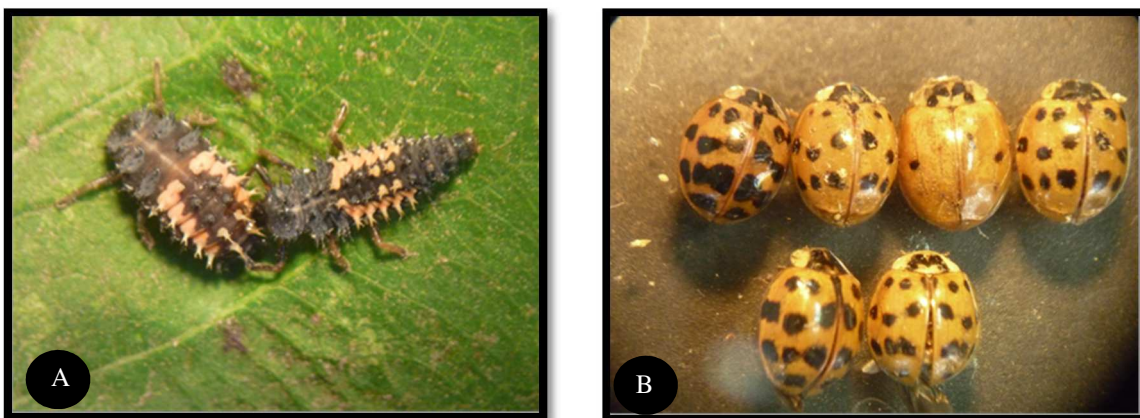


Figura 40: *H. axyridis*. A) Larvas con comportamiento de canibalismo; B) Diversidad de formas de adultos.

***Rhyzobius lophanthae* (Blaisdell)**

Esta especie fue capturada durante los monitoreos de las trampas de feromonas, a principios de octubre de 2016. Se encontraron tanto los adultos como las larvas depredando al macho de PSJ. De acuerdo a las observaciones realizadas en el laboratorio, los adultos son pequeños (1,8 a 2 mm), tienen el protórax de color café rojizo, con élitros oscuros a negros, con pilosidad y patas de color castaño claro. Se destacan notablemente los pelos largos alrededor del borde de los élitros. Las larvas halladas tienen la cabeza oscura, con el cuerpo grisáceo con una mancha clara característica a lo largo del abdomen, en la parte dorsal, en sus cuatro primeros segmentos (Figura 41).

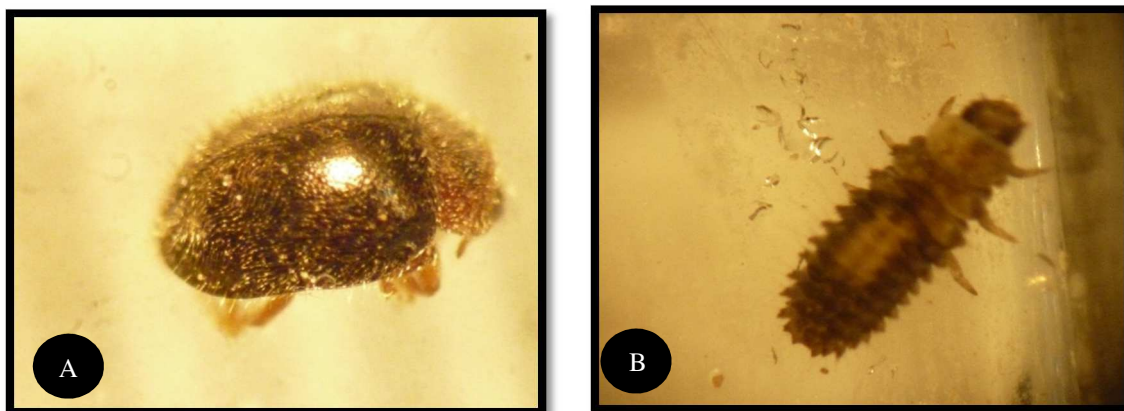


Figura 41: *Rhyzobius lophanthae*. A) Adulto; B) Larva.

Parasitoides

***Aphytis aonidiae* (Mercet)**

Aphytis aonidiae es una especie endoparásita de 1 mm de longitud, de color amarillo al igual que las larvas, que son ovoides, y que al levantar los escudos se observaron las ninfas de PSJ parasitadas (Figura 42).

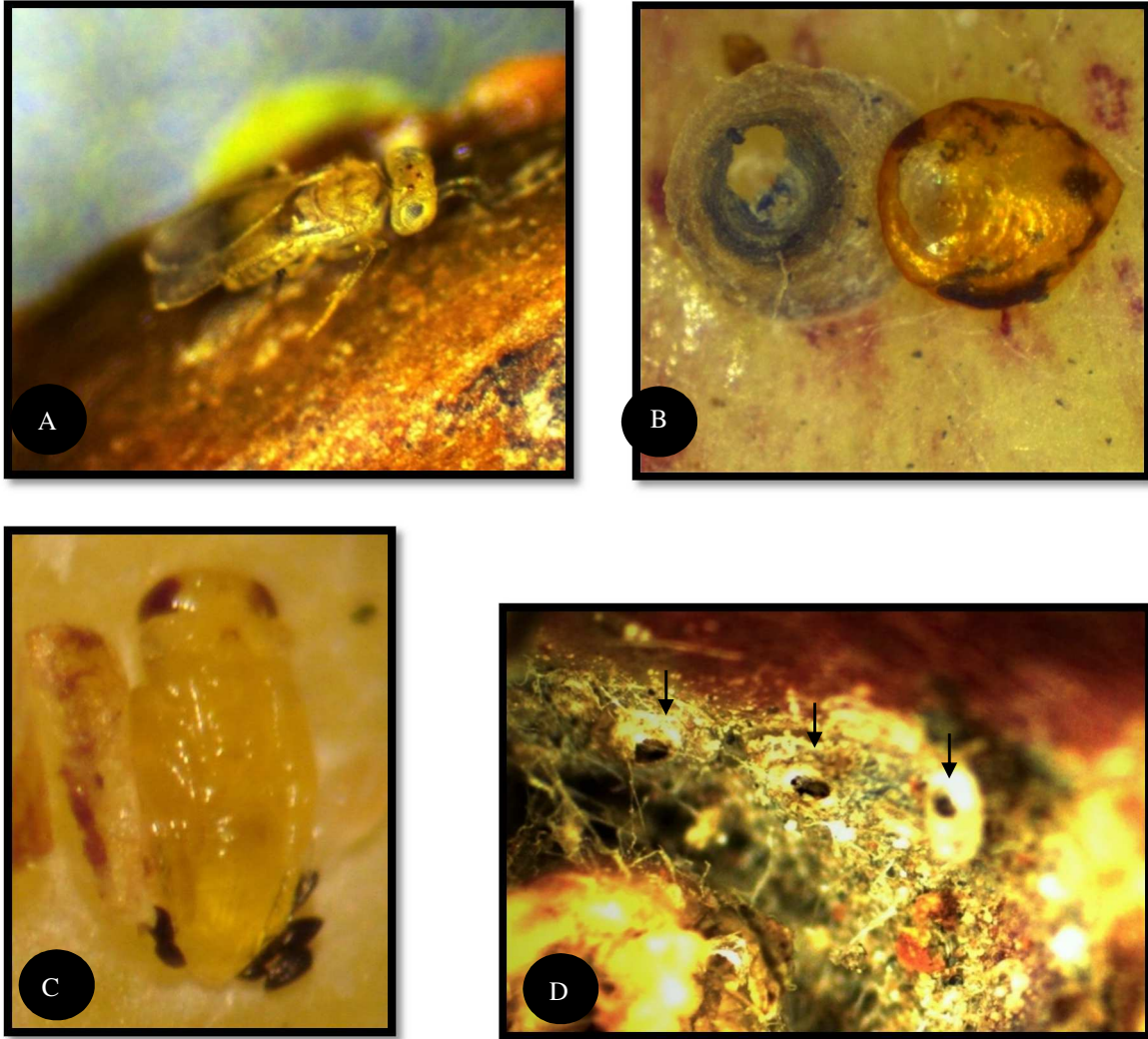
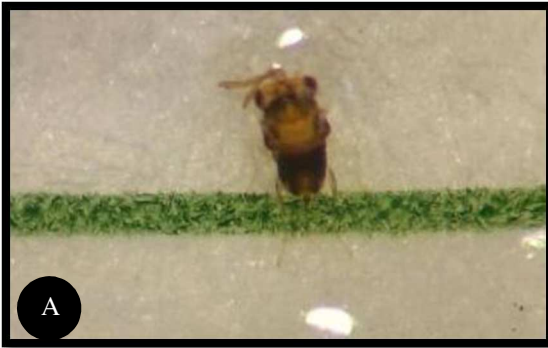


Figura 42: *Aphytis aonidiae*. en distintas fases. A) Hembra adulta en búsqueda de escudos de PSJ para parasitar; B) Hembra adulta de PSJ posterior al ataque de *A. aonidiae*.; C) Estado de pupa; D) Perforaciones circulares de *A. aonidiae* en el escudo de PSJ.

***Encarsia perniciosi* (Thomson).**

Encarsia perniciosi es una especie que no es común hallarla durante los monitoreos. Fué encontrada en octubre de 2016, en trampas de feromonas depredando al macho de PSJ. La hembra adulta es de 1 mm, con cabeza y tórax de color amarillo y abdomen oscuro. Los ojos son rojos y poseen 3 ocelos de igual color. Durante la revisión de las trampas de feromona fueron registradas las primeras caídas con 20 individuos, y una segunda con 34 (Figura 43).



Figuras 43: *Encarsia perniciosi*. A) y B) Capturas de hembras adultas en trampas de feromonas de PSJ.

Ácaros predadores de PSJ

Los ácaros que se registraron en los monitoreos de PSJ fueron *Balaustium* sp.; *Agystemus* sp.; entre otros (Figura 44).

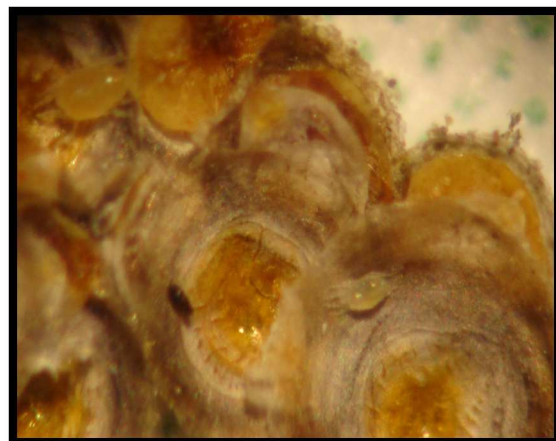


Figura 44: Ácaros predadores de PSJ. A) *Balaustium* sp.; B) *Agystemus* sp. en el interior de los escudos.

Neurópteros

Este orden tiene dos familias representantes en la región, Chrysopidae y Hemerobiidae, ambos encontrados predando a PSJ (Figura 45).



Figura 45: Larva tisanuriforme de *Chrysoperla externa*.

Los Hemípteros de la familia Anthocoridae son considerados importantes depredadores de numerosas plagas agrícolas, los ejemplares encontrados corresponden a *Anthocoris* sp. y también se colectó predando a PSJ.

5.7. Sistema antioxidante

5.7.1. Actividad de catalasa

Si bien las diferencias no fueron significativas la actividad específica de CAT fue casi dos veces superior en los individuos de la segunda y tercera generación provenientes de ambos sistemas de producción, en relación a la actividad observada en los organismos de la primera generación (Figura 46). La falta de significancia en relación a la actividad de catalasa pudo deberse a la variabilidad determinada para los individuos de la segunda generación provenientes del monte orgánico.

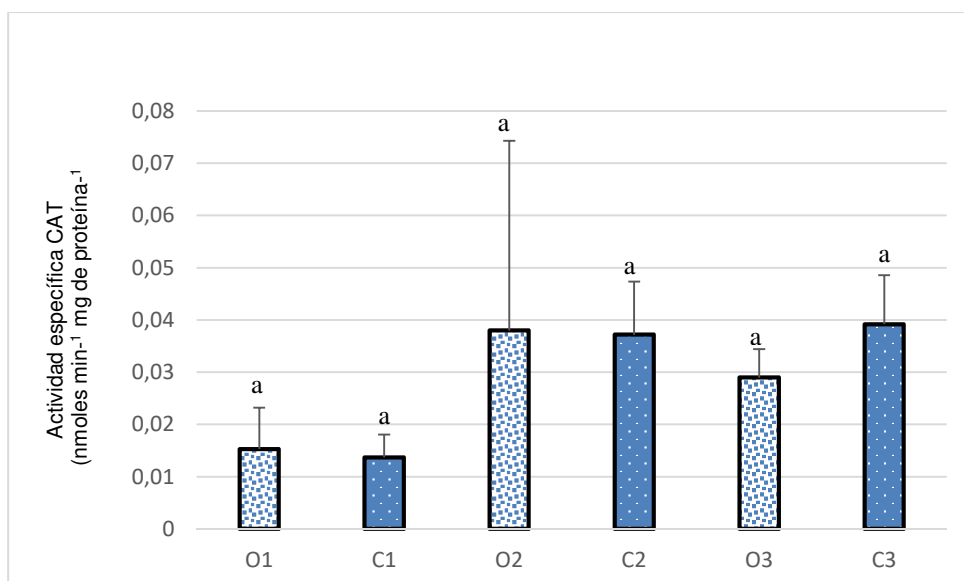


Figura 46: Actividad específica de CAT (nmol min⁻¹ mg de proteína⁻¹) en hembras adultas de PSJ para cada una de las generaciones, en establecimientos de producción orgánica (O) y convencional (C). Los valores representan la actividad promedio y las barras el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre poblaciones, $p < 0,05$.

5.7.2. Contenido GSH

No se determinaron diferencias significativas en el contenido promedio de GSH entre las muestras de PSJ provenientes de montes convencional y orgánico. Sin embargo, el contenido de GSH fue significativamente mayor en las hembras adultas de la primera generación respecto de la segunda y tercera ($p < 0,05$) (Figura 47).

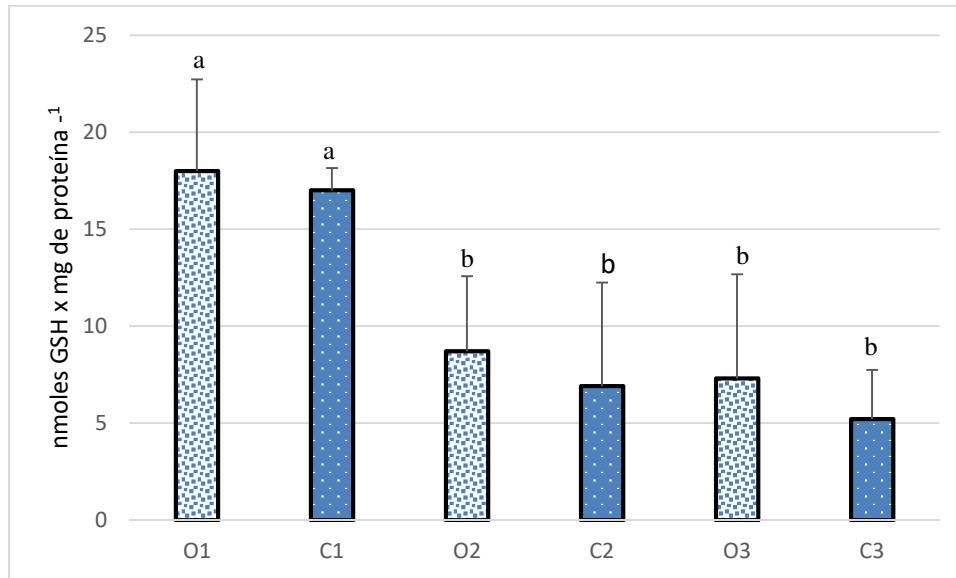


Figura 47: Contenido de GSH (nmol μg de proteína⁻¹) en hembras adultas de PSJ, para cada una de las generaciones, en establecimientos de producción orgánica (O) y convencional (C). Las barras representan la actividad promedio y las barras el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre poblaciones, $p < 0,05$.

5.7.3. Actividad de GST

La actividad de GST fue determinada espectrofotométricamente en presencia de los sustratos CDNB y GSH en homogenados de hembras adultas de PSJ colectadas en establecimientos de producción convencional y orgánica. No se observaron diferencias significativas en la actividad de GST en organismos bajo diferentes sistemas de producción. Sin embargo, la actividad de la GST fue significativamente mayor en los organismos de la primera generación con respecto a la segunda y tercera ($p < 0,05$) (Figura 48).

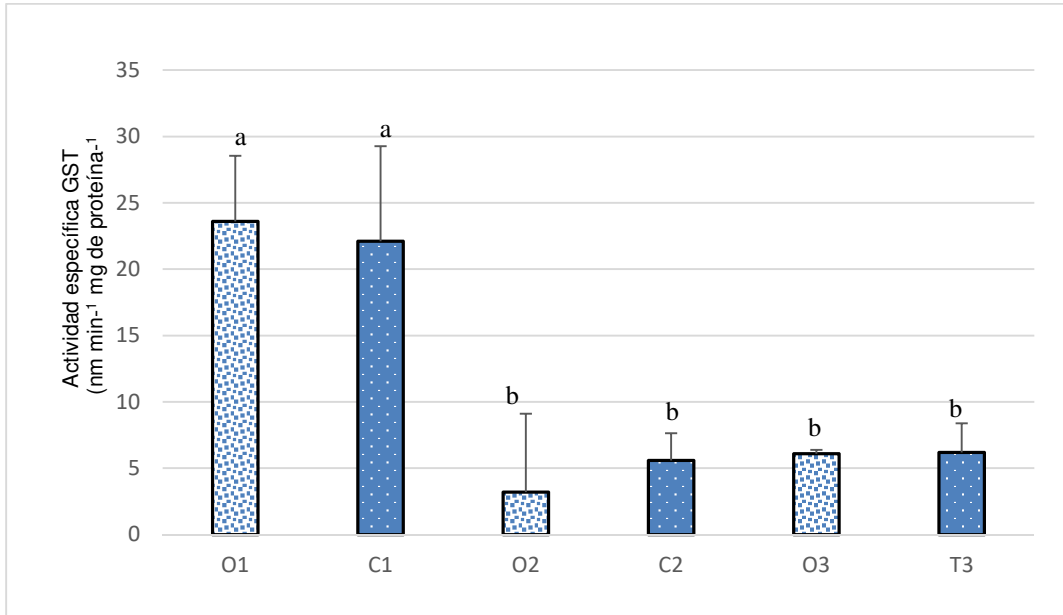


Figura 48: Actividad específica de GST (nmoles min⁻¹ mg de proteína⁻¹) en hembras adultas de PSJ para cada una de las generaciones, en establecimientos de producción orgánica (O) y convencional (C). Los valores representan la actividad promedio y las barras el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre poblaciones, $p < 0,05$.

6. Discusión

La producción de frutas de pepita en la Argentina, en las provincias de Río Negro y Neuquén, lidera las exportaciones junto a otros países de Sud América. Una de las mayores barreras que tiene la exportación de frutales, es el problema de las plagas que causan graves pérdidas y por ello los países compradores se ponen a resguardo que éstas ingresen. La producción de estos frutales, como así también todas las actividades productivas agrícolas, siempre han tenido una íntima dependencia a lo largo del tiempo de la utilización de los plaguicidas para el control de insectos que disminuyen la rentabilidad de la producción. En la actualidad éstos países, exigen mayores requisitos sanitarios a los países productores, imponiendo la necesidad de realizar protocolos específicos para algunas plagas cuarentenarias, como es el caso de *Cydia pomonella*. En este contexto otras plagas, han cobrado mayor importancia, como es el caso específico de *Q. perniciosus*. En los últimos años el número de predios frutícolas afectados en la región por este insecto, no ha dejado de aumentar sus poblaciones.

Como se ha mencionado, los principales cambios registrados en las áreas bajo riego, en cuanto el aumento de las poblaciones de PSJ, están relacionadas con las modificaciones que se han desarrollado en las estrategias de control de plagas. Fernández (2008), advertía sobre los efectos de las condiciones climáticas atípicas en la región en el control y manejo de las plagas. Los factores climáticos adversos, como los intensos fríos en el invierno, los fuertes vientos que provocan que las tareas de control que se realizan en esa época, no fueran eficientes, y que se llegara tarde a las aplicaciones de agroquímicos, o que éstas no se pudieran realizar en condiciones óptimas.

6.1. Bionomía del PSJ

En el 2010, hubo un aumento en el número de chacras afectadas por PSJ, debido al ajuste presupuestario en los programas de manejo sanitario (Cichón *et al.*, 2010). Otras razones que más se destacaron, fueron los incrementos en los precios de los

aceites minerales en los últimos años, lo que ha impedido que sea un producto accesible para el productor, para realizar las aplicaciones tradicionales, y si son aplicadas, son insuficientes para el control de la plaga (Cichón & Garrido, 2012). Otra de las posibles causas de su aumento poblacional, estudiadas recientemente en Chile, y hace varios años en California, puede ser la potencial resistencia a los plaguicidas organofosforados (Buzzetti, 2013; Sazo, 2013). El incremento de las poblaciones del PSJ cobró relevancia porque no se respetó la estrategia original del PNSC, que era evitar el incremento de las plagas secundarias. Esto debido a la necesidad de abaratar los costos de producción, disminuyendo las aplicaciones de agroquímicos para el control de las plagas (Cichón *et al.*, 2015).

Q. perniciosus es una especie cuyo ciclo de vida se ajusta a las condiciones climáticas de la región del AVRN y NQN, cumple dos generaciones anuales y la tercera es incompleta, y es la que pasará las condiciones adversas en diapausa invernal, en forma predominante como la tercera fase del primer estadio ninfal denominado “gorrita negra”. Esto ocurre desde mayo hasta mediados de agosto, y a partir de ese mes las temperaturas provocarán el desarrollo del comienzo de una nueva generación. En Mendoza, zona productora de manzanas en la localidad de San Carlos, la población invernal es de N1 y N2 (López García, 2011). Sin embargo, en Chile, entre la V y IX región, es coincidente con la del AVRN y N (González, 1981).

Los registros de capturas de macho del PSJ, muestran tres picos de vuelos de la especie concentrados en el tiempo, el primero entre el 21 de septiembre y el 05 de octubre, el segundo es entre el 22 de diciembre al 05 de enero y el tercero es del 25 de febrero al 07 de marzo. Sin embargo, según muestran los estudios de Cichón *et al.* (2015) puede extenderse a períodos prolongados de un mes de capturas sostenidas de machos adultos de PSJ para la región. Los primeros vuelos de los machos se producen en concordancia con Mendoza, pero en la segunda y tercera generación se postergan quince días, también por efecto de las condiciones ambientales (López García, 2011).

A partir de los picos de vuelos del macho, se registró que los nacimientos de las ninfas móviles de la primera generación es a los 30 a 40 días del primer vuelo, los nacimientos de la segunda generación es entre 20 a 30 días posteriores al máximo de capturas de machos al igual que los nacimientos de la tercera generación, la prolongación de este período dependerá de las condiciones climáticas como el viento, la temperatura y la lluvia.

Las hembras grávidas parirán a las ninfas móviles, dando lugar a los nacimientos de la 1ª generación a partir de los últimos días de octubre-principio de noviembre, prolongándose hasta el 15 de diciembre. Las recomendaciones técnicas del equipo de investigación del INTA Alto Valle, son la de realizar las aplicaciones de insecticidas, dirigidas a los nacimientos, con volúmenes adecuados para tener una buena cobertura sobre todos en los lugares donde es difícil llegar con el producto, especialmente en las hojas, brindillas, frutos, y troncos, que es el lugar de refugio de *Q. perniciosus*. Los individuos cuando nacen, tienen 24 a 48 horas para fijar su aparato bucal al lugar definitivo donde pasaran el resto de su vida, esto ha sido observado y coincidente con las apreciaciones de Giganti *et al.* (2007) y González (1981). Los relevamientos de este estudio, contribuyen a los conocimientos de la formación de focos de infestación, ya que a medida que las hembras, ovovivíparas, paren sus congéneres, algunos individuos se alejan del cuerpo de la madre buscando un lugar definitivo donde permanecerán el resto de su vida, mientras que otros, se van superponiendo, donde solo los une al hospedante, el aparato bucal. Seguramente, esto aporte a las dificultades para el control de la plaga, debido que al pulverizar con insecticidas de contacto, solo controla las capas de PSJ más expuesta, mientras que en las capas inferiores, son focos de infestación. La 2ª generación se inicia a mediados de enero hasta los primeros días de febrero período en que daña los frutos y es el momento de cosecha de numerosas variedades por lo que se dificulta su control. Los nacimientos de la 3ª generación, fueron registrados a partir de mediados de marzo y principios de abril. Un momento, para intensificar las aplicaciones es durante el otoño, ya que si las condiciones climáticas durante el mes de marzo y abril, son benignas para el desarrollo del insecto, el porcentaje de hembras grávidas que pasan el invierno, paren anticipadamente

durante este período (Buzzetti, 2013).

No cabe duda que los factores ecológicos juegan un rol importante en el comportamiento de un fitófago frente a la planta hospedante. Los movimientos migratorios de las especies son influenciados por la topografía, viento, vegetación, alimento, y cursos de agua (Drake & Gatehouse, 1995; Dingle, 1996; Enkerlin, 1996; Yela *et al.*, 1997). El tipo de colonización de este insecto y su relación con la orientación del viento, se ha comprobado estudiando la distribución de las brindillas y las ramas secundarias afectadas, con respecto a esto, un estudio similar fue realizado por Soria y col. (1997). En este sentido, los resultados obtenidos en la medición de la abundancia de PSJ, en las brindillas de todos los planos medidos en el período posterior al de la migración de la especie, tal como la fase móvil y los machos voladores, que arrojaron valores superiores en el material extraído en los planos con orientación SO-NE, de acuerdo a la dirección del viento predominante en el predio. En las variedades estudiadas, si bien coincide la dispersión en *Red Delicious* y *Granny Smith*, el plano más afectado es el que tiene orientación SO-NE. En *Royal Gala*, no presenta una tendencia entre los planos con mayor afectación, todos están representados con un alto nivel generalizado de infestación. Estas diferencias puede deberse a turbulencias internas en los cuadros.

Se observó que a partir de los focos de mayor infestación, en el cual las plantas tienen un porcentaje superior al 80% de afectación, la distribución fue uniforme alrededor de las plantas afectadas, sin marcar ninguna tendencia en “mangas” con orientación SO. La dirección del viento, está involucrada en la dispersión de la especie, pero el estudio de los gráficos sugiere que pueden existir otros factores involucrados en la dispersión. La disposición del PSJ, toma zonas preferenciales cercanas a *Red Delicious* y en menor medida en la variedad *Granny Smith*. Estos resultados son similares a los obtenidos por Debouzie (1984) y Delplanque (1986), aunque los árboles seleccionados no eran frutales de pepita.

Respecto a las variedades comerciales cultivadas, *Q. perniciosus* las afecta a todas en mayor o menor grado (Sazo, 2013), la mayoría de los autores concuerdan en

que no todas las plantas presentan igual grado de susceptibilidad al ataque de una misma plaga (Antón & Laborda, 1989; Llanos & Marín, 2004; Gaone, 2005; Gomez, 2005). A partir de la dispersión y distribución de la especie, se estudió otro factor que afecta a la intensidad de ataque y es el grado de susceptibilidad de las variedades. En este sentido la variedad que presentó mayor susceptibilidad, es la de *Royal gala*, luego la *Red Delicious* y por último con menor susceptibilidad, la *Granny Smith*. Buzzeti (2013), indica que es frecuente observar una gran variabilidad de la severidad o intensidad, según la localidad, su climatología y su evolución en el tiempo. Ordeñana (2002), demuestra que la susceptibilidad de las variedades tiene que ver con la activación de las defensas en las plantas y estas tienen una base compleja que depende de la manifestación coordinada de un conjunto de mecanismos genéticos.

En las distintas etapas de crecimiento del fruto, las poblaciones de PSJ mostraron una singular preferencia de ubicación por la zona calicinal y luego peduncular. Si hay frutos juntos, en la unión de ellos se localizan las poblaciones, con todos sus estadíos. La localización de esta especie es mayor en la zona del cáliz y del pedúnculo por ser lugares de mayor protección, donde los productos químicos no llegan con facilidad.

Los daños metaplásicos de este insecto registrados en la madera, durante varias décadas, no fueron evidentes. En estos últimos años esta plaga emergente, ha demostrado tener ataques virulentos, donde se han incrementado notablemente, en muy poco tiempo el número de individuos de la población.

Varios autores concuerdan que el conocimiento del patrón de distribución espacial de las plagas, permite mayor eficiencia en el diseño de programas de muestreo, la selección de métodos de análisis de datos, la estimación de tamaños poblacionales y el estudio de las relaciones predador-presa, huésped-parásito (Michaela *et al.*, 2000; Tannure *et al.*, 2002; Campos *et al.*, 2004; Fernández, 2012). Se puede determinar los posibles patrones de distribución a los que se ajusta una población de insectos en un cultivo, esto ayudará a conocer sus hábitos de vida, su tendencia

a agruparse o no en las diferentes etapas de su desarrollo y las preferencias con respecto a su hábitat (Moral García, 2003).

En este estudio, observamos que la migración de este insecto hacia otros hospederos es a través de sus estadios móviles, el resto de los estadios y estados son sésiles, por lo que manifiestan un comportamiento de distribución agregada que se relaciona de manera inversa con la movilidad. Los ecólogos han reconocido que la distribución agregada, implica que los individuos se agrupan en aglomerados o parches, dejando porciones del espacio relativamente desocupados, coincidiendo con los resultados del presente análisis (Dajoz, 1979; Odum & Barret, 2005). Actualmente, se continúa con el estudio de la disposición espacial, describiendo índices y modelos matemáticos, que permitirán hacer predicciones sobre el comportamiento de las poblaciones y encontrar transformaciones adecuadas que posibiliten el análisis de varianza, calcular intervalos de confianza y planificar programas de muestreo para la toma de decisiones.

También se ha estudiado las diferencias de biodiversidad de artrópodos en establecimientos de producción de manzanas convencional con los de manejo orgánico. Según Vigiani (1991), durante años ha demostrado que los insecticidas son los causantes de grandes desordenes de la biodiversidad en el ecosistema. Estudios regionales por Loewy (2011), indican que el movimiento de los plaguicidas en la naturaleza es muy complejo e incluye transferencias continuas hacia otras formas de vida; a parte de impactar en las plagas que se quieren controlar. Los plaguicidas pueden disminuir los insectos benéficos, e inducir la aparición de plagas secundarias (Ferrari, 2011). Las colectas de artrópodos realizadas en el estudio de biodiversidad, mostraron además de la fauna ya característica asociada al manzano, un mayor registro de diversas especies no descritas hasta el momento del estudio, y otras poco consideradas hasta ahora y que pueden jugar un papel importante en este agroecosistema. En cuanto al estudio de la abundancia y riqueza de especies de artrópodos en cultivos orgánicos, con respecto al convencional, no presenta diferencias significativas en todos los niveles tróficos, pero la influencia del sistema de cultivo no es la misma para todos ellos. Se encontró

diferencias estadísticas en el número de individuos, esto es debido a que las aplicaciones de agroquímicos en el sistema convencional limitan el desarrollo poblacional de las plagas existentes. Es posible que la causa de no encontrar diferencias estadísticas en los dos sistemas estudiados, sea por el trabajo de manejo integrado de plagas que se viene desarrollando en el establecimiento convencional. En estos se basan numerosos autores que sostienen que el desarrollo de estrategias del MIP basado en tácticas de control con un mínimo de impacto ambiental negativo constituye uno de los paradigmas en que se asienta actualmente la sostenibilidad de los sistemas agrícolas productivos (Vigiani, 1990; Yufera, 1991; Hernández *et al.*, 2015). Al respecto, Dellapé *et al.* (2005) indica que la evaluación de la biodiversidad en la comunidad está influenciada principalmente por los métodos de recolección. No obstante a ello, es necesario realizar muestreos más intensos y ampliado a otras formas de monitoreos en ambos sitios, y comparar con sistemas de producción convencional más tradicional, ya que el MIP, es una tendencia a la agricultura sustentable, pero existe resistencia cultural en algunos productores y empresas de la región para llevarlas a cabo.

Teniendo en cuenta que los estudios no demostraron diferencias significativas en la biodiversidad en las dos formas de producción, esto puede deberse a que en la mayoría de los ecosistemas, una mayor riqueza y abundancia de especies de artrópodos se asocia de manera positiva con una mayor riqueza de plantas, y una mayor heterogeneidad en la estructura de la vegetación (Joern, 2005; Mariottini *et al.*, 2012). En estudios de la región del AVRNYN, Fernández *et al.* (2008), muestra que el número y diversidad de artrópodos aumentan con la presencia de coberturas vegetales y disminuye con el uso de agroquímicos y labranza de suelos. Montero (2014), establece interacciones entre las malezas y los artrópodos colectados en los establecimientos, presentando coincidencias con el presente trabajo. La vegetación determinada a través del método de la transecta en las comunidades vegetales, muestran que en el establecimiento convencional tiene una mayor riqueza de especies vegetales, una mayor heterogeneidad y diversidad de arbustos, de plantas perennes y anuales, de plantas aromáticas y con una dominancia importante de *Mentha piperita*. Otro factor importante de destacar es que las

parcelas estaban al margen del canal de riego, mientras que en el establecimiento orgánico, presentaban homogeneidad en la cobertura del interfilas y alrededores. Sumado a esto en ambos establecimientos, las riquezas de especies de organismos benéficos fue elevada, posiblemente por la reducción drástica en el número de aplicaciones en el sistema convencional, luego de la implementación de las TCS, y porque ha disminuido la toxicidad de los agroquímicos (Cichón & Garrido, 2012). Estas razones justifican el aumento de organismos benéficos con elevada movilidad (Coccinélidos, sírfidos, arácnidos, entre otros), que se encuentran en los refugios de los interfilas y en la parte perimetral de los cuadros. Estos suben a la parte aérea de los frutales, en búsqueda de presas y de esta manera, reducen las poblaciones de los organismos fitófagos (Krebs *et al.*, 1999; Fernández *et al.*, 2008; Brown, 2011).

Es así que en el análisis de los taxones presentes en cada una de las parcelas, nos brinda información sobre el rol que desempeñan las especies en el agroecosistema. En cuanto a las asociaciones de insectos respecto al sistema de cultivo, se puede observar que en las parcelas de producción orgánica, concentran la mayor cantidad de especies fitófagas, porque los organismos benéficos se encuentran con un número de especies relativamente bajos. En el sistema convencional se colectaron escasos números de fitófagos y esto se debe a que los controladores biológicos, (Parasitoides, predadores) se encuentran en cantidades relativamente mayores.

En las colectas y monitoreos de artrópodos, se registran nuevas especies que fueron enviadas a especialistas para su determinación taxonómica. Como parte de los resultados de estos hallazgos, se cita por primera vez a un Diaspididae; *Epidiaspis leperii*, para la Patagonia Argentina (Olave *et al.*, 2014), fue declarada al SENASA en el marco de la Resolución N° 778/2004. Esta especie es originaria de Europa, presente en EE. UU y México. En Sud América, en Chile, Uruguay y Brasil y en Argentina, en (Bs. AS.) y Entre Ríos.

Si bien la mayoría de los organismos benéficos se han encontrados en el sistema de producción convencional, algunas especies de organismos benéficos estuvieron

presentes sólo en las parcelas de producción orgánica. Dichas especies fueron: *Argiope argentata* entre algunas de las Aracneidae, *Armadillium opacum* (bicho bolita), *Apis mellífera* (Apidae), Coccinelidae, *Scolytus rugulosus* (Curculionidae) y *Scaeva* sp. o *Syrphus* sp. (Syrphidae). Estas especies serían buenas para su empleo como indicadores de calidad o sostenibilidad ambiental. Estos ejemplares son muy vulnerables a la densidad de presas, los cambios climáticos y el impacto de la contaminación, los plaguicidas y los fertilizantes (Iperti, 1999; Woin *et al.*, 2000; Abad Moyano *et al.*, 2009).

En este contexto, el índice de Riqueza específica y la abundancia relativa de organismos benéficos en las parcelas de producción orgánica y convencional, no mostraron diferencias significativas. En relación al orden Díptero se han colectado principalmente en la primavera y verano especies tales como *Syrphus* sp., *Scaeva* sp., y también ejemplares de la familia Taquinidae: *Plagiostachina caridei*. Los representantes de la familia Aracneidae, están presentes de manera continua a lo largo de la mayor parte de los muestreos, aunque los Coccinelidae, Chrysopidae y Hemerobiidae aumentan su frecuencia en primavera y otoño. Los ácaros depredadores prevalecieron durante todo el periodo de estudio.

En la región, PSJ es una especie con escasos estudios sobre organismos benéficos que puedan regular su abundancia de modo eficiente. Esto, fue uno de los fundamentos importantes, que dió lugar al presente estudio, y donde fueron identificadas varias especies. Los nuevos hallazgos, se enviaron a especialistas para sus determinaciones taxonómicas. El conocimiento de la biología de los organismos benéficos y su relación con el ciclo de la plaga puede asegurarnos que su implementación como herramienta de control de PSJ, sean elementos seguros para reducir el uso de insecticidas químicos, como sucede con otras plagas (Garrido *et al.*, 2005; Dapoto *et al.*, 2011; Olave *et al.*, 2012, Olave *et al.*, 2014; 2012 Hernández *et al.*, 2015).

Sé registró una mayor diversidad de parasitoides y depredadores específicos para éste insecto, ya sea por ser nuevas citas para la región, para la Patagonia, o por

cambios en la sinonimia. En varios casos se han constituidos como primeros registros para la Patagonia, como los coccinélidos: *Chilocorus biputulatus*, *Harmonia axyridis*, y *Rhyzobius lophanthae*. En cuanto a los cambios en la sinonimia de especies presentes y poco conocidas, están los parasitoides: *Encarsia perniciosi* y *Aphytis aonidiae*.

Se informó la presencia para la Patagonia Argentina, a *Ch. bipustulatus* en manzanos, como depredador de *Q. perniciosus* (Olave *et al.*, 2014). En relación a su distribución geográfica, es una especie originaria de Europa, del oeste de Asia y norte de África. Citada para EE.UU., presente en Uruguay y Chile. En Argentina, se halló en Entre Ríos, Mendoza y en el 2009 en Chubut (Núñez Pérez & Tizado, 1996; Murúa & Fidalgo, 2001; Claps, 2014). Este insecto desconocido hasta el momento fue hallado, en septiembre de 2012, en manzanos de variedad *Cripps Pink* (Pink Lady), en la FACA- UNCo, Cinco Saltos (R.N), sobre troncos y ramas depredando a *Q. perniciosus*. Esta especie se alimenta preferentemente de las familias de Coccidae y Diaspididae. Su presencia en los establecimientos frutícolas ha aumentado desde su hallazgo.

Otro Coccinelidae que se encontró depredando a *Q. perniciosus* en manzano *Red Delicious*, es *H. axyridis*, ésta especie se constituyó en la primera cita para la Patagonia Argentina (Olave *et al.*, 2014). Por ser *H. axyridis* una especie invasora, agresiva y excelente depredadora, de rápida dispersión; estas características, son las deseables para un buen enemigo natural, por ello, ha sido introducida prácticamente en todo el mundo, obteniendo excelentes resultados (Alvis *et al.*, 2002). Después de un tiempo prolongado, se comenzó a conocer la fase negativa de esta especie. En la actualidad, *H. axyridis* es una especie que por su gran voracidad, está desplazando a otros coccinélidos presentes en la región, con la consecuente pérdida de otras acompañantes y practican canibalismo con sus congéneres. En E.U., presentan problemas haciendo heridas en frutales. En Mendoza, durante la cosecha de la vid, en coincidencia con los grandes vuelos de invernación, a principios de abril, los adultos caen en los cestos recolectores, y queda un sabor desagradable en las uvas, no pudiendo ser comercializadas. (Ing,

Agr . Lopez Plantey, com. pers.; Holgado *et al.*, 2014).

Estas consideraciones, nos demuestran la importancia de la elección de un buen controlador biológico y el registro de su comportamiento al introducir nuevas especies. Otra especie, recientemente hallada es *Rhyzobius lophantae*, según los registros de su distribución geográfica, es una especie originaria de Australia, introducida con éxito en Chile en 1931 y distribuida en todo el país (Gómez Vives, 2002; Andreev *et al.*, 2006). Presente en EE.UU, Europa, Asia y Perú. En Argentina, fue hallada en Mendoza (Claps, 2014; González, 2014). De acuerdo a estos datos, posiblemente sea una nueva cita para la Patagonia Argentina, relación que falta confirmar.

En la región, los parasitoides de *Q. perniciosus* pertenecen a la familia Aphelinidae. Desde hace muchísimos años, hay dos especies citadas; *Prospaltella berleseii*, Howard y *Aphytis longyclavae* Mulch (Giganti *et al.*, 2007). En la actualidad es mencionada la especie como *Aphytis* sp., al no estar clara su identificación. Según la sinonimia de la especie sería *Aphytis chilensis*, pero en observaciones del Dr. Luis De Santis, en muestras enviadas de PSJ en manzano, desde el Alto Valle (Gral. Roca) en 1948, su determinación taxonómica resultó ser *Aphytis duvius* (De Santis, 1969). La sinonimia actual, es *Aphytis aonidiaae* (Mercet, 1911). Entre los parasitoides, esta especie tiene la mayor difusión, y se encuentra parasitando a PSJ, aunque esto no alcanza a cubrir las expectativas como controlador biológico eficiente.

Encarsia perniciosi es un endoparásitoide, parasita a todos los estados, excepto las hembras maduras con ninfas móviles y es una especie que no está adaptada a temperaturas elevadas del verano, siendo más frecuente en primavera (Sorriba *et al.*, 2008). De acuerdo a ello es que se han capturado para el mes octubre, en las trampas de PSJ. Razón por la cual, estaría parasitando solo a individuos de la primera generación. Este parasitoide ha sido citado en el pasado, como *Prospaltella berleseii*, Howard, (Giganti *et al.*, 2007), y cuya sinonimia actual es *Encarsia perniciosi*.

Por ello, el manejo del agroecosistema asociado a los cultivos de manzana y pera, debe procurar la incorporación de plantas de refugio, con la combinación de flora del tipo arbustivo, sub-arbustivo y plantas anuales. Debe ser fundamental a la hora de planificar la plantación proveer el refugio y fuente de polen que los insectos benéficos necesitan para evitar su migración y favorecer el aumento de la biodiversidad de artrópodos. De esta manera existe una probabilidad más elevada de control natural en las parcelas de frutales a través de los depredadores y parasitoides que se refugien en los arbustos (Altieri, 1994; Fernández *et al.*, 2008; Brown & Smith, 2001). Sumado a esto, se deben usar productos selectivos para la fauna auxiliar. De igual forma, detectar la presencia de predadores benéficos y parasitoides en el predio y darle las condiciones adecuadas para actúen.

6.2. Sistema antioxidante

Las EROs son generadas como subproductos del metabolismo aeróbico normal y, a menudo, producidas en grandes cantidades por el estrés ambiental (Monaghan *et al.*, 2009) como oxidantes provenientes de las plantas, temperatura, hipoxia, plaguicidas y otros contaminantes (Aucoin *et al.*, 1995; Joannis & Storey, 1998; Jing *et al.*, 2005; Lalouette *et al.*, 2011). El O_2^- , una de las principales EROs, es convertido en H_2O_2 por la SOD, y luego transformado a agua por la CAT o GPx. El GSH provee los electrones para la GPx, *enzima* predominante en insectos (Felton & Summers, 1995). Dos GSH son convertidos a su forma GSSG y, éste último es regenerado a GSH por la GR (Schafer & Buettner, 2001). Las GST, además de su rol como antioxidante, son importantes en la detoxificación de xenobióticos proporcionando una efectiva vía de excreción a través de un producto hidrosoluble (Kostaropoulos *et al.*, 2001; Vontas *et al.*, 2001).

Las determinaciones bioquímicas realizadas en el presente estudio constituyen el primer reporte para esta especie. La actividad específica de CAT del PSJ de la primera generación, tanto para los organismos colectados en el sistema de producción orgánico como convencional, fue menor que la observada en el PSJ de la segunda y tercera generación. Por el contrario, la actividad de GST y contenido

de GSH fueron significativamente mayores en la primera generación del PSJ, tanto en los organismos colectados en montes frutales orgánicos como aquellos bajo control químico. Las GST y el GSH pueden ser inducidos por una gran variedad de xenobióticos, incluidos los plaguicidas (Deng *et al.*, 2009). La primera generación del PSJ en el Alto Valle es la más expuesta a insecticidas, dado que a ella va principalmente dirigido el control por encontrarse más concentrada y ordenada en el tiempo. El control del PSJ en montes frutales orgánicos se realiza con aceites minerales. Los aceites bloquean los espiráculos de los insectos produciendo hipoxia (Khater, 2012), lo cual conduce al estrés oxidativo (Harrison *et al.*, 2006). Además, las poblaciones de PSJ que habitan montes frutales orgánicos pueden verse expuestas a plaguicidas provenientes de montes tratados a través de la deriva. Más aun, la primera generación de larvas migratorias coincide con la principal época de vientos en la región. Por último, la dispersión de la larvita migratoria por el viento podría contribuir a un mayor flujo genético del PSJ entre montes frutales, explicando en parte la respuesta comparable de poblaciones bajo diferentes formas de control. De acuerdo a Greathead (1972), la larvita migratoria se comporta en el aire como una partícula inerte dado que no pueden dirigir sus movimientos.

Las actividades metabólicas y la función mitocondrial de invertebrados están reguladas por varios componentes estacionales como fotoperiodo, temperatura, humedad y alimento, por lo que permite asumir diferencias en el sistema antioxidante (Calow, 1981; Martínez-Cruz *et al.*, 2012; Paital & Chainy, 2014). En la especie multivoltina *Cameraria ohridella*, las actividades de SOD, GSTPx y carboxilesterasa presentaron diferencias significativas entre diferentes años y generaciones (Zaak *et al.*, 2012). Las diferencias entre años consecutivos se adjudicaron a diferencias en temperatura y lluvias. La mayor actividad enzimática se registró en la segunda generación de larvas indicando una activa defensa contra los aleloquímicos del huésped.

La respuesta al estrés oxidativo en poblaciones expuestas a insecticidas es muy variable. La exposición *in vivo* de *Oxya chinensis* y *C. pomonella* a concentraciones subletales de clorpirifós no mostró, en general, efectos significativos en la actividad

de GST (Wu *et al.*, 2011; Parra *et al.*, 2016). La exposición de *Locusta migratoria* a clorpirifós produjo un aumento de ARNm para algunas clases de GST y una disminución en otras, concluyendo que el insecto regula diferencialmente la expresión de las enzimas involucradas en la detoxificación de insecticidas (Qin *et al.*, 2014). En *Bombix mori*, la actividad de GST y GSTPx aumentó considerablemente luego de la exposición a foxim con un concomitante aumento en el contenido de MDA (Yu *et al.*, 2011). Aumentos en la actividad de CAT se observó en *Lymantria dispar* expuesta al OF metidatió (Aslanturk *et al.*, 2011) y *Galleria mellonella* expuesta al OF diclorvós (Kayiř *et al.*, 2015). También se observó un aumento en la actividad de CAT en *Pimpla turionella* a varias concentraciones subleales del organofosforado diazinón, aunque los aumentos no fueron concentración dependiente (Kayiř *et al.*, 2012). Otros autores también reportaron cambios no consistentes en la actividad de CAT luego de la exposición de *O. chinensis* a diferentes concentraciones de malatió y clorpirifós (Wu *et al.*, 2011). Muchos insectos poseen peroxidasas generales que convierten el H₂O₂ en agua al oxidar un sustrato como GSH o ascorbato (Felton & Summers, 1995).

En el presente estudio no se observaron diferencias significativas, tanto en la actividad de GST y CAT como el contenido de GSH, entre las poblaciones de PSJ provenientes de cuadros de producción orgánica y convencional. Si bien no se hallaron reportes sobre el sistema antioxidante, los insectos plaga provenientes de cultivos orgánicos presentan, en general, menor actividad de enzimas detoxificantes que aquellos provenientes de cultivos bajo manejo con insecticidas (Fuentes-Contreras *et al.*, 2007; Bosch *et al.*, 2016). Los resultados del presente estudio sugieren que los componentes del sistema antioxidante evaluados responderían de forma similar tanto a los insecticidas convencionales como a los aceites minerales. Por último, no se descarta que otro componente del sistema antioxidante en esta especie pueda verse alterado por la exposición a insecticidas en los montes frutales bajo control convencional.

7. Conclusiones

- 1) En la actualidad en la zona de producción de frutas del AVRN y NQN, los sistemas integrados de manejo de cultivos convencionales, producen también alimentos seguros y sanos de una manera ambientalmente sostenible. Esto se debe en gran parte al aumento en el flujo de información y que provoca mayor concientización en los productores y operarios respecto al uso de los plaguicidas, como así también las limitaciones en el mercado. En general, tienen programas de aplicaciones de control de plagas orientados al cuidado del medio ambiente y la salud de las personas (consumidor y operador), de la misma forma que los productos tienen formulaciones más amigables con el medio ambiente.

- 2) Bionomía de *Q. perniciosus*:
 - ✓ La especie presenta dos generaciones anuales completas y la tercera incompleta, es la que invernará y comenzará el ciclo en la temporada siguiente.

 - ✓ La forma de diapausa invernal en la región del AVRN y NQN, es la tercera fase del primer estadio ninfal denominado “gorrita negra”.

 - ✓ A partir del 15 de Agosto comienza la actividad de la temporada desarrollándose a otros estadios.

 - ✓ El macho presenta tres picos de vuelos en la temporada y se concentran en pocos días. El primer vuelo se registró entre el 21 de septiembre y el 10 de octubre. El segundo se determinó entre el 22 de diciembre y el 03 de enero y el tercer vuelo entre el 25 de febrero y el 07 de marzo.

 - ✓ Entre el primer pico de vuelo y los nacimientos de la primera generación hay un período de 30 a 40 días y de 20 a 30 días en las generaciones posteriores.

- ✓ Los nacimientos de la primera generación se registraron es a partir de los últimos días de octubre- principios de noviembre y se extienden hasta el 15 de diciembre. Los nacimientos de la segunda generación se inicia a mediados de enero hasta los primeros días de febrero, y los nacimientos de la tercera generación fue a partir de mediados de marzo hasta comienzos de abril.

- ✓ La dispersión de la especie hacia otros hospederos es por el viento en los estados libres (no fijado al hospedero) y móviles: la fase uno del primer estadio ninfal y adultos machos voladores.

- ✓ La variedad más susceptible es *Royal Gala*, luego *Red Delicious* y por último *Granny Smith*.

- ✓ La distribución espacial de PSJ es agregada, con formación de focos de infestación.

- ✓ La preferencia de ubicación del PSJ en el fruto es mayor en la zona calicinal y peduncular, y posteriormente en la zona ecuatorial.

- ✓ En el estudio de biodiversidad en los dos establecimientos de producción orgánico y convencional, no se evidenciaron diferencias en la riqueza, abundancia y diversidad de especies. Sin embargo, en la abundancia de individuos se registran diferencias con mayor cantidad en el monte orgánico que en el convencional.

- ✓ Las relaciones tróficas que predominan en el establecimiento orgánico son las especies fitófagas, mientras que en el convencional, los organismos benéficos y saprófagos.

- ✓ En los relevamientos efectuados, fueron halladas *Epidiaspis leperii*, *Chilocorus bipustulatus*, *Harmonia axyridis*, *Rhyzobius lophanthae*

Constituyen la primera cita para la Patagonia Argentina.

✓ Se señalan varias especies como promisorias en el control biológico de PSJ: *Chilocorus bipustulatus*, *Harmonia axyridis*, *Rhyzobius lophanthae*, *Encarsia perniciosi*, *Aphytis aonidiae*, *Scaeva sp.*, *Syrphus sp.* entre otros.

✓ Las especies posibles a ser indicadores agroambientales del sistema son: *Argiope argentata* entre algunas de las Araneidae, *Armadillium opacum* (bicho bolita), *Apis mellifera* (Apidae), Coccinelidae, *Scolytus sp.* (Curculionidae), *Scaeva sp.* y *Syrphus sp.* (Syrphidae) estos ejemplares son muy vulnerables al uso intensivo de insecticidas.

3) En referencia al sistema antioxidante, la primera generación del PSJ, tanto del monte convencional como del orgánico, mostró diferencias en el contenido de GSH y la actividad de GST y catalasa respecto a la segunda y la tercera generación.

8. Recomendaciones técnicas

1. En la región del AVRN y NQN, se debería considerar como plaga clave
2. Si las poblaciones de PSJ se mantienen altas luego de los controles, evaluar si se encuentra frente a una situación de resistencia. En estos casos, es fundamental cambiar el modo de acción del plaguicida.
3. Para evitar el ingreso de la plaga al establecimiento, es clave adquirir plantas provenientes de vivero libres del insecto.
4. Las podas de las estructuras deberían estar dirigidas a la eliminación del material con infestación de PSJ.
5. Para el control, es fundamental realizar la pulverización con el volumen adecuado para tener una buena cobertura hacia las hojas, brindillas, frutos y tronco.
6. Favorecer el desarrollo de prácticas culturales, con semioquímicos e insumos biológicos.
7. En el diagrama de aplicaciones para el control del PSJ, reemplazar los insecticidas tradicionales (OP y piretroides) por aquellos que sean selectivos para la fauna auxiliar, amigables con el medio ambiente y mamíferos

9. Perspectivas Futuras

- 1.** Elaborar un programa de alarma local (G° Dias) y una red de monitoreos de Piojo de San José.
- 2.** Estudio del uso de Insectos como indicadores de la calidad ambiental.
- 3.** Continuar con el estudio de la disposición espacial con el manejo del dron, y hacer los mapas de DNVI para parcelas afectadas con PSJ..

10. BIBLIOGRAFÍA

- Abad Moyano, R; Pina, T.; Dembilio, O.; Ferragut, F. & Urbaneja, A. 2009. Survey of natural enemies of spider mites (Acari: Tetranychidae) in citrus orchards in eastern Spain. *Experimental Applied Acarology*; 47: 49-61.
- Abdollahi, M.; Ranjbar A.; Shadnia, S.; Nikfar, S. & Rezaie, A. 2004. Pesticides & oxidative stress: a review. *Medicine Science*; 10(6):141-147.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*; 105: 121-126.
- Ahmad, S.; Pritsos, S. M.; Bowen, C. R.; Heisler, G. J.; Bloomquist, C. & Pardini, R. S. 1988. Subcellular distribution and activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in the southern armyworm, *Spodoptera eridania*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*; 7(3): 173–186.
- Ahmad, S. 1995. Oxidative Stress from environmental pollutants. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*; 29: 135-157.
- Ajuwan, O. R.; Marnewick, J. L. & Lester, D. 2015. Rooibos (*Aspalathus linearis*) and its major flavonoids. Potential against oxidative stress-induced conditions. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*; 7: 171-261.
- Altieri, M. A. 1994. Bases agroecológicas para una producción agrícola sustentable. *Agricultura técnica. Revista Agricultura Técnica*: 54(4): 371-386.
- Altieri M. A. & Nicholls, C. I. 2007. Conversión agroecológica de sistemas convencionales de producción: teoría, estrategias y evaluación. 10 pp. <http://www.revistaecosistemas.net>
- Altieri, M. A. & Nicholls, C. I. 2007. Biodiversidad y manejo de plagas en agroecosistemas. Ed. Icaria, Barcelona (España): (2):23-74.
- Altube, H.; Santinori; L. & Alem, H. 2007. Introducción a la fruticultura. En: Árboles Frutales: Ecofisiología, Cultivo y Aprovechamiento. Sozzi, G. O (ed.), 1ª Ed. Ed. Facultad de Agronomía, Bs. As.; 3- 40.

- Alvarez Palau, E. 2012. La colonización del Alto Valle de Rio Negro y Neuquén en Argentina: Ferrocarril, Obras hidráulicas y electricidad para consolidar el poblamiento. Actas del Simposio: Globalización, innovación y construcción de redes técnicas urbanas en América y Europa. 20 pp.
- Alvis, L.; Raimundo, M.; Villalba, R. & Garcia Marí, F. 2002. Identificación y abundancia de coleópteros coccinélidos en los cultivos de cítricos valencianos. Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas; 28: 479-491.
- Amalin, D. M.; Pera, J. E.; Duncan, R.; Leavengood & Koptur, S. 2009. Effects of pesticides on the arthropod community in the agricultural areas near the Everglades National Park. Proceeding of Florida State Horticultural Society; 122: 429-437.
- Andreev, R., Olszak, R. & Kutinkova, H. 2006. Harmful and beneficial entomofauna in apple orchards grown under different management systems. Pesticides and Beneficial Organisms IOBC Bulletin; 29: 13–19.
- Angerilli, N. P. D. & Logan, D. M. 1986. The use pheromone and barrier traps to minor San Jose Scale (Homoptera: Diaspididae) Phenology in the Okanagan Valley of British Columbia; 118: 767-774.
- Antón, F. A. & Laborda, E. 1989. Estudio de la susceptibilidad/resistencia de variedades del olivo (*Olea europaea* L.) al patógeno *Cycloconium oleaginum* (Cast.) (*Spilocaea oleaginae* Hugh). Boletín de Sanidad Vegetal; 4: 385-403.
- Arancibia, C. 2008. Plagas en perales –Temp. 2007-08. Revista Frutícola. Especial Peras; 4: 22-27.
- Aslanturk, A. S.; Kalender, M. & Uzunhisarcikli, Y. 2011. Effects of methidathion on antioxidant enzyme activities and malondialdehyde level in midgut tissues of *Lymantria dispar* (Lepidoptera) larvae. Journal Entomology; 13: 27–38.
- Asplanato, G. & Garcia-Marí, F. 2002. Parasitismo de la cochinilla roja californiana *Aonidiella aurantii* (Homoptera: Diaspididae) en la zona citrícola sur de Uruguay. Boletín de Sanidad Vegetal; 28: 5-20.
- Aucoin, R.; Guillet, G.; Murray, C.; Philogène; B.J.R. & Arnason, J.T.1995. How do

- insect herbivores cope with the extreme oxidative stress of phototoxic host plants *Archivos Insect Biochemistry*; 29: 211–226.
- Aucoin, R.; Bernard, J.; Philogene, R. & Arnason, J. 1991. Antioxidant enzymes as biochemical defenses against phototoxin- induced oxidative stress in the three species of herbivorous Lepidoptera *Archivos Insect Biochemistry and Physiology*; 16: 139-152.
- Bacanskas, L. R., Whitaker, J. & Di Giulio, R. T. 2004. Oxidative stress in two populations of killifish (*Fundulus heteroclitus*) with differing contaminant exposure histories, *Marine Environmental Research*; 58(2): 597–601.
- Bhattacharya, S. 2001. Stress response to pesticides and heavy metals in fish and other vertebrates. *Proceeding of Indian National Science Academy*. B67. (5): 215-246.
- Bagchi, D.; Bagchi, M.; Hassoun, E. & Stons, S. J. 1995. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology* 104: 129-140.
- Bagchi, D; Bhattacharya, S; Stons, S. J. 1996. In vitro and in vivo induction of heat shock (stress) protein (HSP) gene expression by selected pesticide. *Toxicology*; 112: 57-66.
- Baggiolini, M.; E.; Keller, Millaire, H & Steiner, H. 1990. Control visual en el cultivo del manzano. Ed. Montserrat (1^a ed.). Barcelona, España. 104 pp.
- Bhat, A., Rao, G., Murthy, K. D. & Bhat, P. G. 2008. Seasonal variations in markers of stress and oxidative stress in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*; 23(2):191–194.
- Bebe, F. N. & Panemangalore, M. 2005. Pesticides and essential minerals modify endogenous antioxidants and cytochrome P450 in tissues of rats. *Journal Environ Science Health*; 40: 769-784.
- Beckman, K. B. & Ames, B. N. 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiol Revista*; 78: 547-581.
- Beckman, K.B. & Ames, B.N. 1997. Oxidative decay of DNA. *Journal of Biological*

- Chemistry; 272(32): 19633–19636.
- Beers, R.F. & Sizer J.W. 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemical*; 195(1): 133-140.
- Begon, M.; Townsend, C. R. H.; John, L.; Colin, R. T. & John, L. H. 2006. *Ecology: from individuals to ecosystems*; 236-321.
- Bellvert, J. ; Zarco-Tejada, P. J.; Girona, J. & Fereres, E. 2013. Mapping crop water stress index in a 'Pinot-noir' vineyard: comparing ground measurements with thermal remote sensing imagery from an unmanned aerial vehicle. *Precision Agriculture*, 56-93pp.
- Bell'O Klein, A.; Morgan Martins, M. I.; Barp, J.; Llesuy, A. & Singal. P. K. 2000. circa annual changes in antioxidants and oxidative stress in the heart and liver in rats. *Comparative Biochemistry and Physiology*; 126(2): 203–208.
- Berry N. A.; Wratten, S. D.; Mc Erlich, A. & Frampton, C. 1996. Abundance and diversity of beneficial arthropods in conventional and "organic" carrot crops in New Zealand. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*; 24: 307-313.
- Beseler, C. L.; L. Stallones, J. A.; Hoppin, M. C. R.; Alavanja, A.; Blair, T.; Keefe & F. Kamel. 2008. Depression and pesticide exposures among private pesticide applicators enrolled in the agricultural health study. *Environmental Health Perspectives*; 116: 1713-1719.
- Bestvater, C. R. & Casamiquela, C. H. 1983. Distribución textural de los suelos del Alto Valle. *Boletín de divulgación Técnico. INTA*; 29: 24-33.
- Bevilacqua, M. & Storti, M. L. 2001. *Complejo Frutícola: Manzana y Pera. Revista: Producción regional por complejos productivos*. 27 pp.
- Bernabucci, U.; Ronchi, B.; Lacetera, N. & Nardone, A. 2002. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition *Scientifica* dairy cows during hot season. *Journal of Dairy Science*; 9: 2173–2179.

- Bolthausen, V.; Villarreal, P.; Avellá, B.; Mauricio, M.; Romagnoli, S.; Viñuela, M. & Zunino, N. 2007. Área irrigada de la Provincia de Río Negro, caracterización socio- económico y técnico productiva; 63:11-19.
- Bonda Ostaszewska, E.; Włostowski, T.; Krasowska, A. & Kozłowski, P. 2012. Seasonal and photoperiodic effects on lipid droplet size and lipid peroxidation in the brown adipose tissue of bank voles (*Myodes glareolus*),” *Acta Theriologica*; 57(4): 289–294.
- Bondoni, M.; Cichón, L.; Dapoto, G.; Fernández, D., Garrido S. & Giganti, H. 2010. Plagas y su manejo en el cultivo. En: Pera Williams: Manual para el productor y el empacador. Sánchez, E. (Ed.). 68-93 pp.
- Bonekamp, N.; Volkl, A.; Fahini, D & Schrade, M. 2009. Reactive oxygen species and peroxisomas. Struggling for balances. *Bio factor* 35;(4):346-355.
- Bosch D.; Rodriguez M. A. & Avila J. 2016. Captures of MFO-resistant *Cydia pomonella* adults as affected by lure, crop management system and flight. *Bulletin of Entomological Research*; 106 (1): 54-62.
- Brown M. W. & Puterka, G. J. 1996. Orchard management effects on the arthropod community on peach with comparison to apple. *Journal of Entomology Science*; 32(2): 165-373.
- Brown, M.W. & Schmitt, J.J. 2001. Seasonal and diurnal dynamics of beneficial insect populations in apple orchards under different management intensity. *Environmental Entomology*; 30(2): 415-424.
- Brown, M.W. 2011. Role of biodiversity in integrated fruit production in eastern North American orchards. *Agricultural and Forest Entomology*; 540 p.
- Buege, J. A. & Aust, S. D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*; 8(52): 302-10.
- Büyükgüzel, E. 2009. Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion. *Journal of Economic Entomology*; 102(1):152-159.

- Büyükgüzel, K. 2006. Malathion-induced oxidative stress in a parasitoid wasp: effect on adult emergence, longevity, fecundity, and oxidative and antioxidative response of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Journal of Economic Entomology*; 99(4): 1225-34.
- Buzzetti, K. 2013. Resistencia de la escama de San José a los fosforados. *Revista Red agrícola*. 87 p. www.redagricola.com.
- Cabi, 2016. Invasive Species Compendium. www.cabi.org.ar.
- Campos Cabrera, A.; Guerra Bustillo, W. & Suris Campo, M. 2004. Descripción del patrón especial de *Trhyps palmi* Karny en el cultivo de papa mediante la distribución binomial negative. *Revista Investigación operacional*; 25 (2): 193-201.
- Calow, P. 1981. *Invertebrate biology: A functional approach*, Halsted En Press Book, Ed. John Wiley & Sons, New York, NY, USA, 124-196p.
- Calderón, R.; Navas Cortés, J.A.; Lucena, C. & Zarco Tejada, P.J. 2013. High-resolution airborne hyperspectral and thermal imagery for early detection of Verticillium wilt of olive using fluorescence, temperature and narrow-band spectral indices. *Remote Sensing of Environment*; 139: 231–245.
- Carvallo, O. 2010. Evolución de la escama de San Jose, *Diaspidiotus* (= *Quadraspidotus*) *perniciosus* (Comstock). *Revista Anasac*; 73: 18-36. www.anasac.cl
- Charles, J. G.; Henderson, R. 2002. Catalogue of the exotic armored scale insects (Hemiptera: Coccoidea: Diaspididae) in New Zealand. *Journal of the Royal Society of New Zealand*; 32 (4): 587- 615.
- Charlin, R. & Sazo, L. 1988. Comparación etológica y morfológica de la escama del acacio y álamo *Diaspidiotus ancyus* (Putnam) y la escama de San José *Quadraspidotus perniciosus* (Comst.). *Revista Aconex* 22: 21-24.
- Cabrera, A. L.; Arenas, L. C; Jorge, P.; Lopez, S., & Bertullo, V. H. 1976. *Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería*. Fascículo 1, Regiones fitogeográficas argentinas; 37-78 p.

- Carrasco, J. J. 2002. Prácticas de conservación de suelos. Revista Tecnologías y prácticas en el manejo de los recursos naturales para la recuperación de suelos degradados. INIA La Plata; (15): 31-51. ISSN 0717- 4810.
- Casida, J. E. & Quistad, G. B. 2004. Why insecticide are more toxic to insect than people the unique toxicology of insect. Pesticide; 29: 81-86.
- Cichón, L.; Di Masi, S.; Fernandez, D.; Magdalena, J.; Rial, E. & Rossini, M. 1996. Guia Ilustrada para el monitoreo de plagas y enfermedades en frutales de pepita. Estación experimental Agropecuariadel Alto Valle del INTA. 72 pp.
- Cichón, L. I.; Fernández, D. E. & Raffo, D. 2001. Carpocapsa, la plaga clave en manzanos y perales del Valle. Revista IDIA XXI; 21: 96-99.
- Cichón, L. 2005. Controles Sanitarios de inicio de temporada. Revista F & D. EEA Alto Valle; 45: 8-11.
- Cichón, L.; Fernández, D.; Garrido, S.; Rossini, M. & Giayetto, A. 2010. Balance sanitario de la temporada. Revista F&D. EEA Alto Valle; 62: 24- 33.
- Cichón, L. & Garrido, S. 2012. Implicancia de los Cambios en el Manejo Sanitario de los Frutales de Pepita en el Alto Valle. Revista F&D; 67: 8-15.
- Cichón, L. 2013. Evolución de los programas sanitarios en el Alto Valle de Rio Negro y Neuquén. Revista F&D. EEA Alto Valle; 72: 38-42.
- Cichón, L., Garrido, S., Lagos, J. & Rossini, M. 2014. Plagas y Enfermedades de los frutales. Informe técnico y balance de la temporada 2013-2014. Revista F&D. EEA Alto Valle; 73: 26-35.
- Cichón, L., Garrido, S. & Lagos, J. 2015. Balance Fitosanitario 2014-2015. Revista F&D 75:14-35.
- Claps, L. E. 1998. Coccoidea. En: Biodiversidad de artrópodos Argentinos. Una perspectiva biotaxonómica. Morrone, J. J. & S. Coscaron (eds.), Editorial SUR, La Plata, pág: 140-143.
- Claps, L. E., Wolff, V. & Gonzalez, R. H. 2001. Catálogo de Diaspididae (Hemiptera: Coccoidea) exóticas de la Argentina, Brasil y Chile. Revista de la Sociedad

- Entomológica Argentina; 60(1-4): 9-34.
- Claps, L. E. & Wolff, V. 2003. Cochinillas Diaspididae (Hemiptera: Coccoidea) frecuentes en plantas de importancia económica de la Argentina y Brasil. Sociedad Entomologica Argentina (3): 58-63.
- Claps, L. E. 2014. Coccoidea. En: Lucía Elena Claps & Roig Juñent (Ed.), Biodiversidad de artrópodos argentinos S. A. 1ª ed. San Miguel de Tucumán; (3): 546 p. ISBN 978-950-554-904-7.
- Cordon, V. H, Forquera, J. y Gastiazoro, J. 1997. Estadísticas meteorológicas 1972-1992 y relación de las variables climáticas con la fenología de frutales de pepita en Cinco Saltos, Río Negro. 7^{ma} Reunión Argentina y 1^{ra} Latinoamericana de Agrometeorología. Bs. As. 9 p.
- Cordon, V.; Forquera, J.C.; Gastiazoro, L., Lassig, J. Bastanski, M. & Nordentrom, G. 2000. Boletín Caracterización Climática del Alto Valle del Río Negro, Neuquén y Limay inferior Pág. 2-17.
- Corrales, L. C. & Muñoz Ariza, M. M. 2012. Estrés oxidativo: Origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. Publicaciones Científica de Ciencias Biomédicas. (10): 135-250.
- Cooper, R. F. V. 1936. La Valuación de los insecticidas utilizados en Río Negro para combatir *Bryobia* sp. Actas de Congreso Frutícola de San Juan. Pág. 294-299.
- Costa Comelles, J., Botargues, A., Cabiscol, P., Garcia –Mari, F., Moreno, A. & Portillo J. 1989. Eficacia de los tratamientos invernales contra el piojo de San José y acción secundaria en la acarofauna del manzano. Revista Fruticultura Profesional; 27: 35-41.
- Cucchi, N. J. & Becerra, V. C. 2007. Manual de tratamientos fitosanitarios para cultivos de clima templado bajo riego. Sección II: Frutales de pepita y nogal. 1ª ed. Buenos Aires. INTA. 688 p.
- Dajoz, R. 1979. Tratado de Ecología. Ed. Mundi prensa, Madrid. 610 pp.
- Danzing, E. 1983. Coccido of the Far-Eastern USSR (Homoptera, Coccinea):

- phylogenetic analysis of coccids in the world fauna. Ed. New Delhi (India). Amerind. 450 p.
- Dary, O.; Georghiou, G. P.; Parsons, E. & Pasteur, N. 1990. Microplate adaptation of Gomori's assay for quantitative determination of general esterase activity in single insects. *Journal Economic Entomology*; 83: 2187-2192.
- Dai, J. & Gilbert, L. I. 1999. An in vitro analysis of ecdysteroid-elicited cell death in the prothoracic gland of *Manduca sexta*. *Cell Tissue Research*; 297: 319–327.
- Dapoto, G. L. & Giganti, H. 2002. Evaluación preliminar de la biodiversidad de la entomofauna en manzanos conducidos para producción orgánica en el alto valle de Rio Negro y Neuquén (Argentina). *Actas del taller latinoamericano sobre control orgánico de plagas y enfermedades. Fac. Cs. Agr. Univ. Nac. De Córdoba, MAPO, IFOAM, PREDEG, GTZ. Huerta Grande, Córdoba. 23-25 de Oct. Pub. en CD. 9 pp.*
- Dapoto, G., Olave, A. & Bondoni, M. 2010. Artrópodos y nematodos de plantas de vivero en frutales de pepita y carozo en manejo sanitario de frutales de pepita, Cursos para Fiscalizadores. SENASA y FACA- UNCo. 22 pp.
- Dapoto, G.; Olave, A. & Bondoni, M. 2011. Plagas de las Salicáceas en Patagonia Norte. Importancia de los principales artrópodos presentes en los valles irrigados del Río Negro y del Neuquén. 3° Cong. Int. Salicáceas en Argentina. *Actas congreso. 14 p. www.jornadasalicaceas.com.*
- Da Rocha, A. M.; Salomao de Freitas, D. P.; Burns, M.; Vieira, J. P.; De la Torre, F. R. & Monserrat, J. M. 2009. Seasonal and organ variations in antioxidant capacity, detoxifying competence and oxidative damage in freshwater and estuarine fishes from Southern Brazil. *Comparative Biochemistry and Physiology*; 150(4): 512–520.
- Davison, J. A. & Miller, D. R. 1990. Ornamental plants. En: D. Rosen (ed.), *Armoured scale Insects, their biology, natural enemies and control. Vol.4B*, Elsevier, Amsterdam, the Netherlands. 603-632pp. <http://nlbif.eti.uva.nl/bis/diaspididae.php>.

- Debouzie, O., 1984: Analyse exhaustive d'un châtaignier: effectifs des fruits et des insectes (*Laspeyresia splendana* Hubner et *Balaninus elephas* Gyl.). Fruits, 39 (7-8): 483-486.
- De Liñán, V. C. 1998. Entomología Agroforestal. Insectos y Ácaros que dañan montes. En: Cultivos y Jardines. Ed. Agrotecnias, S.L, España. 123 pp.
- Deng, H.; Huang, Y.; Feng, Q. & Zheng, S., 2009. Two epsilon glutathione S-transferase cDNAs from the common cutworm, *Spodopteralitura*: characterization and developmental and induced expression by insecticides. *Journal of Insect Physiology*; 55: 1174-1183.
- De Santis, L. 1969. Hymenoptera. Clave de las familias con representantes entomófagos. Apuntes de control biológico - apéndice I. Universidad Nacional de Tucumán. Fac. de Ciencias Agrarias. y Zootecnia. Tucumán. 41 pp.
- De Santis, 1989. Catálogo de los himenópteros calcidoideos (Hymenoptera) al sur de los Estados Unidos. *Acta Entomológica Chilena*; 15: 9-90.
- Dellapé, P. M.; Melo, M. C. & Coscarón, M. C. 2005. Comparación de varios métodos de muestreo para evaluar biodiversidad de chinches terrestres (Heteroptera). *Revista Sociedad Entomologica Argentina*; 64(4): 190-191.
- Delplanque, F. M.; Augustin, S. & Metreau, C, 1986: Analysis of the repartition of *Curculio* and *Laspeyresia* in the acorn production of one oak (*Q. pétre*a) in Central France. *Proceedings of the 2nd Conference of the Cone and seed insects*: 53-58.
- D´Herve, F. & Aquino, D. 2015. Detección de hiperparasitoides de *Mastrus ridens* (Hymenoptera: Ichneumonidae) y *Ascogaster quadridentata* (Hymenoptera: Braconidae) en el Alto Valle del Río Negro, Argentina. *Revista Museo Argentino Ciencias Naturales*; 17(2): 153-158.
- Dingle, H. 1996. Migration. The biology of life on the move. Oxford University press, Oxford: 23-36.
- Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, M. G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.;

- Robledo, C. W. 2016. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL: <http://www.infostat.com.ar>.
- Drake, V. & Gatehouse, A. 1995. Insect migration: tracking resources through space and time. Cambridge University Press, Cambridge: 13-17.
- Eaton, J. W. & Eaton, J. W. 1991. Catalase, glutathione peroxidase and hydrogen peroxidase, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, vol.118: 3.
- Enkerlin, W. R. 1996. Dispersión y desplazamiento de las poblaciones de Mosca de la Fruta. Actas de congreso. Curso regional sobre la mosca de la fruta con énfasis en la Técnica del Insecto Estéril. 5 (7): 143-146.
- EPPO/OEPP. (1990) Specific quarantine requirements. EPPO Technical Documents. www.eppo.com.
- Falfushinska, H.; Loumbourdis, N.; Romanchuk, L. & Stolyar, O. 2008. Validation of oxidative stress responses in two populations of frogs from Western Ukraine. *Chemosphere*; 73(7): 1096–1101.
- Fasciolo, G. E. & Reising, C. E. 2014. Manual de muestreo de plagas en montes frutales para técnicos Agrícolas. *Revista INTA* (47): 15-19.
- FAO. 2003. Agricultura orgánica, ambiente y seguridad alimentaria Ed. Nadia Hage Scialabba y Caroline Hattam. 280 pp.
- FAO. 1999. <http://www.fao.org/unfao>.
- Feidantsis, K.; Anestis, A., & Michaelidis, B. 2013. Seasonal variations of antiapoptotic and antioxidant proteins in the heart and gastrocnemius muscle of the water frog *Pelophylax ridibundus* *Cryobiology*; 67(2): 175–183.
- Feiffer, D. G. 1985. Pheromone trapping of male and prediction o crawler emergence for SJS (Homoptera: Diaspididae) in Virginia Apple orchard. *Journal of Entomological Science*; 20(3): 31:353.
- Felton, G. W. & Duffey, S.S. 1991. Protective action of midgut catalases in lepidopteran larvae. *Journal of Chemical Ecology*; 17: 1715-1732.

- Felton, G.W., Summers, C. B. 1995. Antioxidant systems in insects. Archives of Insect Biochemistry and Physiology; 29: 187-197.
- Fernández, D.; Calvo, G.; Cichón, L. & Garrido, S. 2005. Efecto del uso de aceites minerales de verano sobre la fauna de artrópodos de manzanos (*Malus domestica* Bork.) y sus implicancias agronómicas sobre el cultivo, la madurez y conservación de los frutos. Congreso Argentino de Horticultura. General Roca (Río Negro): 18 pp.
- Fernández, D. 2008. Balance sanitario de la temporada. Revista F&D. INTA Alto Valle; 56: 33-36.
- Fernández, D.; Cichón, L.; Sánchez, R.; Garrido, S. & Grittins, C. 2008. Agriculture effect of different cover crops on the presence of arthropods in an organic apple (*Malus domestica* Borkh). Journal of Sustainable Agriculture; 32(2):197- 211.
- Fernández, D. E. 2012. *Cydia pomonella* (L.)(Lepidoptera: Tortricidae). Aspectos de su taxonomía, comportamiento y monitoreo aplicados a programas de control en grandes áreas. Tesis Doctoral Universidad de Lleida, España: 195 p.
- Fernández Muñoz, S. 1996. Colonización, regadío y dinámica fluvial en la Patagonia Argentina. El Alto Valle de Río Negro. Revista ERÍA: 39-40.
- Ferrari, A., 2001. Efectos adversos de los plaguicidas en organismos no blanco. En: Anguiano, L. O. & Montagna, C. M. (Eds.). Clasificación y Toxicología de Plaguicidas. Ed. Educo. 266p. ISBN. 978-987-604-154-6.
- French Constant, R. H.; Park, J. & Feyereisen, R. 1999. Molecular biology of insecticide resistance. En: Puga, A. y K. Wallace (Eds). Molecular biology of the toxic response. Philadelphia; 533-552.
- Flores, A. L.; Lassig, J. L.; Palese, C. & Cogliati, M. G. 2006. Proyecto MeCIN: Alto Valle de Río Negro, Argentina. Revista Meteorológica .31 (1-2): 46-83.
- Foguelman, D. 2003. Plagas y enfermedades en manejo orgánico. Una Mirada Latinoamericana. Ed. Dina Foguelman para IFOAM. 180 p.

- Folk, F.; Sánchez, A.; Escobar, R. F, & Hernández-Marante, D. 2003. Control del *curculiónido ferruginoso* de las palmeras (*Rhynchophorus ferrugineus* Olivier) mediante inyecciones al tronco y pulverización foliar. Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas; 29(4): 563-574.
- Freeman, B. & Crapo, J. 1982. Biology of disease. Free radicals and tissues injury. Laboratory Investigation; 47: 412-126.
- Freitas, D. R.; Rosa, R. M.; Moraes, J.; Campos, E.; Logullo, C.; Da Silva, I. & Masuda, A. 2007. Relationship between glutathione S-transferase, catalase, oxygen consumption, lipid peroxidation and oxidative stress in eggs and larvae of *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae). Compilado Biochemistry Physiology a Molecular Physiology; 146: 688-694.
- Fuentes Contreras, E.; Reyes, M.; Barros, W. & Sauphanor, B. 2007. Evaluation of azinphos-methyl resistance and activity of detoxifying enzymes in codling moth Lepidoptera: Tortricidae) from central Chile. Journal Economy Entomology; 100(2): 551-556.
- Furtado Filho, O. V.; Polcheira, C.; Machado, D. P.; Mourao, D. P. & Hermes-Lima, M. 2007. Selected oxidative stress markers in a South American crocodilian species,” Comparative Biochemistry and Physiology; 146 (2): 241–254.
- García de Otazo Lopéz, J.1992. Peral: control integrado de plagas y enfermedades. Ed. Agro Latino. 311p.
- Gangurde, S. 2007. Above ground arthropod pest and predator diversity in irrigated rice (*Oryza sativa* L.) production systems of the Philippines Journal of Tropical Agriculture; 45(1-2): 1–8.
- Garrido, S.; Cichón, L.; Fernández, D. & Azevedo, C. 2005. Primera cita de la especie *Goniozus legneri* (Hymenoptera: Bethyridae) en el Alto Valle de Río Negro, Patagonia Argentina. Revista Sociedad Entomologica Argentina; 64 (1-2): 14-16. ISSN 0373-5680.
- Garrido, S.; Cichón, L. & Fernández, D. 2007. Control biológico de carpocapsa. Revista F & D; 54: 26-33.

- Georghiou, G. P. 1987. Insecticides and pest resistance: the consequences of abuse. En 36th Faculty Research Lecturer. University of California, Riverside: 1- 27.
- Geracitano, G. A.; Monserrat, J. M. & Bianchini, A. 2004. Oxidative stress in *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae): environmental and seasonal effects, *Marine Environmental Research*; 58 (2–5): 625–630.
- Giganti, H.; Dapoto, G. L. & Vermeulen, J. D. 2007. Manejo integrado de plagas en frutales de pepita. En: Sozzi, G. O (ed.), *Árboles Frutales: Ecofisiología, Cultivo y Aprovechamiento*. Ed. Fac. de Agr. UBA., Bs.As.: 530-581pp. ISBN 950-29-0974-7.
- Giganti, H. y G. Dapoto. 2007. Insectos, ácaros y nemátodos asociados a los cultivos de tomate, papa y zanahoria en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén. En: *Identificación de plagas y enfermedades en cultivos de papa, tomate y zanahoria*. FCA, UNCo. Cinco Saltos (Arg). 46 p.
- Giayetto, A & Villareal, P. 2009. (Ex- aequo). Cap. 1. Introducción. En: *Pera William`s. manual para el Productor y Empacador*. Patagonia – Argentina. 168 pp.
- Gill, R. J. 1997. The scale insects of California. The armored scales (Homoptera: Coccoidea: Coccidae). *Revista Agricultural Biosystematics and Plant Pathology*, California Dep. Food and Agriculture, California, USA. 307pp. <http://nlbif.eti.uva.nl/bis/diaspididae.php>.
- Goane, L. 2005. Preferencia del minador de la hoja de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* sobre tres especies hospederas. *Revista Sociedad Entomologica Argentina*: 377-378 pp.
- Gomez, J. del C. 1962. Plaga de frutales: La *Caspilla perniciosa* (“Piojo de San José”). (8): 2-5.
- Gomez Vives, S. 2002. Cría masiva de *Rhyzobius lophanthae* Blaisdell (Coleoptera: Coccinellidae) depredador de la cochinilla roja de las palmeras (*Phoenicococcus marlatti* Cockerell). *Boletín Sanidad Vegetal*; 28:167-176.

- Gomez, C. A. 2005. *Pinus radiata* O *Pinus ponderosa* ¿Cual hospedante elegir? Revista Sociedad Entomologica Argentina; 379 p.
- González, G. 2016. Lista actualizada de especies Coccinelidae (Insecta: Coccinelida) presentes en Argentina. www.coccinelidaeargentina.com.ar
- González, R. H. 1981. Biología, Ecología y control de la escama de San José en Chile, *Quadraspidiotus perniciosus* (Comst.). Revista Ciencias Agrícola, Santiago, Chile, 64 pp.
- González, R. H. 1989. Insectos y ácaros de importancia agrícola y cuarentenaria en Chile. Universidad de Chile y BASF. Santiago, Chile. 310 pp.
- Gorbi, S. C., Baldini, C. & F. Regoli. 2005. Seasonal variability of metallothioneins, cytochrome P450, bile metabolites and oxyradical metabolism in the European eel *Anguilla anguilla* L. (Anguillidae) and striped mullet *Mugil cephalus* L. (Mugilidae). Archives of Environmental Contamination and Toxicology; 49(1): 62–70.
- Granara, M. C. 1990. Conociendo nuestra fauna. I. Superfamilia Coccoidea (Homoptera: Sternorrhyncha). Instituto Miguel Lillo; 6:13-36.
- Greathead, D. J. 1972. Dispersal of the sugar-cane scale *Aulacaspis tegalensis* (Zhnt.) (Hem.Diaspididae) by air currents. Revista Entomologia; 61: 547-558.
- Gupta, A., & Shukla G. S. 1998. Effects of neonatal quinalphos exposure and subsequent withdrawal on free radical generation and antioxidative defenses in developing rat brain. Journal Apple Toxicology; 18: 71-77.
- Gupta, S.;Mishra, M.; Sharma, A.; Balaji, D.; Kumar, R.; Mishra, R. & Chowdhuri, D. K. Chlorpyrifos induces apoptosis and DNA damage in *Drosophila* through generation of reactive oxygen species. Ecotoxicology and Environmental Safety; 73: 1415-1423.
- Habig W. H., Pabst, M. J. & Jacoby, W. B.1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. Journal of Biology and Chemistry; 249: 7130-7139.

- Habig, W. H. & Jakoby, W. B. 1981. Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods in Enzymology*; 77: 399-405.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. 2007. Oxygen is a toxic gas an introduction to oxygen toxicity and reactive species. 4° Ed. *Free radicals in Biology and medicine*, 1-8 Oxford University Press. (1): 22-36.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. 2008. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, New York, NY, USA, 3rd Ed. 79 pp.
- Harrison, J.; Frazier, M. R.; Henry, J. R.; Kaiser, A.; Klok, C. J. & Rascon, B. 2006. Responses of terrestrial insects to hypoxia or hyperoxia. *Respiratory Physiology and Neurobiology*; 154(1-2): 4-17.
- Hernández, C. M.; Garrido, S.; Viscarret, M.; Botto, E. N.; Cichón, L. & Lago, J. 2015. Control biológico del gusano de la pera y la manzana. En: Rossini, M. (ed.), 1° Ed. *Plagas Cuarentenarias de Frutales de la República Argentina*. INTA. Centro Regional Patagonia Norte:103-105 pp.
- Hermes Lima, M., Storey, M. & Storey J. M. 1998. Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. *Comparative Biochemistry and Physiology*; 120(3): 437–448.
- Hermes Lima, M., Storey, M. & Storey J. M. 2001. Antioxidant defenses and animal adaptation to oxygen availability during environmental stress. En *Cell and Molecular Responses to Stress*; pp. 263–287.
- Hermes Lima, M.; Carreiro, C.; Moreira, D. C., Polcheira, C., Machado, D. P. & Campos, E. G. 2012. Glutathione status and antioxidant enzymes in a crocodylian species from the swamps of the Brazilian Pantanal, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*; 163(2):189–198
- Hermes Lima, M.; Moreira, D. C.; Rivera Ingraham, G. A.; Giraud-Billoud, M.; Genaro-Mattos, T. C. & Campos, E. G. 2015. Preparation for oxidative stress under hypoxia and metabolic depression: revisiting the proposal two decades later. *Free Radical Biology and Medicine*; 89: 1122–1143.

- Hidalgo, M. E.; Fernández, E.; Cabello, A.; Rivas, C.; Fontecilla, C.; Morales, L.; Aguirre, A. & Cabrera, E. 2006. Evaluación de la respuesta antioxidante en *Chiton granosus* Frembly, 1928 (Mollusca: Polyplacophora) a contaminantes oxidativos. *Revista de biología marina y oceanografía*; 41: 155-165.
- Higuchi Y. 2003. Chromosomal DNA fragmentation in apoptosis and necrosis induced by oxidative stress. *Biochemical Pharmacology*; 66(8): 1527-1535.
- Hynes R. V. & Maher W. A. 2003. Invertebrate biomarkers: links to toxicosis that predict population decline. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Mar; 54(3): 366-74.
- Hole, D. G.; Perkins, A.J.; Wilson, J. D.; Alexander, I. H.; Grice, P. V.; Evans, A. D. 2005: Does organic farming benefit biodiversity?. *Biological Conservation*; 122: 113-130.
- Holgado, M. G.; López Plantey, R. J.; Quiroga, V.N.; Rabinovich, D. A. & Molina, M. 2014. Impacto que ocasiona la presencia de *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) sobre otras especies coccinélidos, en durazneros. Mendoza, Argentina. *Horticultura Argentina*; 33(82): 87.
- Jena, K.; Kar, P. K.; Babu, C. S.; Giri, S., Singh, S. S. & Prasad, B. C. 2013. Comparative study of total hydroperoxides and antioxidant defense system in the Indian Tropical Tasar Silkworm, *Antheraea mylitta*. En: Diapausing and Non-Diapausing Generations. *Journal of Insect Science*; 13:123 pp
- Jing, X. H.; Wang, X. H. & Kang, L. 2005. Chill injury in the eggs of the migratory locust *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae): the time temperature relationship with high temperature interruption. *Insect Science*; (12):171–178.
- Joanisse, D. R. & Storey, K. B. 1998. Oxidative stress and antioxidants in stress and recovery of cold-hardy insects. *Insect Biochemistry Molecular Biology*; (28): 23–30.
- Joern, A. 2005. Disturbance by fire and bison grazing modulate grasshopper assemblages in Tallgrass Prairie. *Ecology*; 86: 861-873.

- Kayis, T.; Coskun, M.; Dursun, O. & Emre, L. 2015. Alterations in Antioxidant Enzyme Activity, Lipid Peroxidation, and Ion Balance Induced by Dichlorvos in *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Annals of the Entomological Society of America*; 108(4): 570-574.
- Kayış T, Emre I & Coşkun M. 2012. Effects of diazinon on antioxidant enzymes and adult emergence of the parasitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Türk Entomol Derg*; 36 (4): 463-471.
- Khater, H. F. (2012). *Ecosmart Biorational Insecticides: Alternative Insect Control Strategies*. InTech. 23 pp.
- Kohen, R. 1999. Skin antioxidants: their role in aging and in oxidative stress-new approaches for their evaluation. *Biomedic Pharmacother*; 53: 181-192.
- Kostaropoulos, I.; Papadopoulos, A. L.; Metaxakis, A., Boukouvala E. & E. Papadopoulou Mourkidou, E. 2001. Glutathione S-transferase in the defence against pyrethroids in insects. *Insect Biochemistry Molecular Biology*; 31: 313-319.
- Kozár, F. 1990. Deciduous fruit trees. En: D. Rosen (Ed.). *Armoured scale insects, their biology, natural enemies and control*. Vol. 4B. *World Crop Pests*, Elsevier, Amsterdam, the Netherlands: 593-602pp. <http://nlbif.eti.uva.nl/bis/diaspididae.php>
- Krebs, J., J.; Wilson, G.; Siriwardena & Bradbury, R. 1999. The second silent spring?. *Nature*; 400: 611-612.
- Krishnan, N. & Kodrik, D. 2011. Molecular aspects of cell signaling. *Oxidative stress in vertebrates and invertebrates*. Ed. John Wiley & Sons, Inc.: 259-270 pp.
- Korayem, A. M.; Khodairy, M. M.; Abdel Aal, A. A. & Elsonbaty, M. 2012. The protective strategy of antioxidant enzymes against hydrogen peroxide in honey bee, *Apis mellifera* during two different seasons. *Journal of Biology and Earth Sciences*; 2(2): 93–109.
- Lalouette, L.; Williams, C. M., Hervant, F.; Sinclair, B. J. & Renault, D. 2011. Metabolic rate and oxidative stress in insects exposed to low temperature

- thermal fluctuations. *Comparative Biochemistry, Physiology and Molecular Integrated Physiology*; 158(2): 229-234.
- Lanati, S. 2003. Producción Integrada. *Revista INTA EEA. La consulta*; 67:46 pp.
- Lau, A. T.; Wang, Y. & Chiu, J. F. 2008. Reactive oxygen species: current knowledge and applications in cancer research and therapeutic. *Journal Cell Biochemistry*; 104: 657-667.
- Letendre, J., Chouquet, B. & Manduzio, H. 2009. Tidal height influences the levels of enzymatic antioxidant defences in *Mytilus edulis*. *Marine Environmental Research*; 67 (2): 69–74.
- Long, G. E. 1994. Terrestrial arthropod biodiversity: Planning a study and recommended sampling techniques. *Boletín of Entomological Society of Canada*; 26(1): 3-33.
- Loewy, M. R. 2001. Dinámica ambiental de plaguicidas. En: Anguiano, L. O. & Montagna, C. M. *Clasificación y toxicología de plaguicidas*. Ed. Educo. UNComahue: 247-266p. ISBN. 978-987-604-154-6.
- López García, G. P. 2011. Desarrollo Poblacional de *Disapidiotus perniciosus* (Hemiptera: Diaspididae) en cultivos de manzanos en San Carlos, Mendoza, Argentina. *Revista Sociedad Entomológica Argentina*; 7(3-4): 277-286.
- Lowry, O. H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L., Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry* 193: 265-275.
- Llanos, V. L. & Marín, M. S. 2004. Caracteres físico-químicos del hospedero preferencial de *Grapholita molesta*: brotes y frutos de duraznero. Mendoza, Argentina. *Revista FCA UNCuyo*. Tomo XXXVI; (1): 29-36.
- Majic Bali I.; Milinkovic Tur, M.; Samardzija, M., & Vince, S. 2012. Effect of age and environmental factors on semen quality, glutathione peroxidase activity and oxidative parameters insimmental bulls. *Theriogenology*; 78(2): 423–431.
- Malanga, G.; Perez, A. P.; Calvo, J. & Puntarulo, S. 2009. The effect of seasonality

on oxidative metabolism in the sea urchin *Loxechinus albus*. *Marine Biology*; 156(4): 763–770.

Martinez Curz, O. A.; Sanchez Paz, F.; Garcia Carreno, L.; Jimenez Gutierrez, M. A. Navarrete del Torro, & Muhlia Almazan, A. 2012. Invertebrates mitochondrial function and energetic challenges. *En Bioenergetics*, K. Clark, Ed., InTech. 236-249 pp.

Martins, C. R.; Hoffmann, A.; Valmor Rombaldic, Mello Farias, R. & Teodoro, A. 2013. Apple biological and physiological disorders in the orchard and in postharvest according to production system. *Revista Brasileira de Fruticultura* 35(1): 23-78. ISSN0100-2945. <http://www.scielo.br/scielo>.

Mates, J. M. 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*; 153: 83-104.

Matthews, G. A. 1981. Improved systems of pesticide application. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*; 295(1076): 163-173.

Matthews, G. A.; Vijayalaxmi, K. K. & Mahiman, M. 2013. Induced sperm shape abnormalities in mouse. *Mutation Research*; 280: 169-173.

Mathews, M.; Clinton, C; Summers, B. & Felton G. W. 1997. Ascorbate peroxidase: A novel antioxidant enzyme in insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 34:57–68

Mariottini, Y.; De Wysiecki, M. & Lange, C. 2012. Variación temporal de la riqueza, composición y densidad de acrididos: (Orthoptera: Acridoidea) en diferentes comunidades vegetales del sur de la provincial de Buenos Aires. *Revista Sociedad Entomologica Argentina*; 71 (3-4): 275-288.

MECON. 2008. Frutales de pepita
http://www.mecon.gov.ar/peconomica/docs/Complejo_pepitas.

Megahed, M.; Anwar, M., Wasfy, S. I. & Hammadeh, M. E. 2008. Influence of heat stress on the cortisol and oxidant/antioxidants balance during oestrous phase in buffalo-cows (*Bubalus bubalis*): thermo-protective role of antioxidant

- treatment. *Reproduction in Domestic Animals*; 43(6): 672–677.
- Melendi, D. L.; Scafati, L & Volkheimer, W. 2008. Biodiversidad: La Biodiversidad de la vida, las grandes extinciones y las actual crisis ecológicas. 1ª Ed.- Buenos Aires: Continente: 160 p.
- Mendoza, J. 1972. Influencia de los pesticidas sobre la fauna benéfica del arroz. *Revista Peruana de Entomología*; 15(2):370-372.
- Merwin, I.; Pruyne, J.G.; Ebel, Jr. K.L. & Lisch D.J. 1994. Persistence, phytotoxicity and management of arsenic, lead, and mercury residue in old orchard soils of New York State. *Chemosphere*; 29 (6): 1361-1367.
- Misra, J. R.; Horner, M. A. & Lam, G. 2011. Transcription regulation of xenobiotic detoxification in *Drosophila*. *Genes & development*; 25:1796–1806.
- Michaela, J. F.; Juárez, M.; Fiorentino, D. C.; Notario, A. & Castresana, L. 2000. Distribución espacial y su variabilidad con respecto al tiempo de una población de *Micrapate wagneri* Lesne (Coleóptera: Bostrichidae) en un rodal de *Prosopis nigra* (Gris.). *Boletín Sanidad Vegetal*; 26:11-14.
- Monaghan, P., Metcalfe, N.B., Torres, R., 2009. Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: mechanisms, measurements, and interpretations. *Ecology*; 12: 75–92.
- Montella, I. R.; Schama R. & Valle, D. 2012. The classification of esterases: an important gene family involved in insecticide resistance--a review. *Memory Institute Oswaldo Cruz*; 107(4): 437-449.
- Montero, G. A. 2014. Ecología de las interacciones entre malezas y artrópodos: Ecología y manejo. En: (Ed) Fernández, O. A.; Leguizamón, E.; Acciareso, H. Ed. Universidad Nacional del Sur. Pág. 263-303.
- Morera, A.; Intxausti, A. & Abreu-Gonzalez, P. 2009. Winter/summer seasonal changes in malondialdehyde formation as a source of variance in oxidative stress schizophrenia research. *World Journal of Biology and Psychiatry*; 10(4): 576–580.
- Moral García, F. J. 2003. Representación gráfica de la distribución espacial de una

- plaga en una plantación mediante el uso de técnicas geoestadística. *Revista Mapping* 87: 20-24.
- Mujkosov´a, M.; Ferko, P.; Humen´ik, I.; Waczul´ikov, M., & Ziegel, H. 2008. Seasonal variations in properties of healthy and diabetic rat heart mitochondria: Mg²⁺-ATPase activity, content of conjugated dienes and membrane fluidity. *Physiological Research*; 57: 75–82.
- Müller P.; Chouaïbou, M.; Pignatelli, P.; Etang, J.; Walker, E.; Donnelly, M. J.; Simard, F. & Ranson, H. 2008. Pyrethroid tolerance is associated with elevated expression of antioxidants and agricultural practice in *Anopheles arabiensis* sampled from an area of cotton fields in Northern Cameroon. *Molecular Ecology*; 17: 1145–1155.
- Murphy, G. 2005. Resistance management. Pesticide rotation. Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs; 23-64pp
- Murúa, M. G. & Fidalgo, P. 2001. Listado preliminar de los enemigos naturales de *Saissetia oleae* (Homoptera: Coccidae) en olivares de la provincia de La Rioja, Argentina. *Boletín Sanidad Vegetal*; 27: 447-454.
- Nazca A. J., Lazaro O. H. 1991. Manejo integrado de plagas de soja en el Noroeste Argentino. *Revista CIRPON*. IX (1-4).
- Niyogi, S.; Biswas, S.; Sarker, S. & Datta, A. G. 2001. Seasonal variation of antioxidant and biotransformation enzymes in barnacle, *Balanus balanoides*, and their relation with polyaromatic hydrocarbons, *Marine Environmental Research*; 52, (1): 13–26.
- Núñez Pérez, E. & Tizado, E. J. 1996. Conifer aphids (Homoptera: Aphididae) and some natural enemies in the León province (Spain). *Boletín. Asociación Española de Entomología*; 20 (1-2): 85-93. ISSN: 0210-8984.
- Odum, E. P & Barrett, G. W. 2008. Patrones de dispersión. *Fundamentos de Ecología*. 3ª Ed. Cengage Learning, 257-267. ISBN-13: 978-970686-470-9.
- Odum, P. E. & G. W. Barrett. 2012. *Fundamentals of Ecology*. 5th Ed. Cengage Learning India, New Delhi, India.

- Olave, A. 2008. Aphidoideas de las Salicáceas en Rio Negro y Neuquén. Jornada de Becarios de Investigación. Viedma, Rio Negro. 89 p.
- Olave, A.; Dapoto, G.; Bondoni, M. & Rodriguez, A. 2012. *Siphoninus phillyreae* (Haliday) (Hemipt. Aleyrodidae): Primer registro para Argentina sobre *Pyrus communis* y de su depredador *Clitostethus arcuatus* (Rossi) (Coleoptera: Coccinellidae) para la Patagonia. Jornadas Fitosanitaria Argentina. Potrero de los Fúnes. San Luis: 26-32.
- Olave, A.; Dapoto, G. & Montagna, M. 2014. *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coccinellinae) y *Chilocorus bipustulatus* (L.) (Chilocorinae), dos nuevos coccinélidos depredadores de *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock) en la Patagonia Argentina. Horticultura Argentina 33(82):103. ISSN 1851-9342.
- Olave, A.; Vermeulen, J.; Dapoto, G.; Claps, L. & Montagna, M. 2014. Nuevo registro de *Epidiaspis leperii* (Signoret) (Hemiptera: Diaspididae) para la Patagonia Argentina. Horticultura Argentina 33(82):104. ISSN 1851-9342.
- Olave, A.; Aramburu, A., Serventi, M., García, J. & G. Dapoto, G. 2014. La biodiversidad de los artrópodos de las salicáceas en la norpatagonia. Congreso Internacional de Salicaceas en Argentina. La Plata. 18 pp. ISSN: 1580-3543.
- Olawale, R.; Ajuwon, J.; Marnewic, L.; Davids, L. M. 2015. Rooibos (*Aspalathus linearis*) and its major flavonoids, potential against oxidative stress-induced conditions. Biochemistry, genetics and molecular biology. Basic principles and clinical significance of oxidative stress: 171-218pp. ISBN 978-953-51-2200-5.
- Oliva, M.; Vicente, J. J.; Gravato, C.; Guilhermino, L. & Dolores Galindo-Ria, N. 2012. Oxidative stress biomarkers in Senegal sole, *Solea senegalensis*, to assess the impact of heavy metal pollution in a Huelva estuary (SWSpain): seasonal and spatial variation. Ecotoxicology and Environmental Safety; 75(1): 151–162.
- Ordeñana, K. M. 2002. Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) (63): 22 - 32.

- Oscos, M. N. & Gianotti, J.F. 1960. Plagas y enfermedades de las plantas en el Valle de Rio Negro. INTA:13pp.
- Ott, M.; Gogvadze, V.; Orrenius, S. & Zhivotovsky, B. 2007. Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis*; 5: 913 – 922.
- Paital, B. & Chainy, G. B. 2014. Effects of temperature on complexes I and II mediated respiration, ROS generation and oxidative stress status in isolated gill mitochondria of the mudcrab *Scylla serrata*, *Journal of Thermal Biology*; 41(1):104–111.
- Paital, B. & Chainy, G. B.N. 2013. Seasonal variability of antioxidant biomarkers in mud crabs (*Scylla serrata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 87: 33–41.
- Paital, B. & Chainy, G. B. N. 2014. Effects of temperature on complexes I and II mediated respiration, ROS generation and oxidative stress status in isolated gill mitochondria of the mud crab *Scylla serrata*, *Journal of Thermal Biology*; 41(1): 104–111.
- Parra Morales, L. B.; Alzogaray, R. A.; Cichón, L; Garrido S.; Soleño, J. & Montagna, C. M. 2016. Effects of chlorpyrifos on enzymatic systems of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) adults. *Insect Science*. Online.
- Peck, G. M. & Merwin I. A. 2004. A grower's guide to organic apples. NYS IPM Publication; 223: 5-39.
- Perry, T.; Batterham, P. & Davon, P. 2011. The biology of insecticidal activity and resistance. *Journal: Insect Biochemistry and Molecular Resistance*; 41: 411-422.
- Pérez-Pinzón, M. A. & Rice, M. E. 1995. Seasonal and temperature dependent variation in CNS ascorbate and glutathione levels in anoxia-tolerant turtles. *Brain Research*; 705, (2): 45–52.
- Pérez, D. R. & Navarro, M. C. 2005. Una invitación a valorar y proteger el monte. Universidad Nacional Del Comahue: 48 pp. ISBN 987-1154-65-8.
- Pisanelli, B.; Benedetti, M. Fattorini, D. & Regoli, F. 2009. Seasonal and inter-

- annual variability of DNA integrity in mussels *Mytilus galloprovincialis*: a possible role for natural fluctuations of trace metal concentrations and oxidative biomarkers. *Chemosphere*; 77 (11): 1551–1557.
- Quintanilla, R. H. 1947. *Zoología Agrícola*. Ed. El Ateneo. Buenos Aires. 726pp.
- Raja-Aho, S.; Kanerva, M. & Eeva T. 2012. Seasonal variation in the regulation of redox state and some biotransformation enzyme activities in the barn swallow (*Hirundo rustica* L.). *Physiological and Biochemical Zoology*; 85 (2):148– 158.
- Radovanovic, T. B.; Mitic, S. S. B. & Perendija, B. R. 2010. Superoxide dismutase and catalase activities in the liver and muscle of barbel (*Barbus barbus*) and its intestinal parasite (*Pomphory inachuslaevis*) from the Danube river, Serbia,” *Archives of Biological Sciences, Belgrade*; 62 (1): 97–106.
- Rahal, A.; Singh, V.; Yadav, B.; Tiwari, R.; Chakraborty, S. & Dharma, K. 2014. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: The interplay. Review Article. *BioMed Research International*; 1-19.
- Ramos Vasconcelos, G. R.; Cardoso, L. A. & Hermes Lima, M. 2005. Seasonal modulation of free radical metabolism in estivating land snails *Helix aspersa*. *Comparative Biochemistry and Physiology C: Toxicology and Pharmacology*; 140, (2): 165–174.
- Rathman, R. J. & Brunner J. F. 1988. Abundance and composition of predators on Young Apple, *Malus domestica* Borkhausen, within sagebrush and riparian species pools in North central Washington. *Melandieria*. 46: 65-81.
- Riener, C. K., G. Kada & Gruber, H. J. 2002. Quick measurement of protein sulfhydryls with Ellman's reagent and with 4,4'-dithiodipyridine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 373: 266-276.
- Rios de Molina, M. D. C. R. (2003). El estrés oxidativo y el destino celular. *Revista Química Viva*; 2(1): 3-11.
- Rizzo, A. M; Berselli, P.; Montorfano, G.; Negroni, M.; Corsetto, D.; Berra, B. 2010. Endogenous antioxidants and radical scavengers. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 398: 52-67.

- Rojo Hidalgo, R. 2016. Plagas de los frutales: Mosca mediterránea de la fruta: *Ceratitis capitata* Mosca del olivo: *Bactrocera oleae* Piojo de San José: *Quadrastipidiotus perniciosus*. Revista Agroecológicas.13 p. www.plagas.com
- Rodríguez, L. S. 2000. Estrategias de control de plagas en frutales de carozo y experiencias en producción integrada. Fruticultura Profesional; (112): 95-100.
- Rosmarina Marín L. 1987 Biología y morfología de la escama de San José. *Quadrastipidiotus perniciosus* (Comst) Biología Departamento de Entomología. La Molina Lima. .Revista Peruana de. Entomología; 29: 81-87
- Sakatani, M.; Balboula, M. A., Yamanaka, K. & Takahashi, M. 2012. Effect of summer heat environment on body temperature, estrous cycles and blood antioxidant levels in Japanese blackcow. Animal Science Journal; 83 (5): 394–402.
- Sanchez, E. & Villarreal P. 2012. Cadena frutales de pepita. Programa Nacional Frutales. INTA. Pág. 1-9.
- Sanchez, W.; Piccini, B.; Ditcher, J. M. & Porcher, J. M. 2008. Assessment of seasonal variability of biomarkers in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) from a low contaminated stream: implication for environmental biomonitoring. Environment International; 34(6): 791–798.
- Saso, L. 2013. Presencia de la escama de San José en los huertos. Revista Red Agrícola: (5): 23.
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). 2015. Situación de la Producción Orgánica durante el año 2008. www.senasa.gov.ar.
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). 2008. Situación de la producción orgánica durante el año 2008. www.senasa.gov.ar
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). 2011. Anuario estadístico 2010. Centro Regional Patagonia Norte. 83 p.
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). 2014. Anuario Estadístico 2013. Centro Regional Patagonia Norte. 121 p. www.senasa.gov.ar

- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). 2015. Anuario Estadístico 2014. Centro Regional Patagonia Norte. 121 p.
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). 2016. www.senasa.gov.ar
- Sies, H. 1999. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radical Biology & Medicine*; 27(9-10): 916-921
- Sigal Escalada, V. 2010. Eficacia de Assail sobre el control de plagas secundarias en montes de frutales de pepita. Ensayos a campo. Compañía: Summit Agro Argentina S.A., Cipolletti, Río Negro.
- Sikavuopio, S. I.; Christiansen, J. S.; Sæther, B. S. & Dale, T. 2007. Seasonal variation in feed intake under constant temperature and natural photoperiod in the green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Aquaculture*; 272(4): 328–334.
- Sohal, R. S & Orr, W. C. 2012. The redox stress hypothesis of aging. *Free Radical Biology & Medicine*; 52: 539-555.
- Soleño, J.; Cichón, L.; Montagna, M.; Anguiano, L.; Garrido, S. & Lago J. 2015. Cambios en la susceptibilidad a diferentes insecticidas empleados en Argentina. En: Rossini, M. (ed.), 1° Ed. Plagas Cuarentenarias de Frutales de la República Argentina. INTA: 99-102 p.
- Soria, F. J.; Villagrán, M. P.; Martín, P. & Ocete, M. E. 1997. Estudio sobre la distribución de frutos afectados por *Curculio elephas* (Gyllenhal) (Col, Curculionidae) en alcornoque (*Quercus suber* Linné). *Boletín Sanidad Vegetal*; 23: 289-294.
- Sorriba, J. J.; Rodríguez, R.; Rodrigo, E. & García Marí, D. 2008. Niveles de parasitismo y especies parasitoides de Piojo rojo de California *Aonidiella auranti* (Hemiptera: Diaspididae) en cítricos de la Comunidad Valenciana *Boletín Sanidad Vegetal y Plagas*; 34: 201-210.
- Skrha, J. 2012. Caloric restriction and oxidative stress. En *Oxidative Stress in vertebrates and invertebrates molecular aspects of cell signaling*. Cap. 6. 1°

Ed.: 83-102 pp.

- Schwartz, O. & Andrews, M. T. 1981. Circannual transitions in gene expression: lessons from seasonal adaptations. *Current Topics in Developmental Biology*; 105: 247–273.
- Szentkirályi, F. & Kozár, F. 1991. How many species are there in apple insect communities? Testing the resource and intermediate disturbance hypotheses. *Ecological Entomology*; 16: 491:503.
- Tannure, C.; Mazza, S. & Giménez, L. 2002. Modelos para caracterizar los patrones de distribución espacial de *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae), en el cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum*). *Revista Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE*. 6 pp.
- Tanaka, M.; Kamiya, Y.; Kamiya, M. & Nakai, Y. 2007. Effect of high environmental temperatures on ascorbic acid, sulfhydryl residue and oxidized lipid concentrations in plasma of dairy cows. *Animal Science Journal*; 78(3): 301–306.
- Tee, J. K.; Ong, Ch. N.; Bay, B. H.; Kiat, H. & Leong, D. 2015. Oxidative stress by inorganic nanoparticles. *Revista Wiley Interdisciplinary Reviews Nanomedicine and Nanobiotechnology*; 26 p.
- Teodorescu, I & Stănescu, M. 1994. The industrial pollution effects upon some agrobiocenosis from the adjacent agrosystems around the emission sources. –*Ocotirea naturii și a mediului inconjurător*; 38: 27-44.
- Teodorescu, I. & Vădineanu, A. 1997: The pesticide pollution impact on the structure and dynamics of the arthropod associations. *Revue Roumaine de Biologie, serie Biologie Animale*; 42: 125-135.
- Teodorescu, I., Vădineanu, A. 1999. Industrial emissions and pesticides impact upon insect populations. – *Internationale Entomologen Tagung, Basel*; 116-118.
- Teodorescu, I. & Cogalniceanu, D. 2005. Rapid assessment of species diversity changes after pesticide application in agricultural landscape applied ecology

and environmental research 4(1): 55-62 . <http://www.ecology.kee.hu>

- Toranzo, J. 2016. Producción mundial de manzana y pera. 1° Ed. INTA- EEA. Libro digital 41 pp. ISBN 978987-521-696-9.
- Van de Crommenacker, J.; Komdeur, J.; Burke, T. & Richardson, D. S. 2011. Spatio-temporal variation in territory quality and oxidative status: a natural experiment in the *Seychelles warbler* (*Acrocephalus chellensis*). *Journal of Animal Ecology*; 80 (3): 668–680.
- Venereo, J. R. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana Medicina*; (63): 33-126.
- Vlahogianni, T.; Dassenakis, M.; Scoullou, M. J. & Valavanidis, A. 2007. Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece. *Marine Pollution Bulletin*; 54(9): 1361–1371.
- Verlecar, X. N.; Jena, K. B. & Chainy, J. B. N. 2008. Seasonal variation of oxidative biomarkers in gills and digestive gland of green-lipped mussel *Perna viridis* from Arabian Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*; 76(4): 745–752.
- Vermeulen, J.; Cichón, L. & Parra, E. 1988. Sistema de alarma termoacumulativo para el control de carpocapsa (*Cydia pomonella*, L.) para el Alto Valle del Río Negro y Neuquén. EEA Alto Valle INTA; 16 pp.
- Villarreal, P. & Santagni, A. 2004. Pautas tecnológicas: Frutales de pepita. Manejo y análisis económico financiero. Ed. INTA Alto Valle: 132 pp.
- Villarreal, P.; Mattei, S.; Villegas Nigra, M. & Forchetti, G. 2010. Evaluación del impacto del programa Nacional de supresión de carpocapsa en la fruticultura de pepita de los valles irrigados de la Norpatagonia. Viedma, Río Negro, Argentina. Ed. FunBaPa: 82 pp. ISBN: 978-987-26243-0-9. www.funbapa.org.ar
- Villarreal, P.; Leskovar, M.; López, A.; Malaspina, M.; Zubeldia, H.; Boltshauser, V.; Avellá, B. & Bondoni, M. 2011. Balance frutícola. Temporada 2009-2010.

Complejo manzanas peras. Río Negro y Neuquén; 82 p.

- Videira, R. A.; Antunes-Madeira, C.; Lopes, V. I. & Madeira, V. M. 2001. Changes induced by malathion, methylparathion and parathion on membrane lipid physicochemical properties correlate with their toxicity. *Biochemistry Biophys Acta* 2: 360-368.
- Vigiani, A. 1990. Hacia el control integrado de plagas. Ed. Hemisferio sur S.A. 2° Ed. 124pp. ISBN 950-504-448.
- Volodymyr, I.; Lushchak, O & Halyna, M. 2012. Introductory chapter, oxidative stress- molecular mechanisms and biological effects, Volodymyr Lushchak (Ed.) ISBN: 978-953-51-0554-1.
- Vontas J. G., Small G.J. & Hemingway, J. 2001. Glutathione S-transferase as antioxidant defence agents confers pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochemistry Journal*; 357: 65-72.
- Weirich, G. F.; Collins, A. M. & Williams, V. P. 2002. Antioxidant enzymes in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*; 33: 3-14.
- Wu H, R.; Zhang, J.; Liu, Y.; Guo & Ma, E. 2011. Effects of malathion and chlorpyrifos on acetylcholinesterase and antioxidant defense system in *Oxya chinensis* (Thunberg) (Orthoptera: Acrididae). *Chemosphere*; 83(4):599-604.
- Yela, J. C.; Esteban Duran, J.; Jimenez, A. & Beitia, F. 1997. La dispersion en insectos (Arthropodo: Insecta): Invasión por especies introducidas por la acción humana frente a la ampliación natural del área de distribución. *Boletín Sociedad Entomologica Argentina*; 20: 301-309.
- Yu, Q. Y.; Fang S. M.; Zuo, W. D.; Dai, F. Y.; Zhang, Z. & Lu, C. 2011. Effects of organophosphate phoxim exposure on certain oxidative stress biomarkers in the silkworm. *Journal Economic Entomology*; 104(1): 101-106.
- Yufera, E. P. 1991. Nuevos métodos de lucha contra insectos. En: *Ecología Química*, Ed. Mundi prensa: 191p. ISBN 8471143410.
- Zaak, M.; Migula, P.; Stygar, D.; Dolezych, B. & Michalczyk. K. 2012. Within and between seasonal changes of detoxifying capabilities of *Cameraria ohridella*

- (Lepidoptera: Gracillariidae) larvae. *Comptes Rendus Biology*; 335: 645–656.
- Zamudio, P. & Claps, L. 2005. Systematics, morphology and physiology: Diaspididae (Hemiptera: Coccoidea) associated to fruits in Argentina. *Neotropical Entomology*; 34(2): 255-272.
- Zanette, J.; Monserrat, J. M. & Bianchini, A. 2006. Biochemical biomarkers in gills of mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* from three Brazilian estuaries. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*; 143 (2):187–195.
- Zheng, X.; Long, W.; Guo, Y. & Ma, E. 2011. Effects of cadmium exposure on lipid peroxidation and the antioxidant system in fourth-instar larvae of *Prosilocerus akamusi* (Diptera: Chironomidae) under laboratory conditions. *Journal Economic Entomology*; 104:827-832.
- Zikic, R.; Stajn, A.; Saicic, Z. S.; Spasic, M. B.; Ziemnicki, K.; Petrovic, V. 1996. The activities of superoxide dismutase, catalase and ascorbic acid content in liver of goldfish (*Carassius auratus gibelio* Blach) exposed to cadmium. *Physiology*; 45: 479-481

ANEXO I: CAPTURA DEL MACHO DE PSJ, DURANTE LOS AÑOS 2014, 2015 Y 2016.

AÑO	Fecha	N° de capturas de macho
2014	26-Ago	0
2014	9-Sept	0
2014	18-Sept	27
2014	23-Sept	38
2014	07 Oct.	0
2014	21 Oct.	0
2014	11 Oct.	0
2014	25 Nov.	0
2014	12 Dic.	0
2014	23-Dic	17
2014	27-Dic	42
2015	2-Ene	0
2015	9-Ene	0
2015	17-Ene	0
2015	24-Ene	0
2015	31-Ene	0
2015	7-Feb	0
2015	14-Feb	0
2015	21-Feb	7
2015	29-Mar	25
2015	1-Mar	26
2015	17-Mar	0
2015	01 Abr.	0
2015	17-Abr	0
2015	10-Ago	0
2015	18-Ago	0
2015	29-Ago	0
2015	4-Sept	0
2015	15-Sept	36
2015	29-Sept	43
2015	02 Oct.	0
2015	09 Oct.	0
2015	28 Oct.	0
2015	06 Nov.	0
2015	20 Nov.	0
2015	27 Nov.	0
2015	7-Dic	0

2015	18 Dic.	0
2015	22-Dic	33
2015	28-Dic	21
2016	6-Ene	3
2016	12-Ene	0
2016	19-Ene	3
2016	24-Ene	0
2016	29-Ene	0
2016	5-Feb	0
2016	12-Feb	0
2016	20-Feb	36
2016	27-Feb	29
2016	12-Mar	0
2016	17-Mar	0
2016	26-Mar	0
2016	15-Abr	0
2016	1-Ago	0
2016	22-Ago	0
2016	11-Sept	2
2016	22-Sept	16
2016	29-Sept	23
2016	5-Oct	11

ANEXO II: BIODIVERSIDAD DE ARTRÓPODOS

ÍNDICES DE BIODIVERSIDAD

Riqueza: Es el número total de especies observadas en la muestra. Los cálculos de se basan en la cuantificación de frecuencias simples de un individuo.

Riqueza Chao: Chao (1987): el número total de especies presentes en una comunidad.

Índice de biodiversidad de Shannon (Shannon y Weaver, 1949) se basa en suponer que la heterogeneidad depende del número de especies presentes y de su abundancia relativa.

$$H = 1 - \sum_{i=1}^S (p_i \cdot \log_2 p_i)$$

Índice de Simpson (Simpson (1949): sugiere que una medida intuitiva de la diversidad de una población está dada por la probabilidad de que dos individuos tomados independientemente de una población pertenezcan a la misma especie.

Índice de diversidad de Simpson (1949) : $D_{SI} = \sum_{i=1}^S p_i^2$

Índice de McIntosh: El índice de McIntosh (1967) es un índice de dominancia de especie

Índice de Berger-Parker : toma en cuenta sólo la especie más abundante y es el más simple de los índices de biodiversidad.

Índice de Kempton : Mide la heterogeneidad de especies. Cuanto más homogénea es la distribución de la abundancia entre las especies mayor será el índice de Kempton.

Prueba T para muestras Independientes, comparación de especies en un sistema convencional y otro orgánico

Clasific	Variable	Grupo 1	Grupo 2
Tipo de prod.	N° Ind	{Convencional}	{Orgánica}
	n	32	34
	Medias	8,25	13,59
	Media(1)- Media(2)	-5,34	
	LI(95)	-20,36	
	LS(95)	9,69	
	pHomVar	<0,0001	
	T	-0,72	
	p-valor	0,4771	
	prueba	Bilateral	

Prueba T para muestras Independientes, comparación de Organismos benéficos en un sistema convencional y otro orgánico

Variable:FA - Clasific:Tipo de produccion - prueba:Bilateral

Grupo 1	Grupo 2		
Convencional	MIP	Orgánica	
n		14	11
Media		2,79	2,55
Varianza		1,87	4,47
Media (1) -Media (2)		0,24	
LI (95)		-1,20	
LS (95)		1,68	
pHomVar		0,1437	
T		0,34	
gl		23	
p-valor		0,7339	

Son iguales, no hay diferencias entre la cantidad de OB del Orgánico y el convencional.

ANEXO III: DATOS DE LA ABUNDANCIA DE PSJ, EN FUNCIÓN DEL PLANO Y LA VARIEDAD

Fila	Variedad	PI	N° planos af.	Orientación PA	Abundancia (Ind/cm 2)
3	RD	1	2	SO	13
4	RD	1		S	8
4	RD	2	1	S	5
4	RD	3	4	S	6
4	RD	3		SO	10
4	RD	3		SE	5
4	RD	3		NO	3
4	RD	4	3	SO	12
4	RD	4		NO	11
4	RD	4		NE	7
5	RD	5	1	S	10
6	RD	6	3	N	4
6	RD	6		NO	4
6	RD	6		NE	2
6	RD	7	2	SE	7
6	RD	7		NE	1
6	RD	8	1	SE	6
7	RD	9	1	NE	1
7	RD	10	2	NE	1
7	RD	10		SE	1
8	RD	11	3	S	6
8	RD	11		SE	3
8	RD	11		N	1
16	RD	12	1	S	3
16	RD	13	1	SO	8
16	RD	14	1	S	5
16	RD	15	4	S	4
16	RD	15		N	5
16	RD	15		NE	8
16	RD	15		NO	8
16	RD	16	6	N	3
16	RD	16		S	11
16	RD	16		NE	4
16	RD	16		SE	2
16	RD	16		NO	3
16	RD	16		SO	14
16	RD	17	2	S	9

16	RD	17		SO	10
16	RD	18	5	S	8
16	RD	18		SE	8
16	RD	18		SO	9
16	RD	18		NO	1
16	RD	18		NE	6
16	RD	19	5	NE	5
16	RD	19		NO	4
16	RD	19		SE	3
16	RD	19		S	2
16	RD	19		SO	4
16	RD	20	5	NO	6
16	RD	20		SO	9
16	RD	20		NE	8
16	RD	20		SE	7
16	RD	20		S	5
16	RD	21	1	S	8
16	RD	22	4	NE	5
16	RD	22		S	8
16	RD	22		NO	6
16	RD	22		SE	2
16	RD	23	5	SO	8
16	RD	23		NE	1
16	RD	23		S	9
16	RD	23		N	1
16	RD	23		NO	7
16	RD	24	4	SO	6
16	RD	24		NO	4
16	RD	24		N	4
16	RD	24		NE	3
16	RD	25	4	SO	5
16	RD	25		NO	7
16	RD	25		N	9
16	RD	25		NE	4
16	RD	26	4	N	3
16	RD	26		S	6
16	RD	26		NE	5
16	RD	26		SE	8
16	RD	27	1	SE	4
16	RD	28	2	SO	10
16	RD	28		NO	2
16	RD	29	2	S	9

16	RD	29		SO	12
16	RD	30	4	NE	1
16	RD	30		SE	3
16	RD	30		NO	3
16	RD	30		SO	11
16	RD	31	3	NO	7
16	RD	31		S	6
16	RD	31		SO	9
16	RD	32	4	S	10
16	RD	32		NE	2
16	RD	32		NO	2
16	RD	32		SE	2
16	RD	33	2	N	5
16	RD	33		NE	4
16	RD	34	1	N	6
16	RD	35	1	NE	1
16	RD	36	1	NE	3
17	RD	37	2	SE	9
17	RD	37		NE	9
17	RD	38	5	SO	8
17	RD	38		NE	6
17	RD	38		SE	6
17	RD	38		S	2
17	RD	38		O	4
17	RD	39	2	NO	6
17	RD	39		SE	3
17	RD	40	3	SO	8
17	RD	40		NO	1
17	RD	40		SE	1
17	RD	41	2	NO	1
17	RD	41		SO	7
17	RD	42	2	SO	5
17	RD	42		SO	9
17	RD	43	2	NO	2
17	RD	43		SO	8
17	RD	44	2	NO	6
17	RD	44		SO	8
17	RD	45	1	SO	5
17	RD	46	2	NO	5
17	RD	46		SE	1
21	RD	47	2	SO	4
21	RD	47		NE	3

21	RD	48	3	SO	17
21	RD	48		SE	10
21	RD	48		NE	3
21	RD	49	1	NE	4
21	RD	50	2	SE	6
21	RD	50		NE	3
21	RD	51	1	O	5
21	RD	52	1	E	2
21	RD	53	2	SE	6
21	RD	53		NE	9
21	RD	54	1	N	4
21	RD	55	2	SE	2
21	RD	55		NO	6
21	RD	56	2	SE	4
21	RD	56		NE	4
21	RD	57	2	SO	7
21	RD	57		NE	6
21	RD	58	1	S	5
21	RD	59	2	SO	9
21	RD	59		NO	1
21	RD	60	2	SO	6
21	RD	60		NO	3
11	GS	61	2	SO	3
11	GS	61		S	1
12	GS	62	1	NO	2
13	GS	63	1	S	2
14	GS	64	2	NO	1
14	GS	64		SO	1
14	GS	65	1	NO	1
15	GS	66	2	NO	1
15	GS	66		SO	2
21	GS	67	2	NO	3
21	GS	67		SO	2
21	GS	68	2	NE	5
21	GS	68		SO	1
21	GS	69	2	NE	2
21	GS	69		SO	1
21	GS	70	2	NE	4
21	GS	70		SO	5
21	GS	71	1	O	3
21	GS	72	2	NO	1
21	GS	72		SO	5

21	GS	73	2	NE	2
21	GS	73		SO	6
21	GS	74	1	S	3
21	GS	75	2	NE	1
21	GS	75		SO	5
21	GS	76	2	NE	2
21	GS	76		SO	4
21	GS	77	1	E	1
21	GS	77		NE	1
22	GS	78	1	E	1
22	GS	79	2	NO	3
22	GS	79		SE	1
22	GS	80	1	O	1
22	GS	81	2	NO	2
22	GS	81		SE	1
22	GS	82	1	O	1
22	GS	83	2	NO	1
22	GS	83		SE	1
22	GS	84	1	N	1
22	GS	85	2	SE	2
22	GS	85		NO	1
22	GS	86	1	O	3
22	GS	87	2	SE	2
22	GS	87		NO	2
22	GS	88	2	SE	1
22	GS	88		NO	2
22	GS	89	1	N	1
22	GS	90	2	NO	2
22	GS	90		SE	3
22	GS	91	6	NO	2
22	GS	91		O	1
22	GS	91		SO	8
22	GS	91		S	4
22	GS	91		SE	1
22	GS	91		NE	6
22	GS	92	2	SE	2
22	GS	92		NO	3
22	GS	93	1	E	2
22	GS	94	1	O	2
22	GS	95	1	S	5
22	GS	96	2	SE	4
22	GS	96		NO	1

23	GS	97	2	NO	1
23	GS	97		SE	2
23	GS	98	1	O	2
23	GS	99	2	NO	3
23	GS	99		SE	3
23	GS	100	1	E	2
23	GS	101	2	NO	3
23	GS	101		SE	2
23	GS	102	3	O	1
23	GS	102		E	2
23	GS	102		S	3
23	GS	103	2	NO	2
23	GS	103		SE	1
23	GS	104	3	O	2
23	GS	104		N	1
23	GS	104		S	2
23	GS	105	2	NO	3
23	GS	105		SE	3
23	GS	106	1	E	2
23	GS	107	2	NO	2
23	GS	107		SE	2
23	GS	108	1	N	1
23	GS	109	2	NO	1
23	GS	109		SE	2
23	GS	110	2	NO	2
23	GS	110		E	1
24	GS	111	2	NO	2
24	GS	111		SE	2
24	GS	112	4	NO	2
24	GS	112		SO	6
24	GS	112		S	5
24	GS	112		SE	1
24	GS	113	2	NO	2
24	GS	113		SE	2
24	GS	114	4	O	1
24	GS	114		SO	7
24	GS	114		SE	3
24	GS	114		S	2
24	GS	115	2	NO	2
24	GS	115		SE	1
24	GS	116	1	N	1
24	GS	117	1	N	1

24	GS	118	2	NO	2
24	GS	118		SE	2
24	GS	119	1	E	2
24	GS	120	2	NO	1
24	GS	120		SE	1
24	GS	121	2	NO	1
24	GS	121		SE	1
24	GS	122	2	NO	1
24	GS	122		SE	2
24	GS	123	1	O	1
24	GS	124	2	NO	3
24	GS	124		NE	2
24	GS	125	2	NO	3
24	GS	125		SE	6
24	GS	126	1	E	1
50	RG	127	2	S	2
50	RG	127		SE	3
50	RG	128	2	S	3
50	RG	128		SE	3
50	RG	129	3	SE	1
50	RG	129		S	4
50	RG	129		SO	2
50	RG	130	1	SE	13
50	RG	131	6	SO	11
50	RG	131		S	9
50	RG	131		SE	8
50	RG	131		E	8
50	RG	131		N	9
50	RG	131		NO	9
50	RG	132	6	SO	12
50	RG	132		S	8
50	RG	132		SE	13
50	RG	132		E	11
50	RG	132		N	11
50	RG	132		NO	12
50	RG	133	4	N	9
50	RG	133		NO	9
50	RG	133		SE	8
50	RG	133		SO	12
50	RG	134	2	S	10
50	RG	134		SO	12
50	RG	135	5	S	10

50	RG	135		SE	12
50	RG	135		N	14
50	RG	135		SO	13
50	RG	135		O	9
50	RG	136	4	NO	10
50	RG	136		O	11
50	RG	136		SE	2
50	RG	136		E	6
50	RG	137	5	S	6
50	RG	137		O	8
50	RG	137		N	8
50	RG	137		E	7
50	RG	137		SE	5
50	RG	138	3	NE	5
50	RG	138		SE	9
50	RG	138		SO	12
51	RG	139	4	N	6
51	RG	139		E	5
51	RG	139		SE	6
51	RG	139		O	4
51	RG	140	2	SE	8
51	RG	140		SO	9
51	RG	141	4	N	11
51	RG	141		E	9
51	RG	141		S	12
51	RG	141		SO	11
51	RG	142	5	E	3
51	RG	142		N	5
51	RG	142		O	5
51	RG	142		SE	4
51	RG	142		S	3
51	RG	143	2	SE	3
51	RG	143		SO	2
51	RG	144	2	SE	4
51	RG	144		SO	3
52	RG	143	4	N	3
52	RG	143		E	4
52	RG	143		S	4
52	RG	143		O	2
52	RG	144	2	N	11
52	RG	144		NE	14
52	RG	145	2	SE	15

52	RG	145		SO	14
53	RG	146	1	SO	9
53	RG	147	4	SO	8
53	RG	147		SE	10
53	RG	147		S	11
53	RG	147		NO	9
53	RG	148	5	NO	15
53	RG	148		SO	16
53	RG	148		S	10
53	RG	148		O	14
53	RG	148		SE	14
53	RG	149	4	S	9
53	RG	149		SO	11
53	RG	149		SE	10
53	RG	149		O	13
53	RG	150	3	SO	10
53	RG	150		S	11
53	RG	150		SE	11
53	RG	151	1	S	13
56	RG	152	2	NE	3
56	RG	152		S	2
57	RG	153	4	SE	8
57	RG	153		E	9
57	RG	153		N	5
57	RG	153		SO	7
58	RG	154	3	N	7
58	RG	154		E	6
58	RG	154		S	7
59	RG	155	3	NO	10
59	RG	155		NE	9
59	RG	155		SO	11
59	RG	156	2	NO	12
59	RG	156		SO	15
59	RG	157	2	NO	5
59	RG	157		SE	4
59	RG	158	1	NO	5
59	RG	159	2	SO	7
59	RG	159		NO	8
58	RG	160	4	SO	10
58	RG	160		NO	11
58	RG	160		S	10
58	RG	160		SE	13

58	RG	161	2	SE	15
58	RG	161		S	14
58	RG	162	2	SE	7
58	RG	162		S	8
58	RG	163	2	S	4
58	RG	163		SE	6
58	RG	164	2	SO	4
58	RG	164		S	5
58	RG	165	1	SO	7
58	RG	166	1	S	9
59	RG	167	1	E	2
59	RG	168	1	SE	1
59	RG	169	1	SE	6
59	RG	170	2	SE	8
59	RG	170		SO	9
60	RG	171	1	SO	2
60	RG	172	1	SO	1
60	RG	173	1	S	3
60	RG	174	1	SO	4
60	RG	175	2	SE	1
60	RG	175		SO	2
60	RG	176	1	SO	3

ANEXO IV: GRADO DE SUSCEPTIBILIDAD DE VARIEDADES

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	Var.
Abundancia (Ind/cm ²)	395	0,36	0,35	57,45

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2021,71	2	1010,85	108,26	<0,0001
Var.	2021,71	2	1010,85	108,26	<0,0001
Error	3660,1	392	9,34		
Total	5681,81	394			

Comparación de medias: Test:LSD Fisher Alfa=0,05

DMS=0,74252

Error: 9,3370 gl: 392

Var.	Medias	n	E.E.		
GS	2,22	119	0,28	A	
RD	5,52	143	0,26		B
RG	7,88	133	0,26		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO V: LOCALIZACIÓN DEL PSJ EN EL FRUTO

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	var
N° PSJ/cm2	315	0,03	0,02	122,89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5922,71	2	2961,35	4,44	0,0125
zona del fruto	5922,71	2	2961,35	4,44	0,0125
Error	207931,28	312	666,45		
Total	213853,99	314			

Test: LSD Alfa=0,05 DMS=10,55137

Error: 666,4464 gl: 312

zona del fruto	Medias	n	E.E.	
zona Calicinal	22,92	189	1,88	A
Zona Peduncular	20,65	106	2,51	A
Zona ecuatorial	4,85	20	5,77	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO VI: SISTEMA ANTIOXIDANTE

CATALASAS

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	var
Act. CAT	18	0,38	0,13	57,02

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2,0E-09	5	4,0E-10	1,49	0,2635
Tratamiento	2,0E-09	5	4,0E-10	1,49	0,2635
Error	3,2E-09	12	2,7E-10		
Total	5,3E-09	17			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,00003

Error: 0,0000 gl: 12

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T3	3,9E-05	3	9,5E-06	A
O2	3,8E-05	3	9,5E-06	A
T2	3,7E-05	3	9,5E-06	A
O3	3,0E-05	3	9,5E-06	A
O1	1,5E-05	3	9,5E-06	A
T1	1,4E-05	3	9,5E-06	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

GST

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	var
GST	16	0,87	0,81	35,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,0E-03	5	2,1E-04	13,93	0,0003
Generación	1,0E-03	2	5,1E-04	34,48	<0,0001
Tratamiento	1,0E-05	3	3,4E-06	0,23	0,03737
Generación*Tratamiento	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	1,5E-04	10	1,5E-05		
Total	1,2E-03	15			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,00529

Error: 0,0000 gl: 10

Generación	Medias	n	E.E.	
1	0,02	5	1,8E-03	A
3	0,01	6	1,6E-03	B
2	4,3E-03	5	1,8E-03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,00758

Error: 0,0000 gl: 10

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
O1	0,02	2	2,7E-03	A
T1	0,02	3	2,2E-03	A
T3	0,01	3	2,2E-03	B
O3	0,01	3	2,2E-03	B
T2	0,01	3	2,2E-03	B
O2	3,0E-03	2	2,7E-03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,00529

Error: 0,0000 gl: 10

Generación	Medias	n	E.E.	
1	0,02	5	1,8E-03	A
3	0,01	6	1,6E-03	B
2	4,3E-03	5	1,8E-03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

GSH

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	var
GSH	18	0,44	0,21	61,74

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4,9E-04	5	9,7E-05	1,92	0,1645
Tratamiento	4,9E-04	5	9,7E-05	1,92	0,1645
Generación	0,00	0	0,00	sd	sd
Tratamiento*Generación	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	6,1E-04	12	5,1E-05		
Total	1,1E-03	17			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,01266

Error: 0,0001 gl: 12

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
O1	0,02	3	4,1E-03	A
T1	0,02	3	4,1E-03	A
O2	0,01	3	4,1E-03	A
O3	0,01	3	4,1E-03	A
T2	0,01	3	4,1E-03	A
T3	0,01	3	4,1E-03	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,00895

Error: 0,0001 gl: 12

Generación	Medias	n	E.E.	
1	0,02	6	2,9E-03	A

2	0,01	6	2,9E-03	A	B
3	0,01	6	2,9E-03		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Ing. Agr. Anabel Olave